

**POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE SEMENTES DE *Moringa oleifera*
COMO FONTE PROTÉICA E ENERGÉTICA NA ALIMENTAÇÃO
ANIMAL**

ISABEL CRISTIANE FAÇANHA BRASIL

FORTALEZA-CEARÁ

2007

**POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE SEMENTES DE *Moringa oleifera*
COMO FONTE PROTÉICA E ENERGÉTICA NA ALIMENTAÇÃO
ANIMAL**

ISABEL CRISTIANE FAÇANHA BRASIL

**TESE SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA, COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM BIOQUÍMICA**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA-CE

ABRIL/2007

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 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 de ética científica.

Isabel Cristiane Façanha Brasil

Tese aprovada em: _____

Profa. Dra. Ilka Maria Vasconcelos

(Orientadora)

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular

Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. José Tadeu de Oliveira

(Co-orientador)

Departamento de Bioquímica e Biologia
Molecular- UFC

Profa. Dra. Ana de Fátima F. U. Carvalho

Departamento de Biologia

Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. William Cardoso Maciel

Faculdade de Veterinária

Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Cláudio Cabral Campello

Faculdade de Veterinária

Universidade Estadual do Ceará

Às minhas filhas, *Ingrid, Priscila e Lorena,*

Ao meu esposo *Joel,*

À minha querida mãezinha, *Dona Lica,*

Ao meu pai, *Eurides (in memorian),*

À minha irmã, *Teresa*

Dedico com amor

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, pela presença constante na minha vida.

À Profa. Dra. *Ilka Maria Vasconcelos*, pela orientação, amizade, dedicação, paciência, apoio e compreensão, minha gratidão e reconhecimento eternos.

Ao Prof. Dr. *Jose Tadeu Abreu de Oliveira*, co-orientador, pelos conselhos, ensinamentos, sugestões na execução deste trabalho e material bibliográfico disponibilizado.

Ao Prof. Dr. *Cláudio Cabral Campello*, da Universidade Estadual do Ceará, pela importante contribuição neste trabalho e pelo apoio irrestrito em todas as horas.

À Profa. Dra. *Maria de Fátima Freire Fuentes*, do setor de avicultura da Universidade Federal do Ceará, por suas preciosas sugestões e cooperação.

Ao Dr. *Ednardo Rodrigues Freitas*, da Universidade Federal do Ceará, por sua grande ajuda, disponibilidade e sugestões.

À Profa. *Adriana Wanderley de Pinho Pessoa*, da Universidade Estadual do Ceará, pela importante contribuição nas análises histológicas.

Ao Professor Dr. *Gastão Barreto Espíndola, Roseane Maria Ferreira de Souza, Francisca Helena Cruz de Oliveira e Natan Ramos dos Santos*, todos do Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, pelo gentil acolhimento e apoio na execução das análises elementares.

À Profa. Dra. *Ana de Fátima Fontenelle Urano Carvalho*, do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, pela cooperação nas análises de fibra alimentar, pelas sugestões e pelo grande incentivo e apoio desde longas datas.

Às amigas e amigos do laboratório de Proteínas Tóxicas com os quais convivi nos últimos anos e aprendi bastante: *Fernanda Maria Machado Maia, Daniele Oliveira Bezerra de Souza, Sílvia Maria Alves de Paula, Lúcia de Fátima Lopes dos Santos, Elisângela Alencar Siebra, Andréa Agaciana Bessa Maia, Geórgia Sampaio Fernandes, Juliana Menezes Giffoni, Hermógenes David de Oliveira, Henrique de Oliveira Pinho, Emanuelle Mendes da Silva, Janne Keila Souza Moraes, Ricristhi Gonçalves de Aguiar Gomes e*

Mirella Leite Pereira, pelo companheirismo solidário, os momentos maravilhosos que passamos juntos, as boas risadas e pela valiosa ajuda em várias etapas desse trabalho.

Aos amigos do Laboratório de mecanismos de defesa de plantas *Simone, Betânia, Igor, Fábio, Sílvio, Hévila, Vadjah, Gina, Tiago, Edvar, Ana Lúcia, Darcy, Hélio, Eduardo e Cléber*, pelo clima de amizade e carinho e grande colaboração.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia animal *Davi Felipe Farias e Nathanna Mateus*, pelo apoio na execução de determinados ensaios.

Aos *Professores, colegas e funcionários* do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pelos ensinamentos, colaboração e pelo convívio agradável.

Aos colegas *Francisco Valdez Augusto Guimarães e Maria Geórgia Brandão Melo* pela importante contribuição na análise de minerais.

Às bolsistas do setor de avicultura do Departamento de Zootecnia, *Rafaella Castro Lima, Roseane Madeira Bezerra e Claudelice Oliveira Rosa* e aos funcionários do referido setor, *Isaias Carlos de Souza, Paulo Calixto da Silva, Marcus Aurélio Costa Tinoco e Luís Cláudio de Sousa*, pela presteza e ajuda em determinadas etapas dos ensaios de desempenho e de metabolismo.

Ao Prof. Dr. *José Maria dos Santos Filho*, diretor da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, pela disponibilização de instalações e moinho para realização de uma das etapas deste trabalho.

A todos que me ajudaram na coleta das vagens, especialmente *Luís Gonzaga Andrade dos Santos, Davi Sales Siqueira, Maria da Cruz Vieira e Ednardo Rodrigues Freitas*.

À grande amiga *Patrícia de Araújo Rodrigues*, pelo apoio e estímulo.

Aos meus colegas do Biotério Central, *Elisabeth, Marlene, Sônia, Regina, Armando, Fernando, Junior e Christine*, pela compreensão e apoio.

Enfim, a *todos* que contribuíram de forma direta ou indireta para a execução desse trabalho, em especial à minha família, meus sinceros agradecimentos.

A AUTORA

Este trabalho foi realizado graças ao auxílio das seguintes Instituições:

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), através da concessão de bolsa de Pós-Graduação à autora deste trabalho.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, por concessão de auxílio à pesquisa através dos Projetos de Pesquisa: 1) *Moringa oleifera*: Uma Fonte Alternativa de Proteínas como Aditivo em Ração em Substituição ao Milho e/ou Soja no Setor Produtivo Avícola (Nº do Processo: 503426/2003-2 CT-Agronegócio/MCT/CNPq/MESA 01/2003); 2) Recuperação e Otimização da Infra-Estrutura do Laboratório de Toxinas Vegetais (Nº do Processo: 412497/2003-4 CNPq); 3) Bioquímica, Biologia Molecular e Fisiologia de Plantas (Nº do Processo: 620231/2004-1 MCT/CNPq/PADCT) e 4) Proteínas Envolvidas nos Mecanismos de Defesa das Plantas Contra Herbívoros e Fitopatógenos (Nº do Processo: 301060/1995-9 CNPq).

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por concessão de auxílio à pesquisa através do Projeto de Pesquisa “Proteínas de Sementes: Aspectos Moleculares, Funcionais e Potencial Biotecnológico” (Nº do Processo: 0015/01-6 PROCAD/CAPES).

Banco do Nordeste (BNB), por concessão auxílio à pesquisa através do Projeto de Pesquisa “Genômica Funcional, Estrutural e Comparativa do Feijão-Caupi (*Vigna unguiculata*)” (MCT/BNB, Programa RENORBIO – Rede Nordeste de Biotecnologia).

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular e Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, em cujos laboratórios foi realizada esta pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	xiii
<u>LISTA DE TABELAS</u>	xvi
<u>ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES</u>	xxi
<u>RESUMO</u>	xxii
<u>ABSTRACT</u>	xxiv
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 – <u>Classificação Taxonômica, Origem, Distribuição Geográfica, Características e Utilizações da <i>Moringa oleifera</i></u>	6
2.1.1 – Classificação Taxonômica	6
2.1.2 – Origem e Distribuição Geográfica	6
2.1.3 – Características	6
2.1.4 – <u>Utilizações da <i>M. oleifera</i></u>	9
2.1.4.1 – Usos Medicinais	9
2.1.4.2 – Utilização como Alimento	10
2.1.4.3 – Usos Industriais	11
2.2 – <u>Fatores Tóxicos e/ou Antinutricionais</u>	13
2.2.1 – Lectinas	14
2.2.2 – Inibidores de Proteases	15
2.2.3 – Toxinas	16
2.2.4 – Urease	17
2.2.5 – Taninos	17
2.2.6 – Saponinas	18
2.2.7 – Glicosinolatos	19
2.2.8 – Glicosídeos Cianogênicos	20
2.2.9 – Alcalóides	21
2.3 – <u>Digestão e Disponibilidade de Nutrientes em Frango de Corte</u>	22
3 – OBJETIVOS	27
3.1 – <u>Objetivo Geral</u>	28
3.2 – <u>Objetivos Específicos</u>	28

4	–	MATERIAL	29
4.1	–	<u>Sementes</u>	30
4.2	–	<u>Animais de Experimentação</u>	30
4.3	–	<u>Hemácias</u>	30
4.4	–	<u>Reagentes Químicos</u>	31
5.1	–	MÉTODOS	32
5.1	–	<u>Determinação das Características Físicas das Sementes de <i>Moringa oleifera</i></u>	33
5.2	–	<u>Tratamento Térmico</u>	33
5.3	–	<u>Obtenção das Farinhas</u>	33
5.4	–	<u>Extração das Proteínas Coagulantes</u>	34
5.5	–	<u>Composição Química Elementar</u>	34
5.5.1	–	Determinação de Umidade	34
5.5.2	–	Determinação de Cinzas	34
5.5.3	–	Determinação da Proteína Total	35
5.5.4	–	Determinação dos Lipídios Totais	35
5.5.5	–	Determinação de Fibra Bruta e Carboidratos	36
5.5.6	–	Determinação de Fibra em Detergente Ácido	36
5.5.7	–	Determinação de Fibra em Detergente Neutro	37
5.5.8	–	Determinação de Fibra Alimentar Total	38
5.6	–	<u>Determinação de Minerais</u>	39
5.7	–	<u>Caracterização Química e Físico-Química das Proteínas das Sementes</u>	40
5.7.1	–	Extração das Proteínas	40
5.7.2	–	Dosagem de Proteínas	40
5.7.3	–	Composição em Aminoácidos	42
5.7.4	–	Eletroforese em Gel de Tricina em Condições Desnaturantes	43
5.8	–	<u>Detecção e/ou Dosagem de Compostos Com Propriedades Tóxicas e/ou Antinutricionais</u>	43
5.8.1	–	Lectina	43
5.8.2	–	Inibidor de Tripsina	44
5.8.3	–	Toxina	45
5.8.4	–	Urease	45

5.8.5	-	Taninos	46
5.8.6	-	Saponinas	46
5.8.7	-	Glicosídeos Cianogênicos	47
5.8.8	-	Alcalóides	47
5.9	-	<u>Avaliação da Qualidade Nutricional de Farinha de Sementes de <i>Moringa oleifera</i></u>	48
5.9.1	-	Determinação da Energia Bruta	48
5.9.2	-	Determinação da Energia Metabolizável Aparente e Aparente Corrigida	48
5.9.3	-	Determinação dos Parâmetros Nutricionais	52
		<u>Ensaio Biológico 1</u>	52
		<u>Ensaio Biológico 2</u>	56
5.9.3.1	-	Técnicas de Avaliação Bioquímica da Qualidade Nutricional das Proteínas de Sementes de <i>M. oleifera</i> Cruas e Autoclavadas	59
5.9.3.2	-	Análise Macroscópica e Microscópica dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte	60
5.10	-	<u>Análise Estatística</u>	60
6.	-	RESULTADOS	61
6.1	-	<u>Características Físicas das Sementes de <i>Moringa oleifera</i></u>	62
6.2	-	<u>Composição Química Centesimal das Sementes de <i>M. oleifera</i> Cruas e Processadas</u>	62
6.3	-	<u>Determinação de Minerais das Sementes de <i>M. oleifera</i> Cruas e Processadas</u>	65
6.4	-	<u>Determinação de Fibra Alimentar Total (FAT) de Sementes de <i>M. oleifera</i> Cruas e Autoclavadas</u>	65
6.5	-	<u>Caracterização Química e Físico-Química das Proteínas de Sementes de <i>M. oleifera</i> Cruas e Autoclavadas</u>	68
6.5.1	-	Composição em Aminoácidos	68
6.5.2	-	Eletroforese em Gel de Tricina em Condições Desnaturantes	68
6.6	-	<u>Detecção e/ou Dosagem de Compostos Com Propriedades Tóxicas e/ou Antinutricionais em Sementes de <i>M. oleifera</i> Cruas e Autoclavadas</u>	71
6.6.1	-	Lectina	71

6.6.2	-	Inibidor de tripsina	71
6.6.3	-	Toxina	71
6.6.4	-	Urease	72
6.6.5	-	Taninos	74
6.6.6	-	Saponinas	74
6.6.7	-	Glicosídeos cianogênicos	74
6.6.8	-	Alcalóides	74
6.7	-	Avaliação da Qualidade Nutricional de Farinha de Sementes Integrais e da Farinha Extraída de <i>M. oleifera</i>	76
6.7.1	-	<u>Ensaio Biológico 1</u>	76
		<u>Fase 1 ou Fase Inicial (8º ao 21º dia de idade dos animais) do Ensaio Biológico 1</u>	76
6.7.1.1	-	Determinação da Energia Bruta, Metabolizável Aparente e Aparente Corrigida para o Nitrogênio	76
6.7.1.2	-	Avaliação dos Parâmetros Nutricionais	77
6.7.1.3	-	Avaliação Bioquímica da Qualidade Nutricional das Proteínas	89
6.7.1.4	-	Análise Macro e Microscópica dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte	89
6.7.1.5	-	Análise do Peso Fresco e Seco dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte	92
		<u>Fase 2- Ensaio de Crescimento Compensatório do Ensaio Biológico 1</u>	99
6.7.1.6	-	Avaliação dos Parâmetros Nutricionais	99
6.7.1.7	-	Análise do Peso Fresco e Seco dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte	102
6.7.2	-	<u>Ensaio Biológico 2</u>	107
6.7.2.1	-	Composição Química Centesimal das Sementes de <i>M. oleifera</i> Cruas Após a Extração das Proteínas Coagulantes	107
6.7.2.2	-	Determinação de Minerais das Sementes de <i>M. oleifera</i> Cruas Após a Extração das Proteínas Coagulantes	109
6.7.2.3	-	Caracterização Química e Físico-Química das Proteínas de Sementes de <i>M. oleifera</i> Após a Extração das Proteínas Coagulantes	109

6.7.2.3.1	–	Composição em Aminoácidos	109
6.7.2.3.2	–	Eletroforese em Gel de Tricina em Condições Desnaturantes	112
6.7.2.4	–	Detecção e/ou Dosagem de Compostos Com Propriedades Tóxicas e/ou Antinutricionais em Sementes de <i>M. oleifera</i> Após a Extração das Proteínas Coagulantes	112
6.7.2.4.1	–	Lectinas	112
6.7.2.4.2	–	Inibidores de Tripsina	112
6.7.2.4.3	–	Toxinas	114
6.7.2.4.4	–	Urease	114
6.7.2.4.5	–	Taninos	114
6.7.2.4.6	–	Saponinas	114
6.7.2.4.7	–	Glicosídeos cianogênicos	115
6.7.2.4.8	–	Alcalóides	115
6.7.2.5	–	Avaliação da Qualidade Nutricional de Farinha de Semente Integral Crua, em Nível de Inclusão Mais Baixo, e da Farinha de Sementes de <i>M. oleifera</i> Após a Extração das Proteínas Coagulantes	118
		<u>Fase 1 ou Fase Inicial (8º ao 21º dia de idade dos animais) do Ensaio Biológico 2</u>	118
6.7.2.5.1	–	Determinação da Energia Bruta, Metabolizável Aparente e Aparente Corrigida para o Nitrogênio	118
6.7.2.5.2	–	Avaliação dos Parâmetros Nutricionais	118
6.7.2.5.3	–	Análise do Peso Fresco e Seco dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte	119
		<u>Fase 2 ou Ensaio de Crescimento Compensatório do Ensaio Biológico 2</u>	121
6.7.2.5.4	–	Avaliação dos Parâmetros Nutricionais	124
6.7.2.5.5	–	Análise do Peso Fresco e Seco dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte	124
7	–	DISCUSSÃO	129
8	–	CONCLUSÃO	142
9	–	REFERÊNCIAS	144
10	–	APÊNDICE	157

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 – <i>Moringa oleifera</i> (vagens, folhas e flores)	7
2 – Distribuição geográfica da <i>Moringa oleifera</i>	8
3 – Vagens verdes e sementes cruas e tostadas de <i>Moringa oleifera</i>	12
4 – Desenho esquemático do sistema digestório de aves	23
5 – Esquema de preparação do extrato total	41
6 – Pintos (<i>Gallus gallus domesticus</i>) da linhagem “Ross”, machos, com peso médio à eclosão de 46,6 g, utilizados como modelo experimental no ensaio de desempenho	54
7 – Distribuição dos animais em gaiolas suspensas	55
8 – Eletroforese em gel de tricina na presença de SDS e β -mercaptoetanol das farinhas de sementes de <i>Moringa oleifera</i>	70
9 – Ganho de peso (Kg) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com dietas contendo farinha de sementes de Moringa Integral Crua - MIC 4% (T3), 8% (T4), 12% (T5) e 16% (T6) e Moringa Integral Autoclavada - MIA 4% (T7), 8% (T8), 12% (T9) e 16% (T10), comparado com os valores obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (T1) e a uma dieta aprotéica (T2) (Fase 1).	79
10 – Análise de regressão do ganho de peso em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de Moringa Integral Crua na dieta de frangos de corte (Fase 1)	80
11 – Análise de regressão do ganho de peso em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de Moringa Integral Autoclavada na dieta de frangos de corte (Fase 1)	81
12 – Consumo alimentar (Kg) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com dietas contendo farinha de sementes de Moringa Integral Crua - MIC 4% (T3), 8% (T4), 12% (T5) e 16% (T6) e Moringa Integral Autoclavada - MIA 4% (T7), 8% (T8), 12% (T9) e 16% (T10), comparado com os valores	83

	obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (T1) e a uma dieta aprotéica (T2) (Fase 1)	
13 –	Análise de regressão do consumo de alimento em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de Moringa Integral Crua na dieta de frangos de corte (Fase 1)	84
14 –	Análise de regressão do consumo de alimento em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de Moringa Integral Autoclavada na dieta de frangos de corte (Fase 1)	85
15 –	Eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com dietas contendo farinha de sementes de Moringa Integral Crua - MIC 4% (T3), 8% (T4), 12% (T5) e 16% (T6) e Moringa Integral Autoclavada - MIA 4% (T7), 8% (T8), 12% (T9) e 16% (T10), comparada com os valores obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (T1) e a uma dieta aprotéica (T2) (Fase 1)	86
16 –	Análise de regressão da eficiência alimentar em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de Moringa Integral Crua na dieta de frangos de corte (Fase 1)	87
17 –	Análise de regressão da eficiência alimentar em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de Moringa Integral Autoclavada na dieta de frangos de corte (Fase 1)	88
18 –	Sufusões na mucosa (setas) do íleo de frangos de corte com 21 dias de idade submetidos à dieta contendo sementes de Moringa Integral Autoclavada (MIA) , no nível de substituição de 4% (T7) (Fase 1)	91
19 –	Lesões necróticas multifocais com coloração esverdeada de tamanhos variáveis (setas) e colestase no fígado de frangos de corte com 21 dias de idade submetidos a tratamentos com dietas contendo sementes de Moringa Integral Autoclavada (MIA) . (a) e (b) Nível de substituição de 12%; (c) Nível de substituição de 16% (T10) (Fase 1)	93

20 –	Áreas necróticas multifocais de tamanhos variáveis e coloração amarelada no fígado de frangos de corte submetidos ao tratamento com dieta contendo sementes de <i>Moringa Integral Crua (MIC)</i> no nível de substituição de 16% (T6) (Fase 1)	94
21 –	Exame histopatológico de fígado, mostrando necrose difusa com variado grau de evolução, de frangos de corte com 21 dias de idade, submetido ao tratamento com dieta contendo sementes de <i>Moringa Integral Autoclavada (MIA)</i> no nível de substituição de 16% (T10).	95
22 –	Áreas hiperêmicas (a) e (c) e infiltrado linfocitário focal (b) e difuso (d) na superfície glandular e mucosa do proventrículo de frangos de corte com 21 dias de idade submetidos ao tratamento com dieta contendo sementes de <i>Moringa Integral Autoclavada (MIA)</i> no nível de substituição de 4% (T7)	96
23 –	Ganho de peso (Kg) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º com a ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico	101
24 –	Consumo alimentar (Kg) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º com a ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico	103
25 –	Eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º com a ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico	104
26 –	Composição proximal da farinha de sementes de <i>Moringa oleifera</i> após a extração das proteínas coagulantes (<i>Moringa Extraída</i>), expressa em percentual do peso seco.	108
27 –	Eletroforese em gel de tricina na presença de SDS e β -mercaptoetanol da farinha de sementes de <i>Moringa oleifera</i> após a extração das proteínas	113

LISTA DE TABELAS

	Página
1 – Atividades de secreções e enzimas digestivas em aves	23
2 – Composição da ração referência utilizada no ensaio de metabolismo	51
3 – Composição (g/Kg) das dietas controles (padrão e aprotéica) e experimentais (MIC 4%, 8%, 12% e 16% e MIA 4%, 8%, 12% e 16%)	53
4 – Composição da ração utilizada nos ensaios de crescimento compensatório com animais do 22º ao 42º dia	57
5 – Composição (g/Kg) das dietas controles (padrão e aprotéica) e experimentais (MIC 2% e ME 4% e 16%)	58
6 – Composição proximal das sementes de Moringa Integral Crua (MIC), Moringa Sem Casca Crua (MSCC), Casca Crua (CC), Moringa Integral Autoclavada (MIA), Moringa Sem Casca Autoclavada (MSCA) e Casca Autoclavada (CA), expressa em percentual do peso seco	63
7 – Composição de Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA) das farinhas de sementes de Moringa Integral Crua (MIC), Moringa Sem Casca Crua (MSCC), Casca Crua (CC), Moringa Integral Autoclavada (MIA), Moringa Sem Casca Autoclavada (MSCA) e Casca Autoclavada (CA), expressa em percentual do peso seco	64
8 – Composição (%) em macrominerais (cálcio, fósforo, sódio, potássio e magnésio) das farinhas de sementes de Moringa Integral Crua (MIC), Moringa Sem Casca Crua (MSCC), Moringa Integral Autoclavada (MIA), Moringa Sem Casca Autoclavada (MSCA), comparadas com a composição do farelo de soja	66
9 – Composição (ppm) em microminerais (ferro, zinco, manganês e cobre) das farinhas de sementes de Moringa Integral Crua (MIC), Moringa Sem Casca Crua (MSCC), Moringa Integral	67

	Autoclavada (MIA), Moringa Sem Casca Autoclavada (MSCA), comparadas com a composição do farelo de soja	
10 –	Composição em aminoácidos (g/100 g proteína) das farinhas de sementes de Moringa Integral Crua (MIC) e Moringa Integral Autoclavada (MIA) comparada com a composição de sementes de soja	69
11 –	Atividades hemaglutinante, inibidora de tripsina, tóxica e ureásica dos extratos brutos obtidos a partir de farinha de sementes de Moringa Integral Crua (MIC) e Moringa Integral Autoclavada (MIA)	73
12 –	Análise qualitativa da presença de taninos, saponinas, glicosídeos cianogênicos e alcalóides em farinha de sementes de Moringa Integral Crua (MIC) e Moringa Integral Autoclavada (MIA)	75
13 –	Ganho de peso, consumo e eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de Moringa Integral Crua (MIC) e Moringa Integral Autoclavada (MIA) em diferentes níveis de substituição (4%, 8% 12% e 16%), comparados com os parâmetros obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial e a uma dieta aprotéica (Fase 1)	78
14 –	Utilização Líquida de Proteína (NPU), Razão Líquida de Proteína (NPR) e Razão de Eficiência Protéica (PER) em frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de Moringa Integral Crua (MIC) e Moringa Integral Autoclavada (MIA) em diferentes níveis de substituição (2%, 4%, 8% e 12%), comparadas com os índices obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (Fase 1)	90
15 –	Peso fresco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de Moringa Integral Crua (MIC) e	97

	Moringa Integral Autoclavada (MIA) em diferentes níveis de substituição (2%, 4%, 8% e 12%), comparado com o peso fresco relativo dos órgãos dos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial e a uma dieta aprotéica (Fase 1)	
16 –	Peso seco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso seco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de Moringa Integral Crua (MIC) e Moringa Integral Autoclavada (MIA) em diferentes níveis de substituição (2%, 4%, 8% e 12%), comparado com o peso seco relativo dos órgãos dos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial e a uma dieta aprotéica (Fase 1)	98
17 –	Ganho de peso, consumo e eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com uma ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico	100
18 –	Peso fresco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com uma ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico	105
19 –	Peso seco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com uma ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico	106
20 –	Composição em macrominerais (cálcio, magnésio, fósforo, potássio e sódio) e microminerais (ferro, cobre, zinco e manganês) da farinha de sementes de <i>Moringa oleifera</i> após a extração das proteínas coagulantes (ME, Moringa Extraída), comparada com a composição do farelo de soja	110
21 –	Composição em aminoácidos (g/100 g proteína) das farinhas de sementes de <i>Moringa oleifera</i> após a extração das proteínas	111

	coagulantes (ME - Moringa Extraída) comparada com a composição de sementes de soja	
22 –	Atividades hemaglutinante, inibidora de tripsina, tóxica e ureásica dos extratos brutos obtidos a partir de farinha de sementes de <i>Moringa oleifera</i> após a extração das proteínas coagulantes (ME - Moringa Extraída)	116
23 –	Análise qualitativa da presença de taninos, saponinas, glicosídeos cianogênicos e alcalóides em farinha de sementes de <i>Moringa oleifera</i> após a extração das proteínas coagulantes (ME - Moringa Extraída)	117
24 –	Ganho de peso, consumo e eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de Moringa Integral Crua (MIC) , nível de substituição de 2%, e Moringa Extraída (ME) , em diferentes níveis de substituição (4% e 16%), comparados com os parâmetros obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (Fase 1)	120
25 –	Peso fresco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de Moringa Integral Crua (MIC) , nível de substituição de 2%, e Moringa Extraída (ME) , em diferentes níveis de substituição (4% e 16%), comparado com o peso fresco relativo dos órgãos dos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (Fase 1)	122
26 –	Peso seco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de Moringa Integral Crua (MIC) , nível de substituição de 2%, e Moringa Extraída (ME) , em diferentes níveis de substituição (4% e 16%), comparado com o peso seco relativo dos órgãos dos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (Fase 1)	123

27 –	Ganho de peso, consumo e eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 21º ao 42º dia de idade com uma ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico	125
28 –	Evolução do peso corporal (Kg) de frangos de corte da alimentados do 22º ao 42º dia de idade (Fase 2) com uma ração de engorda usada na avicultura comercial	126
29 –	Peso fresco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com uma ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico	127
30 –	Peso seco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com uma ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico	128
31 –	Composição do suplemento vitamínico-mineral para aves com aditivo promotor de crescimento e aditivo coccidiostático indicado para rações de aves de corte na fase inicial (06 a 21 dias).	158
32 –	Composição do suplemento vitamínico-mineral para aves com aditivo promotor de crescimento e aditivo coccidiostático indicado para rações de aves de corte na fase de engorda (22 a 42 dias)	159

ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES

BAPNA	N α -Benzoil-DL-arginina-p-nitroalínida
BSA	Albumina Sérica Bovina
CCK	Colecistoquinina
DL ₅₀	Dose Letal capaz de matar 50% dos animais testados
ED ₅₀	Dose Efetiva farmacologicamente para 50% de uma população exposta a uma determinada droga ou 50% de resposta em um sistema biológico exposto a uma determinada droga
EDTA	Ácido etilenoaminotetracético
HEMOCE	Centro de Hemoterapia do Ceará
NPR	Razão de Proteína Líquida
NPU	Utilização Protéica Líquida
PER	Razão de Eficiência Protéica
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio
TEMED	N,N',N',N tetrametiletlenodiamina
Tris	Tris (hidroximetil) aminometano
UH	Unidade de Hemaglutinação. Definida como sendo o inverso da maior diluição capaz de aglutinar uma suspensão de eritrócitos a 2%
UI	Unidade de Inibição

RESUMO

Sementes de *Moringa oleifera* possuem alto conteúdo lipídico e protéico, apresentando potencial para uso na nutrição animal. O objetivo deste trabalho foi avaliar se sementes de moringa podem ser utilizadas como fonte alternativa de proteína e energia para frangos de corte. A pesquisa foi conduzida com sementes de moringa integral crua (MIC) e autoclavada (MIA) (121 °C, 20 minutos, pressão 0,5 kgf/cm²) e com o resíduo obtido após a extração aquosa das proteínas coagulantes, denominado moringa extraída (ME). A extração teve como finalidade avaliar se estas constituem fatores tóxicos e/ou antinutricionais. As amostras descritas acima foram comparadas em relação às suas composições, presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais e valor nutricional para frangos de corte. MIC e MIA apresentaram quantidades similares de proteína (29%) e óleo (31%), mas diferiram dos conteúdos encontrados em ME (35% e 58%, respectivamente). As composições aminoacídicas das amostras apresentaram diferenças. As sementes autoclavadas apresentaram uma redução nos teores de cisteína e leucina. A composição de aminoácidos essenciais de sementes de *M. oleifera* comparada à composição das sementes de soja revelou conteúdos semelhantes com exceção de Lisina, tirosina e triptofano que foram menores. As amostras apresentaram perfis eletroforéticos similares, exibindo um número reduzido de bandas com massas moleculares em torno de 10 kDa. Lectinas foram detectadas em MIC (10,39 UH/mgP) e ME (6,20 ± 0,54 UH/mgP), mas não nas sementes autoclavadas. Os conteúdos de urease foram similares na MIC (56,78 U/mgF) e ME (52,13 U/mgF), superiores ao da MIA (0,51 U/mgF). Apenas os extratos brutos de MIC (DL₅₀ 4,33 mgP/10 g de peso corpóreo) e ME (DL₅₀ 2,30 mgP/10 g de peso corpóreo) foram letais para camundongos por via intraperitoneal. As análises qualitativas revelaram a presença de saponinas em todas as amostras, alcalóides apenas na MIC e MIA e glicosídeos cianogênicos somente na MIC. Inibidores de tripsina e taninos não foram detectados nas amostras analisadas. O tratamento térmico da moringa e a extração das proteínas coagulantes foram capazes de reduzir os teores de fatores tóxicos e/ou antinutricionais. Avaliação nutricional usando níveis de substituição crescentes (0, 4, 8, 12 e 16%) da soja e do milho com MIC e MIA nas dietas de frangos de corte, durante a fase inicial (8°-21° dia), resultou em uma diminuição do crescimento e índices nutricionais menores quando comparados ao tratamento controle (dieta padrão da avicultura comercial). A inclusão de MIC em um nível de substituição mais baixo (2%) não promoveu um melhor desempenho dos animais quando comparado ao controle. Por outro

lado, os resultados obtidos através da inclusão de ME na dieta foram melhores, particularmente se considerado o nível de 4%. De fato, o consumo alimentar no tratamento com ME 4% não diferiu em relação ao controle. Lesões foram detectadas no fígado e intestino delgado dos animais que consumiram MIC e MIA, mas não naqueles submetidos à dieta com ME. O ensaio de avaliação do crescimento compensatório (22°-42° dia), usando uma ração de engorda empregada na avicultura neste período, revelou recuperação dos animais, particularmente daqueles submetidos às dietas com ME. Este estudo sugere que as sementes de moringa apresentam potencial para nutrição de frangos de corte, com base em sua composição proximal, mineral e aminoacídica. Todavia, a moringa deve ser submetida a um tratamento mais específico para inativação dos constituintes antinutricionais e/ou tóxicos. O processo de extração das proteínas coagulantes, usado neste estudo, parece ser mais eficiente do que o processo de autoclavagem, porém ainda não é o ideal. Métodos alternativos de processamento devem ser empregados com o objetivo de eliminar de forma mais eficaz todos os fatores tóxicos e/ou antinutricionais e, com isso, permitir a utilização das sementes de moringa como uma nova fonte de proteína e energia.

ABSTRACT

Moringa oleifera seeds possess high protein and lipid contents with potential use in animal nutrition. This study was undertaken to evaluate the suitability of *M. oleifera* seeds as an alternative source of protein and energy for broiler chicks. The research was conducted with raw whole seed (RWS), autoclaved whole seed (AWS) (autoclaving at 121 °C, 20 minutes, pressure 0.5 Kgf/cm²) and the residue obtained after water extraction of the coagulant proteins, that was designated as extracted seed (ES). ES was analyzed to evaluate whether the coagulant proteins constitute toxic and/or antinutritional factors. The above moringa-seed derived samples were compared as to their compositions, presence of toxic and/or antinutritional factors, and nutritional value for broiler chicks. RWS and AWS presented similar amounts of protein (29%) and oil (31%), but differed from those found for ES (35% and 58%, respectively). Samples showed different amino acid compositions, specially regarding to cysteine and leucine contents which were reduced in autoclaved seeds. Contents of essential amino acids were similar to soybean, except for lysine, tyrosine and tryptophan which were present in lower levels. The electrophoretic profiles were similar for the three samples and showed a reduced number of bands detected in the molecular mass region around 10 kDa. Lectins were detected in RWS (10.39 UH/mgP) and ES (6.20 UH/mgP), but not in AWS. Urease contents were similar in RWS (56.78 U/mgF) and ES (52.13 U/mgF), but very much lower in AWS (0.51 U/mgF). Only crude extracts of RWS (LD₅₀ 4.33 mgP/10 g of body weight) and ES (LD₅₀ 2.30 mgP/10 g of body weight) were toxic to mice by intraperitoneal injection. Qualitative analysis revealed the presence of saponins in all the samples studied, alkaloids were present in RWS and AWS, and cyanogenic glycosides only in the RWS. Trypsin inhibitors and tannins were not detected in the analyzed samples. Thermal heat treatment of the seed-derived samples and extraction of the coagulating proteins promoted the reduction in the levels of toxic and/or antinutritional factors. Nutritional evaluation with increasing substitution levels (0, 4, 8, 12 and 16%) of soybean and maize with RWS and AWS in diets for broiler chicks, during the starting period (8-21 days) resulted in impairment of the bird growth and lower nutritional indices as compared to the control group (commercial ration). The inclusion of RWS at the lowest substitution level (2%) did not promote a better animal performance as compared to control. On the other hand, the results obtained by inclusion of ES into a diet were much better, mainly when considered the level of 4%. Accordingly, the feed intakes did not differ when the birds were fed with ES compared to

those fed on control diet. Lesions were observed in the liver and small intestine of the animals that consumed RWM and AWM, but not in those fed on EM. The compensatory growth assay (22-42 days), using a specific commercial ration during this period, revealed recuperation of the animals, in particular of those submitted to diets with ES. This study suggests that *M. oleifera* seeds have potential to feed broiler chicks considering their proximate and mineral compositions and amino acid levels. However, the seeds need a more specific treatment for inactivation of the antinutritional and/or toxic compounds. The extraction process to remove the coagulant proteins used in this study seems to be more efficient than the autoclaving process, but it is not yet the ideal one. Alternative processing methods should be employed with the aim of eliminating all the toxic and/or antinutritional factors to allow using *M. oleifera* seeds as a new source of protein and energy for broiler chicks.

1. INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas que a avicultura do Estado do Ceará enfrenta para ganhar competitividade nacional e conquistar espaço no mercado internacional é a dificuldade na obtenção de ingredientes para rações. Os principais componentes das rações de aves são milho e soja, ingredientes cujos custos e disponibilidades têm sido grandes entraves para os criadores da Região Nordeste. A crescente procura por esses produtos para a alimentação humana, aliada às dificuldades de produção e transporte, têm contribuído para a elevação dos custos de produção de frangos na região, comprometendo a viabilidade econômica dos criatórios e a expansão da atividade.

Sabe-se que a alimentação é um dos principais custos na produção de frangos de corte, sendo a fonte protéica a principal responsável pelo encarecimento da ração. Dessa forma, torna-se de grande relevância a elaboração de rações mais eficientes e econômicas, que resultem em altos ganhos de peso, acompanhados de custos reduzidos. A dificuldade de obtenção de soja e milho implica, portanto, na necessidade de identificação de novas fontes de nutrientes para as aves. A possibilidade de substituição do milho e do farelo de soja em apenas 10% nas rações de frango de corte pouparia em torno de 100 mil toneladas de milho e 40 mil toneladas de farelo de soja anuais, aumentando as receitas da indústria avícola, pelo fato da ração representar 65% do custo de produção e do milho e farelo de soja contribuírem com cerca de 88% do seu preço final (SILVA, 2003 a,b).

Uma das alternativas para suprir tal necessidade é avaliar a utilização de alimentos não convencionais disponíveis regionalmente, provenientes de culturas adaptadas às condições climáticas locais. Nessas avaliações, é importante que sejam considerados o valor nutritivo do alimento, o melhor nível de sua inclusão nas rações e sua viabilidade econômica (NASCIMENTO, 1997). Com o objetivo de garantir um desempenho ótimo nos animais e uma produção economicamente viável, pesquisas têm sido direcionadas para avaliar a utilização dessas fontes protéicas e energéticas não convencionais, particularmente produtos de origem vegetal, tais como sementes de leguminosas. Alguns exemplos de fontes protéicas promissoras e inexploradas são: *Crambe abyssinica* (LEDOUX *et al.*, 1999), *Canavalia ensiformis*, *Mucuna puriens* (AGBEDE e ALETOR, 2005; SIDDHURAJU e BECKER, 2005), *Milletia obanensis* (UMOREN *et al.*, 2005), *Canavalia cathartica* (SEENA *et al.*, 2005), dentre outras. No que se refere especificamente à alimentação de frangos de corte, tem-se observado um crescente interesse no uso de subprodutos da indústria de óleo vegetal. Algumas fontes alternativas de nutrientes foram testadas, entre as quais, o farelo de girassol (PINHEIRO *et al.*, 2002) e o farelo de canola (FIGUEIREDO *et al.*, 2003).

A *Moringa oleifera* é um exemplo de planta bem adaptada ao clima quente do Nordeste do Brasil. Além disso, é resistente à seca e a patógenos e suas sementes apresentam elevado teor protéico e energético (OLIVEIRA *et al.*, 1999), tornando sua exploração aparentemente viável do ponto de vista nutricional.

Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo geral de avaliar o potencial nutricional de farinha de sementes de *M. oleifera*, cruas e autoclavadas, como substituto parcial do milho e da soja na dieta de frangos de corte.

Para tanto, a pesquisa realizada buscou responder as seguintes perguntas:

1. O processamento térmico exerce algum efeito sobre as composições centesimal, mineral e aminoacídica da farinha sementes de *M. oleifera*?
2. As sementes de *M. oleifera* contêm fatores tóxicos e/ou antinutricionais que possam comprometer a utilização dos nutrientes?
3. O tratamento térmico seria capaz de inativar os fatores tóxicos e/ou antinutricionais presentes nas sementes de *M. oleifera*?
4. Qual o teor de energia metabolizável de sementes de *M. oleifera* cruas e processadas?
5. Qual o melhor nível de inclusão da farinha de sementes de *M. oleifera* na dieta de frangos de corte?
6. A presença de substâncias com propriedades tóxicas e/ou antinutricionais presentes nas sementes de *M. oleifera* interfere no desenvolvimento de frangos de corte?
7. A presença de substâncias com propriedades tóxicas e/ou antinutricionais presentes nas sementes de *M. oleifera* causa alterações em órgãos do sistema digestório de frangos de corte?

8. Os efeitos antinutricionais desencadeados pelo uso de sementes de moringa são reversíveis, isto é, após determinado período de arrazoamento das aves com ração contendo sementes de moringa, o retorno à ração comercial permite recuperação dos animais e crescimento compensatório?
9. As proteínas coagulantes são fatores tóxicos e/ou antinutricionais?
10. A remoção das proteínas coagulantes tem algum efeito positivo no desempenho dos animais?

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – Classificação Taxonômica, Origem, Distribuição Geográfica, Características e Utilizações da *Moringa oleifera*

2.1.1 - Classificação Taxonômica

A *Moringa oleifera* Lam. (Figura 1) pertence ao reino Plantae, divisão Anthophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Dinelliidae, ordem Capparidales, família *Moringaceae* e gênero *Moringa* (RANGEL, 1999).

2.1.2 - Origem e Distribuição Geográfica

A *M. oleifera* é uma planta originária da Índia, amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, apresentando grande importância para a indústria alimentar e farmacêutica (BECKER e MAKKAR, 1999; FOIDL *et al.*, 2001).

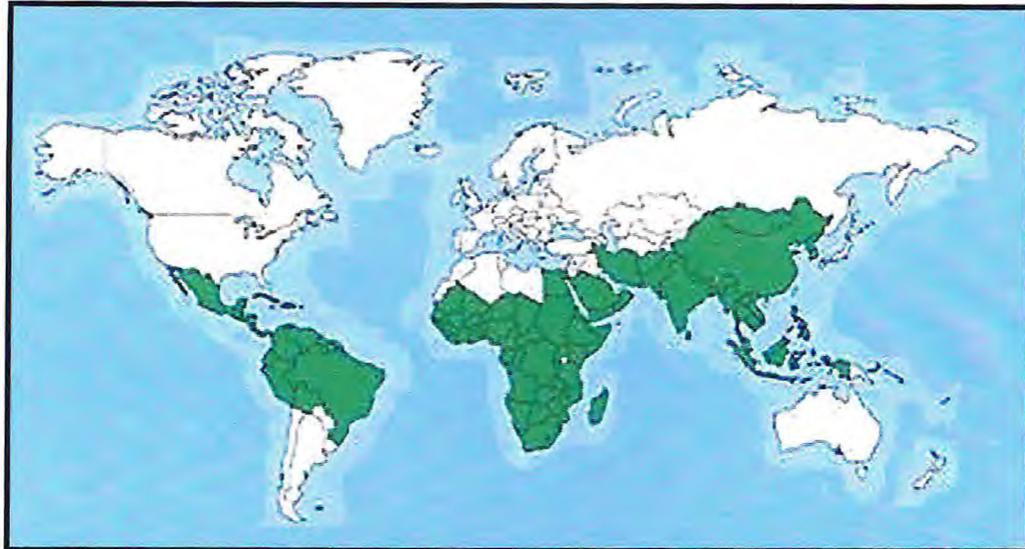
A distribuição geográfica da moringa (Figura 2) abrange, principalmente, as regiões climáticas semi-áridas da Índia, quase todo continente africano e as regiões de clima tropical da América do Sul e Central (RAMACHANDRAN *et al.*, 1980; FREIBERGER *et al.*, 1998; FOIDL *et al.*, 1999; LOCKETT *et al.*, 2000; AREGHEORE, 2002).

2.1.3 – Características

A *M. oleifera* é uma planta tropical bastante resistente ao calor, à seca e a solos pobres (DAHOT, 1998). Ocorre em regiões climáticas semi-áridas e exige para seu cultivo solos bem drenados, precipitação pluviométrica mínima de 600 – 700 mm e temperaturas ótimas de 24 a 30 °C (TRIER, 1995).



Figura 1 – *Moringa oleifera* (vagens, folhas e flores).



Fonte: www.zija.moringa.de

Figura 2 – Distribuição geográfica da *Moringa oleifera*.

Muitas espécies da família *Moringaceae* se caracterizam por apresentar, além da resistência, facilidade de cultivo e rapidez no crescimento. Em alguns países africanos, uma das grandes vantagens atribuídas à moringa é a possibilidade de colheita na estação seca, quando nenhum outro vegetal está disponível (JAHN, 1992).

Na Índia, essa planta se caracteriza por ser bastante resistente a doenças, sendo afetada apenas por algumas poucas espécies de insetos e lagartas (RAMACHANDRAN *et al.*, 1980).

A *M. oleifera* é uma árvore caducifólia, que atinge de 7-10 m de altura. Apresenta um tronco com casca pardo-acizentada, liso, com fissuras leves e ramagem numerosa, formando uma copa aberta. As folhas apresentam-se aglomeradas nas extremidades dos ramos. As inflorescências apresentam-se nas panículas axilares, com numerosas flores brancas de cinco pétalas, sendo formadas de agosto a outubro. Produz frutos longos, semelhantes a vagens, de secções triangulares, deiscentes, de 20-30 cm de comprimento, abrindo-se ao longo de três valvas, liberando sementes triangulares, tri-aladas e ricas em óleo (LORENZI *et al.*, 2002). Quando se tornam maduros, os frutos adquirem cor marrom e apresentam de 10-50 sementes (VLAHOF *et al.*, 2002). A multiplicação dessa espécie se dá tanto por sementes quanto por estacas (LORENZI *et al.*, 2003). As sementes não requerem nenhum tratamento prévio antes da germinação, com taxas de viabilidade para sementes frescas de até 80%, reduzindo-se para aproximadamente 50% após 12 meses de armazenamento (RANGEL, 1999). A planta frutifica no primeiro ano em condições ideais de manejo, a floração ocorrendo no final da estação úmida, com perdas das folhas no início do período seco. Na mesma árvore podem se encontrados vários estados fenológicos ao mesmo tempo, tais como folhas, flores e frutos (TRIER, 1995). Em condições ambientais favoráveis, uma planta pode produzir 50 a 70 Kg de vagens por ano (SHERKAR, 1993).

2.1.4 – Utilizações da *M. oleifera*

2.1.4.1 – Usos Medicinais

A *M. oleifera* tem surpreendido por seus atributos medicinais, sendo usada no tratamento de ascite, reumatismo e como estimulante do sistema circulatório (ANWAR *et al.*, 2005). Várias partes dessa planta são conhecidas por suas propriedades farmacológicas, dentre as quais se destacam as atividades antimicrobiana (CARCERES *et al.*, 1991; DAHOT, 1998),

analgésica (MARUGANDAN *et al.*, 2001), hipocolesterolêmica (MEHTA *et al.*, 2003), hipoglicêmica (KAR *et al.*, 2003), antitumoral (GUEVARA *et al.*, 1999; LOTUFO *et al.*, 2005) e antihipertensiva (DANGI *et al.*, 2002).

Chuang *et al.* (2007) demonstraram ainda atividade antifúngica de extratos de *M. oleifera* contra os agentes patogênicos *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* e *Microsporum canis*. Caceres *et al.* (1992) observaram que a solução resultante da infusão de sementes em água quente apresentou atividades antiespasmódica, antiinflamatória e diurética, além de ter sido capaz de inibir, significativamente, a contração induzida pela acetilcolina (ED₅₀ de 65,6 mg/mL) e do edema de pata traseira induzido pela carragenina (1000 mg/Kg). Também foi verificado que o material resultante da infusão das sementes apresentava ação diurética quando fornecido a ratos, na dose de 1000 mg/Kg de massa corpórea.

2.1.4.2 – Utilização como Alimento

A *M. oleifera* tem sido vista como uma fonte natural de nutrientes dos trópicos. As folhas, flores, frutos e raízes dessa árvore, que apresenta múltiplos usos, são utilizados como alimento em determinadas regiões (ANWAR e BHANGER, 2003). De fato, considerando-se a composição química das partes comestíveis da *M. oleifera*, pode-se esperar que sejam recursos potencialmente utilizáveis para a alimentação humana e animal. Análises realizadas com folhas revelaram quantidades razoáveis de proteínas (6,7 - 8,1%), carboidratos (13,4 - 14,1%), minerais e vitaminas (JAHN, 1992). As sementes apresentaram 33,3 - 38,4% de proteína bruta, 34,7 - 41,2 % de óleo, 3,5% de fibra, 3,2 - 4,4% de minerais e 16,4 - 21,1% de carboidratos (RAMACHANDRAN *et al.*, 1980; OLIVEIRA *et al.*, 1999).

Há algum tempo, populações de países asiáticos e africanos utilizam as sementes verdes e maduras de *M. oleifera* (Figura 3) como fonte de alimentos e condimento, bem como no preparo de bebidas utilizadas na medicina popular (JAHN, 1986). As sementes são tostadas, trituradas para fazer chá e, quando imaturas, utilizadas em substituição às ervilhas verdes. Estudos toxicológicos com ratos, realizados através da administração oral da farinha das sementes suspensa em óleo de oliva, demonstraram que doses diárias correspondentes a 5 g/Kg de massa corpórea por períodos de curta duração e 50 mg/Kg e 500 mg/Kg de massa corpórea em ensaios de longa duração não causaram nenhum sinal evidente de toxicidade

específica (BERGER *et al.*, 1984). Estes experimentos, que duraram até 6 semanas, demonstraram apenas algumas alterações morfológicas no intestino (inflamação) e nos testículos (edema). Entretanto, estes distúrbios foram observados também nos animais do grupo controle, alimentados apenas com óleo de oliva, levando à conclusão de que as alterações ocorridas estavam relacionadas ao veículo utilizado e não, particularmente, às sementes de *M. oleifera*. Segundo esses mesmos autores, a exploração das propriedades coagulantes da moringa para purificação da água leva à ingestão da farinha das sementes. Contudo, esta ingestão tem pouco significado quantitativo, visto que a maior parte do material fica precipitada. Somente as substâncias solúveis em água seriam ingeridas em quantidades significativas.

Por outro lado, OLIVEIRA *et al.* (1999) observaram que a inclusão de farinha de sementes de *M. oleifera* na ração de ratos em fase de crescimento, em teor correspondente a 10% da proteína da dieta, causou diminuição do consumo alimentar e do crescimento, baixos valores de utilização protéica líquida (NPU) e aumento do peso seco de vários órgãos internos.

2.1.4.3 – Usos Industriais

Uma das mais importantes aplicações industriais de sementes de moringa está relacionada à purificação de água (KALOGO *et al.*, 2001; BROIN *et al.*, 2002). As propriedades relacionadas à purificação de água são decorrentes de proteínas coagulantes presentes na farinha das sementes de *M. oleifera* e têm sido estudadas sob vários aspectos tais como turbidez, alcalinidade, sólidos totais dissolvidos e água pesada (MEGAT, 2001; FOLKARD e SUTHERLAND, 2002). Ghebremichael *et al.* (2005) isolaram a proteína responsável por essa atividade coagulante. Trata-se de uma proteína catiônica com ponto isoelétrico maior que 9,6 e massa molecular menor que 6,5 kDa, rica em resíduos de glutamina, arginina e prolina. A proteína é termo-resistente, pois permanece ativa mesmo quando submetida à temperatura de 95 °C por mais de 5 h. A atividade coagulante pode ser explicada pela baixa massa molecular associada à alta densidade de cargas, características dessa proteína. A clarificação da água pela farinha de sementes de *M. oleifera* é ainda acompanhada por atividade antimicrobiana.



Figura 3 – Vagens verdes e sementes cruas e tostadas de *Moringa oleifera*.

Além disso, Sharma *et al.* (2006) observaram que essas proteínas têm ainda a capacidade de remover metais tóxicos da água, sendo esta uma técnica ecologicamente muito atrativa por ser segura, de fácil utilização e de baixo custo.

Outro subproduto da moringa que tem potencial para ser industrializado é o óleo, pois apresenta características especiais, sendo altamente valorizado como lubrificante por fabricantes de relógios, bem como pelos fabricantes de perfumes, devido ao seu poder de absorver e fixar até mesmo as essências mais fugazes (RAMANCHANDRAN *et al.*, 1980; DUKE, 1987).

Diversas pesquisas têm sido conduzidas no sentido de caracterizar o óleo de sementes de *M. oleifera* (TSAKNIS e LALAS, 2002; ANWAR *et al.*, 2005). Segundo Anwar *et al.* (2005), o óleo das sementes de moringa apresenta um elevado teor de ácido oléico e diferentes isômeros de tocoferol. As propriedades físicas e químicas do óleo de moringa são equivalentes às encontradas no óleo de oliva, inclusive o sabor é semelhante (RAMACHANDRAN *et al.*, 1980; LOWELL, 1999). Porém, o óleo de moringa apresenta ainda ácido behênico (C 22:0), ácido lignocérico (C 24:0) e traços dos ácidos láurico, n-pentadecanóico e pentadecenóico (FERRAO e FERRAO, 1970; DAHOT e MEMON, 1985). As características do óleo de *M. oleifera* podem ser altamente desejáveis, especialmente com a tendência atual de substituição de óleos vegetais poliinsaturados por aqueles que contenham alta quantidade de ácidos graxos monoinsaturados (CORBETT, 2003). Tsaknis e Lalas (2002) reportaram que o óleo da moringa apresenta uma excelente estabilidade durante a fritura, sendo, portanto um óleo resistente à oxidação. Segundo Anwar e colaboradores (2006), a utilização da mistura de óleo de moringa com óleos que apresentam altos conteúdos de ácido linoléico pode melhorar a qualidade nutricional desses óleos através do aumento da estabilidade dos mesmos durante o uso culinário. No Haiti e na Índia, o óleo tem sido usado na culinária de um modo geral, especialmente em saladas (PRICE, 1986; LALAS e TSAKNIS, 2002).

2.2 – Fatores Tóxicos e/ou Antinutricionais

O baixo valor nutricional dos alimentos é geralmente atribuído à quantidade insuficiente de nutrientes, digestibilidade reduzida e presença de fatores antinutricionais e/ou

tóxicos (El-ADAWY, 2002). Assim, a presença destes compostos deve ser considerada e avaliada antes da proposição do uso de novas culturas para fins alimentares e industriais.

De fato, o uso de fontes vegetais como alimento é limitado principalmente devido à presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais que, quando ingeridos, podem causar respostas adversas para o homem e/ou animais (MARTÍNEZ *et al.*, 1995; HUGHES *et al.*, 1996; EGOUNLETY e AWORH, 2003). Os fatores tóxicos e/ou antinutricionais mais comumente encontrados nos vegetais são: lectinas, inibidores de proteases, taninos, saponinas, glicosídeos cianogênicos, glicosinolatos e alcalóides.

2.2.1 – Lectinas

Muitas espécies de plantas contêm proteínas que se ligam a carboidratos, mais conhecidas como lectinas, aglutininas ou hemaglutininas. Essas proteínas apresentam a habilidade de se ligar a certas moléculas de carboidratos sem alterar suas estruturas covalentes (PUSZTAI *et al.*, 1990). Em razão da multiplicidade das propriedades biológicas dessas substâncias, Peumans e Van Damme (1996) redefiniram-nas como qualquer proteína possuidora de pelo menos um domínio não-catalítico capaz de se ligar, reversivelmente, a monossacarídeos ou oligossacarídeos específicos.

A toxicidade de diferentes lectinas é muito variável. As lectinas de milho e cevada são relativamente atóxicas, enquanto que as de feijão (*Phaseolus vulgaris*) podem causar a morte de ratos e, potencialmente, de outros animais consumidores. As lectinas mais tóxicas e mais estudadas são as da mamona (*Ricinus communis*) e as do jeriquiti (*Abrus precatorius*), conhecidas como ricina e abrina, respectivamente. Outra lectina muito estudada é a lectina da soja ou aglutinina da soja (SBA). A SBA é uma proteína tetramérica com massa molecular de 120 kDa, consistindo de 4 subunidades idênticas de 30 kDa. Essa lectina apresenta diferentes isoformas (isolectinas) que exibem propriedades similares e podem ser identificadas imunologicamente (LEESON E SUMMERS, 2001).

São várias as ações biológicas creditadas às lectinas. Provavelmente, essas ações são oriundas da resistência relativamente alta dessas proteínas à digestão enzimática, uma vez que cerca de 60% delas passam intactas pelo trato digestório (PUSZTAI *et al.*, 1990; VASCONCELOS e OLIVEIRA, 2004). Liener (1994), usando ratos como modelo experimental, verificou que as lectinas podem causar inibição do crescimento desses animais,

através da interferência na absorção dos nutrientes da dieta. Esta ação é decorrente da habilidade que elas apresentam de interagir com receptores glicoprotéicos presentes na superfície das células epiteliais da mucosa intestinal. Esta interação tem sido associada com a redução da viabilidade das células epiteliais, diminuição da altura das vilosidades e hiperplasia das criptas.

Douglas e Parson (1997) avaliaram o efeito das lectinas em aves. Para isso, utilizaram dois genótipos de soja, um livre de lectina e o outro representando a soja convencional, ambos crus, na dieta de pintos. Os resultados desse estudo indicaram que o valor nutricional da soja isenta de lectina foi superior ao da soja convencional, demonstrando, assim, o potencial antinutricional das lectinas.

2.2.2 – Inibidores de Proteases

Os inibidores de proteases representam um grupo de proteínas capazes de formar complexos estequiométricos com enzimas e, conseqüentemente, inibir competitivamente as atividades catalíticas dessas enzimas (VALUEVA e MOSOLOV, 1999). A principal conseqüência disso é a redução dos processos de digestão e absorção dos nutrientes da dieta (LIENER e KAKADE, 1980).

Dentre os inibidores de proteases destacam-se os inibidores de tripsina. Na soja, os inibidores de tripsina têm sido extensivamente estudados e são usados como modelos para todos os outros inibidores de tripsina de plantas. A soja contém dois tipos de inibidores de proteases, denominados de Kunitz e de Bowman-Birk. O inibidor do tipo Kunitz (KTI), identificado por Kunitz, em 1945, foi isolado de grãos de soja, constituindo-se no primeiro inibidor de proteases purificado de sementes (KUNITZ, 1947). O KTI apresenta massa molecular em torno de 20 kDa, composição de aminoácidos contendo cerca de 181 resíduos, forte ação inibidora sobre a tripsina e fraca em relação à quimotripsina, baixo número de pontes dissulfeto e alta susceptibilidade à inativação pelo calor, às condições ácidas e à digestão com pepsina (NORTON, 1991; SGARBIERI, 1996; BAU *et al.*, 1998). O inibidor do tipo Bowman-Birk (BBI) foi identificado por Bowman, em 1944, e isolado por Birk e colaboradores, em 1961 (GRANT, 1999). As propriedades básicas do BBI são massa molecular entre 7 e 10 kDa, cadeias polipeptídicas compostas por cerca de 71 resíduos de aminoácidos, sítios reativos separados e independentes para tripsina e quimotripsina capazes

de inibir as duas enzimas simultaneamente, altos teores de cisteína e serina, número elevado de pontes dissulfeto (normalmente 7 a 9) e relativa resistência à desnaturação térmica e química *in vitro* (ARMOUR *et al.*, 1998).

Dentre os efeitos observados após a ingestão dos inibidores de tripsina, pode ser citado retardamento do crescimento animal, redução da digestibilidade da proteína da dieta, diminuição da absorção de nitrogênio e enxofre, estimulação da secreção pancreática, aumento do pâncreas e, ainda, da síntese e liberação de fatores hormonais (GRANT *et al.*, 1989; 1995; NORTON, 1991; ARMOUR *et al.*, 1998).

2.2.3 – Toxinas

Toxinas são substâncias que atuam de forma aguda, produzindo alterações fisiológicas que culminam com a morte do animal (SGARBIERI, 1996). Como exemplos de proteínas tóxicas podem ser citadas duas proteínas da soja: a soyatoxina (SYTX) e a toxina da soja (SBTX). A SYTX é uma proteína ácida (pI 4,4 a 4,6), de cadeia única, com massa molecular aparente de 21 kDa. Essa toxina contém em sua estrutura ferro, cálcio, zinco e magnésio sendo, então, considerada uma metaloproteína. A SYTX, quando injetada por via intraperitoneal em camundongos ou ratos, produz dispnéia, paralisia flácida, convulsões tônico-clônicas e morte. Já a SBTX é uma proteína dimérica com massa molecular aparente de 44 kDa, composta por duas subunidades distintas, uma de 27 kDa e outra de 17 kDa. Em relação à sintomatologia induzida pela SBTX em camundongos ou ratos, ela é tão ou mais ativa do que a SYTX. (VASCONCELOS *et al.*, 1994; SIEBRA *et al.* 1998 e 2004; SOUSA, 2006). Vasconcelos *et al.* (2001), estudando dois genótipos de soja, um rico em toxinas e o outro livre de toxinas, constataram que as toxinas não se apresentaram como variáveis explanatórias significativas para o consumo alimentar, ganho de peso, utilização líquida de proteína (NPU) e digestibilidade (D) em experimentos conduzidos com ratos em crescimento. Porém, o peso do pâncreas e do intestino delgado foram significativamente afetados pela presença das toxinas da soja na dieta. Campello (2003), utilizando frangos de corte como modelo experimental, estudou as proteínas antinutricionais e/ou tóxicas de genótipos específicos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill.] e suas correlações com a performance nutricional desses animais. A partir desse trabalho, concluiu que as neurotoxinas presentes nas sementes de soja apresentam relevância como fatores tóxicos e/ou antinutricionais.

2.2.4 – Urease

A Urease é uma metaloenzima dependente de níquel que catalisa a hidrólise da uréia para formar amônia e dióxido de carbono. Muitos organismos, incluindo as plantas, algumas bactérias, fungos e invertebrados, sintetizam essa enzima (SIRKO e BRODZIK, 2000).

Pollaco e Holland (1993) relataram a existência de genes na soja que codificam para duas isoformas da urease, uma tecido-ubíqua e outra embrião-específica. Esses autores sugeriram que a urease específica do embrião de sementes de soja poderia simular os efeitos observados para a urease microbiana, baseados no grau de identidade entre as seqüências primárias (superior a 50%) dessas enzimas. Um dos principais efeitos observados foi a ulceração da mucosa gástrica de vertebrados, provavelmente decorrente da citotoxicidade direta da amônia ou do impedimento do fluxo de prótons das glândulas gástricas para o lúmen gástrico, resultando em difusão reversa de prótons (CUSSAC *et al.*, 1992). Segundo Sirko e Brodzik (2000), a urease embrião-específica é uma proteína abundante em sementes de várias espécies de plantas. Os possíveis efeitos tóxicos e/ou antinutricionais da urease têm sido estudados e comprovados por alguns pesquisadores (VASCONCELOS *et al.*, 2001; CAMPELLO, 2003).

2.2.5 – Taninos

Os taninos compreendem um grupo de substâncias complexas muito disseminadas no reino vegetal. Em quase todas as famílias botânicas há espécies que contêm taninos. Estes, quando ocorrem em grande quantidade, geralmente se localizam em determinados órgãos da planta como folhas, frutos, córtex ou caule. Os taninos são definidos como compostos polifenólicos, solúveis em água, com massa molecular entre 500 e 3000 Da, capazes de precipitar proteínas em soluções aquosas. Os taninos não são substâncias bem definidas, mas sim um grupo de compostos que dividem propriedades comuns, capazes de formar ligações estáveis com outras moléculas (LEESON e SUMMERS, 2001).

Tradicionalmente, os taninos são classificados segundo sua estrutura química em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (FERRÃO *et al.*, 2003). Taninos hidrolisáveis são caracterizados por um poliol central, geralmente β -D-glicose, cujas funções

hidroxilas são esterificadas com o ácido gálico. Os taninos condensados são polifenóis de elevada massa molecular, formados pela ligação de unidades de flavonóides (SIMÕES *et al.*, 2004). Vários pesquisadores têm investigado as atividades farmacológicas e biológicas dos taninos nas últimas décadas. Testes *in vitro* realizados com extratos ricos em taninos ou com taninos puros têm identificado diversas atividades biológicas dessa classe de substâncias, dentre as quais podem ser citadas as ações bactericida e fungicida (SCALBERT, 1991), antiviral (OKUDA *et al.*, 1993), moluscicida (MARSTON e HOSTETTMAN, 1985), inibidora de enzimas glicosiltransferases de *Streptococcus mutans* e *S. sobrinus* (HATTORI *et al.*, 1990) e, ainda, ação antitumoral (OKUDA *et al.*, 1989).

Características gerais que são comuns aos dois grupos de taninos, condensados e hidrolisáveis, incluem a afinidade de ligação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros), atividades antioxidante e seqüestradora de radicais livres e a habilidade de formar complexos com outras moléculas, tais como proteínas e polissacarídeos (FERRÃO *et al.*, 2003). Apesar da ação negativa do tanino no valor nutritivo de certos vegetais, em particular a redução de digestibilidade de proteínas, a inibição da ação de enzimas digestivas e interferência na absorção de ferro, os efeitos antinutricionais dos taninos ainda são questionáveis, devido à limitação de estudos nesta área (SILVA e SILVA, 1999).

2.2.6 – Saponinas

As saponinas são metabólitos secundários encontrados em um grande número de espécies de plantas e em alguns organismos marítimos. São caracterizadas por suas propriedades surfactantes e por formar espuma em soluções aquosas. A maioria da literatura disponível sobre a ocorrência de saponinas no reino vegetal está baseada no teste de formação de espuma persistente (OLESZEK e BIALY, 2006).

As saponinas ocorrem em centenas de plantas, incluindo alfafa, girassol, lupino, grão de bico e soja. De um modo geral, apresentam características comuns, tais como sabor amargo, propriedades irritantes de mucosa, propriedade de formar espuma, propriedades hemolíticas “*in vitro*” e habilidade de formar complexos com ácidos biliares e colesterol (LEESON e SUMMERS, 2001). Quimicamente, as saponinas são triterpenos ou glicosídeos esteroidais. A maioria das saponinas encontrada em grãos e forragens é do tipo triterpenoidal.

As propriedades detergentes e surfactantes presentes nas saponinas são exercidas por componentes hidro e lipossolúveis. Esses componentes são constituídos de um núcleo lipofílico, tendo uma estrutura esteroidal ou triterpenoidal, com uma ou mais cadeias de carboidratos hidrossolúveis. Nas plantas, as saponinas apresentam funções como regulação do crescimento e defesa contra insetos e patógenos (OLESZEK, 1996).

2.2.7 – Glicosinolatos

Glicosinolatos são compostos aniônicos naturais de plantas, ricos em enxofre, que quando hidrolisados por tioglicosidases endógenas (mirosinases) resultam em diferentes produtos (isotiocianatos, tiocianatos e nitrilas). Os produtos da hidrólise podem apresentar diferentes atividades biológicas na planta, funcionando como compostos de defesa e substâncias atrativas. Alguns estudos indicam que estes compostos podem atuar na prevenção do câncer, sendo também indicados como biopesticidas e flavorizantes (HALKIER e GERSHENZON, 2006).

Os tioglicosídios, mais comumente conhecidos como glicosinolatos, formam um grande grupo de compostos tóxicos presentes em muitas plantas, particularmente em membros da família *Cruciferae*. Tal como os cianoglicosídios, os glicosinolatos não são tóxicos *per se*. Entretanto, os glicosinolatos estão sempre acompanhados nos tecidos da planta pela enzima mirosinase, que catalisa a clivagem da ligação tioglicosídica dos glicosinolatos. A hidrólise causada pela mirosinase, ou ainda por calor ou acidez, produz uma variedade de compostos tóxicos após o rearranjo da porção aglicona. A maioria dos glicosinolatos pode ser classificada dentro de três grupos de acordo com o produto final de suas hidrólises. O maior grupo é aquele que apresenta uma cadeia lateral alquil ou alquenil que, após sofrer hidrólise, produz principalmente isotiocianatos. Dependendo do pH da reação, esses três grupos de glicosinolatos podem também levar a formação de nitrilas. Os efeitos tóxicos e/ou antinutricionais dos glicosinolatos dependem do tipo de composto produzido após a hidrólise. Em geral, glicosinolatos que produzem cianatos (isotiocianatos e tiocianatos) causam distúrbios na função da tireóide, detectada através da diminuição dos níveis de hormônios da tireóide no plasma e aumento de peso da tireóide. Em contraste, glicosinolatos que produzem nitrilas após hidrólise são principalmente nefrotóxicos e hepatotóxicos. Os que produzem goitrinas são potentes compostos goitrogênicos que inibem a incorporação do iodo por

precursores do hormônio tiroxina (T_4) e, também, interferem com a secreção de T_4 . As nitrilas são mais tóxicas do que as goitrinas e os cianatos. Em geral, pode-se considerar que a toxicidade dos glicosinolatos é maior para aqueles que originam as nitrilas, seguida pelos que produzem goitrinas e menor para os que produzem cianatos (LEESON e SUMMERS, 2001).

Glicosinolatos e/ou os produtos de sua hidrólise têm sido associados a problemas em aves. Nugon-Baudon *et al.* (1988, 1990) demonstraram que a microflora intestinal (bactérias ácido-láticas) produz tioglicosidases que podem hidrolisar glicosinolatos em subprodutos tóxicos responsáveis pelos efeitos adversos em aves. Fenwick *et al.* (1989) observaram uma relação dose-resposta entre ingestão de glicosinolatos e diminuição do peso corporal em frangos de corte e que níveis de glicosinolatos entre 3,1 e 4,5 mg causaram uma diminuição de 10% do ganho de peso. Campbell (1987) reportou hemorragia hepática e alta mortalidade em poedeiras alimentadas com dietas contendo altos teores de glicosinolatos.

2.2.8 – Glicosídeos Cianogênicos

Glicosídeos cianogênicos, cianoglicosídeos ou cianógenos são compostos que, quando submetidos a tratamento com ácido ou hidrólise por enzimas específicas, liberam o ácido cianídrico (HCN). Os cianoglicosídeos ocorrem em mais de 2.000 espécies de plantas, sendo a mandioca a cultura que apresenta a mais alta quantidade de cianógenos (LEESON e SUMMERS, 2001).

Assim como os glicosinolatos, os glicosídeos cianogênicos também não são tóxicos *per se*. Sua toxicidade é devida ao ácido cianídrico. As enzimas responsáveis pela hidrólise e posterior síntese de HCN (β -glicosidase e hidroxinitrilaliase, respectivamente) estão presentes em todas as plantas cianogênicas. Os cianógenos ocorrem nas células epiteliais, enquanto as enzimas estão presentes somente nas células do mesófilo. Embora enzima e substrato estejam fisicamente separados na planta, injúrias à planta podem provocar o contato do glicosídeo com as enzimas e posterior liberação de HCN. Uma vez liberado, o HCN é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal. O íon cianeto (CN^-) é um forte ligante ao ferro da hemoglobina e reage com a forma férrica (oxidada) da citocromo-oxidase na mitocôndria, formando um complexo estável que bloqueia a cadeia respiratória. Como resultado, a hemoglobina não pode liberar oxigênio para a cadeia transportadora de elétrons e ocorre a morte devido à hipóxia celular (anóxia citotóxica). A mortalidade ocorre apenas quando as plantas

cianogênicas são oferecidas na forma fresca, não processada. O desempenho de aves submetidas a dietas contendo mandioca não é afetado desde que o conteúdo de HCN na ração final seja menor que 100 ppm (LEESON e SUMMERS, 2001).

2.2.9 – Alcalóides

Os alcalóides são metabólitos secundários de plantas, amplamente distribuídos na natureza. São incolores, geralmente básicos, insolúveis em água, solúveis em solventes orgânicos e que podem formar sais com ácidos. Todos os alcalóides contêm nitrogênio, geralmente formando parte de uma estrutura heterocíclica.

Existem milhares de alcalóides conhecidos, mas a maioria não é considerada tóxica. Um dos alcalóides tóxicos mais relevantes em nutrição de aves são os alcalóides pirrolizidínicos (PA). Os PA formam um grande grupo de hepatotoxinas de ocorrência natural, que contêm um núcleo pirrolizidínico. Os mais altos níveis de PA são encontrados em sementes de *Crotalaria spectabilis* e *C. retusa*, com 3,85 e 2,69%, respectivamente. Existem três tipos de alcalóides pirrolizidínicos em plantas: os monoésteres (heliotrina), diésteres (lasiocarpina) e diésteres cíclicos (monocrotalina, jacobina e senecionina). Os mais tóxicos são os diésteres cíclicos, enquanto os monésteres são os menos tóxicos. Os alcalóides pirrolizidínicos também não são tóxicos *per se*, sendo bioativados em metabólitos altamente reativos pelas enzimas citocromo P450. A bioativação enzimática ocorre principalmente no fígado, mas pode ocorrer também em outros órgãos ou sistemas que contenham enzimas citocromo P450, tais como pulmão, rins, coração e trato gastrointestinal. Os metabólitos tóxicos formados enzimaticamente são conhecidos como pirroles ou derivados dihidropirrolizidínicos (DHP). Os pirroles são moléculas muito reativas e agentes alcalinizantes fortes que reagem com componentes macromoleculares dentro das células. Pirroles de um alcalóide pirrolizidínico diéster podem atuar como agentes alcalinizantes bifuncionais capazes de estabelecer ligações cruzadas com o DNA e, conseqüentemente, inibir a replicação celular. Esse mecanismo de ação poderia explicar o efeito antimitótico dos alcalóides pirrolizidínicos (LEESON e SUMMERS, 2001).

Allen *et al.* (1960) caracterizaram bem a toxicidade causada pela ingestão de alcalóides pirrolizidínicos de *Crotalaria spectabilis* em galinhas. As dietas contendo sementes de *Crotalaria* causaram depressão, anorexia, inapetência e diminuição da taxa de crescimento.

As aves mortas submetidas à necropsia apresentavam hemorragias hepáticas, pulmonares e pericárdicas.

2.3 – Digestão e Disponibilidade de Nutrientes em Frango de Corte

As rações são elaboradas a partir da combinação de diversos alimentos, constituídos de moléculas orgânicas e inorgânicas complexas, que devem ser reduzidas a formas mais simples para serem absorvidas. Os carboidratos, as proteínas e os lipídios fornecem os substratos para a digestão, muito embora complexos minerais e algumas vitaminas também possam requerer clivagem antes de serem absorvidos no jejuno.

Nas aves, a maioria das secreções enzimáticas ocorre no proventrículo (estômago químico) ou no duodeno, o segmento proximal do intestino delgado e, então, a absorção dos nutrientes digeridos ocorre primariamente no jejuno. Em aves selvagens, o estômago muscular ou moela é responsável pela redução no tamanho das partículas alimentares, enquanto nas aves domésticas este órgão tende a ser rudimentar e tem pouca ação sobre o alimento. Em essência, a moagem da ração durante a manufatura substitui a atividade principal da moela. Do mesmo modo, o papo tem pouca função, a menos que haja uma severa limitação de disponibilidade de alimento (LEESON e SUMMERS, 2001). Um quadro esquemático do sistema digestório de aves é mostrado na Figura 4.

Por todo o trato gastrointestinal, as glândulas secretoras atendem a duas funções primárias: enzimas digestivas são secretadas em quase todos os segmentos, da boca até a extremidade distal do íleo; glândulas mucosas, presentes desde a boca até a cloaca, fornecem muco para a lubrificação e proteção de todas as partes do trato digestório. Estas secreções são produzidas pelas glândulas salivares, estômago, pâncreas, fígado e intestino, fornecendo diferentes tipos de produtos responsáveis pela digestão dos nutrientes (MACARI *et al.*, 1994). Um quadro geral da atividade enzimática que ocorre em todo trato gastrointestinal está sumarizado na Tabela 1. O amido constitui a maior reserva de carboidratos nos grãos e, usualmente, existe na forma de grânulos que resistem à digestão. Entretanto, esses grânulos são facilmente rompidos por ação física e umedecimento, como ocorre no papo, tornando a digestão mais fácil. As aves produzem cerca de 15 a 20 mL de saliva por dia, a qual contém pequenas quantidades da enzima amilase, que inicia a digestão do amido.

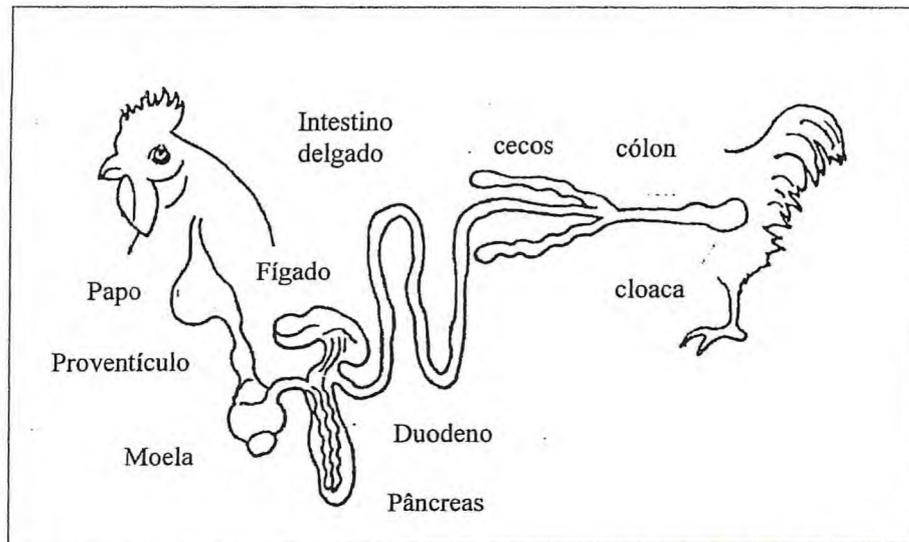


Figura 4 – Desenho esquemático do sistema digestório de aves.

A digestão dos carboidratos ocorre principalmente no jejuno. A α -amilase é secretada pelo pâncreas dentro do duodeno e, durante esse processo, as ligações α (1 \rightarrow 4) são hidrolisadas, liberando maltose e alguns oligossacarídeos como a isomaltose. A maltose é subsequentemente clivada pela maltase (α -glicosidase) que, juntamente com a isomaltase produzida pela mucosa intestinal, libera glucose, que é prontamente absorvida. A membrana com borda em escova também produz outras dissacaridases que clivam açúcares mais complexos em seus compostos monossacarídicos prontos para a absorção (LEESON e SUMMERS, 2001).

No que se refere à digestão de proteínas, sabe-se que não existe digestão significativa de proteínas na boca ou no papo. Conseqüentemente, o proventrículo é o primeiro sítio de degradação protéica. Imediatamente após a ingestão do alimento, ocorre estimulação reflexa do nervo vago na mucosa gástrica, que faz iniciar a secreção de suco gástrico dentro do proventrículo. As secreções do proventrículo incluem o ácido clorídrico e o precursor enzimático pepsinogênio, que é convertido na enzima ativa pepsina à medida que o pH diminui. A pepsina hidrolisa as ligações peptídicas, sendo sua ação mais pronunciada entre leucina e valina, tirosina e leucina, ou entre os aminoácidos aromáticos tais como fenilalanina e fenilalanina ou fenilalanina e tirosina. O conteúdo do pró-ventrículo, incluindo alimentos ingeridos, ácidos e enzimas, se desloca, então, para a moela, onde o processo de degradação continua com a ajuda da ação mecânica exercida por esta última. A proteólise que ocorre no proventrículo e moela produz moléculas peptídicas menores, que são prontamente suscetíveis à hidrólise pelas enzimas proteolíticas originárias do pâncreas (tripsina, quimotripsina e elastase) e liberadas no intestino. A ação dessas enzimas hidrolisa numerosas ligações peptídicas terminais, cujos produtos são atacados pelas aminopeptidases, carboxipeptidases e outras peptidases específicas no lúmen ou mucosa do intestino delgado. Cada enzima deve fazer sua parte na hidrólise seqüencial da proteína. Em muitos casos, o hidrolisado resultante da ação de uma enzima fornece o substrato para a próxima. Conseqüentemente, a inibição de qualquer enzima proteolítica, particularmente as enzimas iniciais, pepsina ou tripsina, pode resultar em uma marcada diminuição na digestão das proteínas da dieta (LEESON e SUMMERS, 2001).

Tabela 1 – Atividades de secreções e enzimas digestivas em aves

Localização	pH	Enzima (ou secreção)	Substrato	Produto
Boca	7,0-7,5	Saliva	Lubrifica e amolece o alimento	
		Amilase (ptialina)	Amido Dextrina	Dextrina Glucose
Papo	4,5	Muco	Lubrifica e amolece o alimento	
Proventrículo e Moela	2,5	HCl	Diminui o pH da ingesta, inicia a clivagem das proteínas	
		Pepsina	Proteína	Polipeptídios
		Lipase	Triglicerídios	Ácidos graxos e monoglicerídios
Duodeno	6,0-6,8	Amilase	Amido Dextrina	Maltose Glucose
		Tripsina, quimotripsina e elastases	Proteínas Peptídios	Peptídios e Aminoácidos
		Carboxipeptidases Colagenase	Peptídios Colágeno	Aminoácidos e Peptídios
		Bile	Emulsificação de gorduras	
		Lipase	Gordura	Ácidos graxos, Monoglicerídios e Diglicerídios
		Colesterol-esterase	Ésteres de colesterol	Ácidos graxos e Colesterol
		Jejuno	5,8-6,8	Maltase e isomaltase
Sacarase	Sacarose			Glucose/Frutose
Lactase	Lactose			Glucose/Galactose
Peptidases	Peptídios			Dipeptídios e Aminoácidos
Polinucleotidase	Ácidos nucleicos			Nucleotídios
Cecos	5,7-5,9	Atividade microbiana	Celulose, polissacarídios, amido e açúcar	Ácidos graxos voláteis, Vitamina K e B

Fonte: Leeson e Summers (2001).

As proteínas de origem vegetal geralmente apresentam digestibilidade inferior a 80%, valor mais baixo do que aqueles verificados para as proteínas de origem animal que, muitas vezes, alcançam valores acima de 95% (LANCINI e WAITZBERG, 1995). A estrutura geralmente compacta e resistente à proteólise das proteínas vegetais, bem como a presença de compostos fenólicos, fibras alimentares, pigmentos, produtos de oxidação de ácidos graxos insaturados, açúcares redutores, inibidores de enzimas digestivas e lectinas contribuem para a redução da sua digestibilidade (DURANTI e GIUS, 1997). A resistência das proteínas vegetais à digestão é uma das principais causas do seu baixo valor nutritivo no estado *in natura*, sendo necessário, na maioria das vezes, algum tipo de processamento.

A digestão e absorção das gorduras em aves ocorrem, principalmente, no intestino delgado. Existe uma secreção significativa de lipase em pintos muito jovens, sendo a atividade aumentada rapidamente durante as três primeiras semanas. Noy e Sklan (1994) observaram que a atividade da lipase em pintos aumentou quase 100 vezes entre o 4º e 21º dia após o nascimento. A digestão das gorduras é alcançada através da emulsificação com sais biliares secretados pela vesícula biliar no lúmen do intestino delgado. As lipases atuam em uma interface óleo-água e isso explica por que a emulsificação é requerida para a digestão de gorduras. A lipase pancreática quebra as gorduras emulsificadas em moléculas de ácidos graxos, monoglicerídeos e glicerol, enquanto que a colesterol-esterase, também secretada pelo pâncreas, hidrolisa ésteres de ácido graxo-colesterol em colesterol e ácidos graxos livres. Ácidos graxos de cadeia curta e glicerol livre são, então, absorvidos diretamente pela mucosa do intestino delgado e transportados para a circulação portal. Outras moléculas de ácidos graxos livres, monoglicerídeos e colesterol são emulsificadas por sais biliares, formando micelas, que são essenciais para a absorção normal de gorduras (LEESON e SUMMERS, 2001).

3. OBJETIVOS

3.1 – Objetivo Geral

Avaliar o potencial bioquímico e nutricional de sementes de *Moringa oleifera* em substituição ao milho e à soja na ração de frangos de corte.

3.2 – Objetivos Específicos

- Determinar a composição centesimal, mineral e aminoacídica de sementes de *M. oleifera*;
- Detectar e dosar substâncias com propriedades tóxicas e/ou antinutricionais presentes nas sementes de *M. oleifera*;
- Avaliar o efeito do processamento térmico sobre a composição centesimal e aminoacídica e, também, sobre a inativação de fatores tóxicos e/ou antinutricionais de sementes de *M. oleifera*;
- Investigar a qualidade nutricional da farinha de sementes de *M. oleifera*, cruas e processadas, quando incorporada na dieta de frango de corte;
- Identificar o valor nutricional da farinha de sementes de *M. oleifera* para frangos de corte, após extração das proteínas com propriedades coagulantes.

4. MATERIAL

4.1 – Sementes

Sementes de *Moringa oleifera* foram coletadas em Fortaleza e em cidades do interior do Estado do Ceará. Parte destas sementes foi submetida a um tratamento térmico, outra parte foi submetida à extração de proteínas coagulantes e o restante das sementes permaneceu no estado natural.

4.2 – Animais de Experimentação

Camundongos Swiss (*Mus musculus*), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará, foram utilizados nos ensaios de avaliação da atividade tóxica.

Pintos (*Gallus gallus domesticus*), linhagem “Ross”, machos, com um dia de idade, peso médio inicial de 46,6 g, vacinados contra Marek e Newcastle, foram utilizados nos ensaios biológicos objetivando a determinação dos parâmetros nutricionais. Os animais foram adquiridos na Granja Cialne (Fortaleza-Ceará-Brasil).

Galos da linhagem Hisex, adultos, provenientes do Setor de Avicultura da Universidade Federal do Ceará, foram utilizados nos ensaios para determinação da energia metabolizável aparente corrigida.

4.3 – Hemácias

As hemácias usadas nos ensaios de aglutinação foram obtidas das seguintes fontes:

- Humana - Doadores adultos e sadios do Hemocentro do Ceará (HEMOCE).
- Coelho - Animais adultos albinos mantidos no biotério do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC.
- Galinha - Animais pertencentes ao setor de avicultura da UFC.

4.4 – Reagentes Químicos

Acrilamida, *N,N'*-metileno bisacrilamida, albumina sérica bovina (BSA), *N* α -benzoil-L-arginina-p-nitroanilida (BAPNA), “Coomassie Brilliant Blue” G e R, inibidor de tripsina do tipo Kunitz (SBTI), tripsina, urease, L-triptofano e kit para ensaio de fibra alimentar (TDF-100 A) foram obtidos da Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA.

β -mercaptoetanol e dodecil sulfato de sódio (SDS) foram obtidos da Merk, Darmstadt, Alemanha.

Os marcadores de massa molecular foram obtidos da Amersham Biosciences, Uppsala, Suécia.

Fenol, hipoclorito de sódio, hidróxido de sódio e nitroprussiato de sódio foram obtidos da Reagen, Quimibrás Indústrias Químicas S.A., Rio de Janeiro, Brasil.

Os demais reagentes, todos de grau analítico, foram obtidos no comércio local.

Os ingredientes para elaboração das dietas (milho, soja, DL-metionina, calcário, cloreto de sódio e complexo vitamínico e mineral) foram cedidos pelo Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da UFC.

5. MÉTODOS

5.1 – Determinação das Características Físicas das Sementes de *Moringa oleifera*

Os dados referentes às características físicas das sementes de *M. oleifera* foram obtidos através da pesagem e medição com paquímetro (diâmetro e comprimento) de 40 sementes originárias de várias árvores de moringa. Além da pesagem de sementes integrais, foram realizadas as pesagens da semente sem a casca e da casca.

5.2 – Tratamento Térmico

As condições do processamento térmico empregadas neste trabalho (autoclavagem a 121 °C, pressão de 0,5 Kgf/cm² por 20 minutos) foram baseadas em alguns trabalhos (PEZZATO *et al.*, 1995; REHMAN e SHAH, 2005; SIDDHURAJU e BECKER, 2005) que utilizaram esse tipo de processamento para averiguar a temperatura e o tempo ideal para inativação de fatores tóxicos e/ou antinutricionais e melhoria da qualidade nutricional de algumas leguminosas.

5.3 – Obtenção das Farinhas

As farinhas de Moringa Integral Crua (MIC), Moringa Integral Autoclavada (MIA), Moringa Sem Casca Crua (MSCC), Moringa Sem Casca Autoclavada (MSCA), Cascas Cruas (CC), Cascas Autoclavadas (CA) foram obtidas através de trituração em liquidificador e, em seguida, em moinho para moagem de café. Parte das farinhas foi separada para análise da composição proximal e ensaios biológicos e o restante foi delipidado com éter de petróleo, até completa remoção dos lipídios para determinação dos fatores tóxicos e/ou antinutricionais. Todas as amostras foram acondicionadas em frascos hermeticamente fechados e conservadas a 4 °C.

5.4 – Extração das Proteínas Coagulantes

Para extração das proteínas coagulantes, foi seguida a metodologia descrita por Ghebremichael *et al.* (2005) com algumas modificações. As sementes maduras foram descascadas e moídas pouco antes da extração. A farinha resultante foi misturada em água destilada na relação de 1:20, agitada durante 30 minutos a 22 °C e filtrada em pano de trama fina. O sobrenadante foi descartado e o resíduo submetido à secagem em estufa de ventilação forçada a 45 °C, por 72 horas. Este resíduo, destituído das proteínas coagulantes, representa a *M. oleifera* extraída (ME).

5.5 – Composição Química Elementar

5.5.1 – Determinação de Umidade

Pesa-filtros secos e tarados, contendo 2 g das amostras, foram colocados em estufa com circulação forçada de ar por 24 horas a 105 °C. Em seguida, os recipientes contendo as amostras foram transferidos para um dessecador até atingirem a temperatura ambiente (24 °C) sendo, então, pesados. Após pesagem, os recipientes contendo as amostras retornaram à estufa e o processo foi repetido para verificação da constância do peso. O teor de umidade foi determinado através da diferença entre os pesos inicial e final das amostras, sendo este valor expresso em percentagem do peso original (SILVA e QUEIROZ, 2002).

5.5.2 – Determinação de Cinzas

Cadinhos de porcelana previamente aquecidos a 105 °C por 1 hora, resfriados e tarados, contendo 2 g de farinha das amostras estudadas, foram colocados em mufla a 600 °C, por 4 horas, objetivando a incineração da matéria orgânica. Após esse tempo, os cadinhos

foram transferidos para um dessecador até atingirem a temperatura ambiente (24 °C) sendo, posteriormente, pesados. O conteúdo de cinzas foi calculado pelo quociente entre o peso inicial e o peso final da amostra (após incineração), sendo expresso em percentagem do peso seco da amostra (SILVA e QUEIROZ, 2002).

5.5.3 – Determinação da Proteína Total

O teor de proteína total das farinhas estudadas foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1990). Tubos de digestão, contendo 0,5 g das farinhas, 0,5 g da mistura catalisadora (K_2SO_4 e $CuSO_4$, na proporção de 10:1, respectivamente) e 5 mL de H_2SO_4 concentrado foram colocados no bloco digestor. Após a completa digestão da amostra, os tubos foram levados ao aparelho de destilação, onde foi adicionado cerca de 20 mL de solução de NaOH 50% em cada um deles, objetivando a liberação da amônia e posterior destilação por arraste pelo vapor da caldeira para uma solução receptora (ácido bórico a 2%). Ao término da destilação, a solução foi titulada com uma solução-padrão HCl 0,1 N com fator conhecido. O teor de nitrogênio foi obtido através do volume gasto na titulação da solução receptora, multiplicado pela constante de padronização da solução de ácido clorídrico 0,1 N, dividido pelo peso da amostra. A proteína total foi determinada através da multiplicação do teor de nitrogênio pelo fator 6,25.

5.5.4 – Determinação dos Lipídios Totais

Os lipídios totais foram determinados conforme a técnica descrita por Triebold (1946), usando-se n-hexano como solvente. Cartuchos de papel de filtro, contendo 2 g das amostras, foram colocados em contato com n-hexano por 8 horas em extratores de Soxhlet, acoplados a balões previamente desengordurados, secos e tarados. Ao final da extração, o solvente foi parcialmente recuperado e os balões com o conteúdo lipídico das sementes levados para uma estufa regulada a 105 °C, durante 40 minutos. Posteriormente, os balões foram transferidos para dessecadores e, após resfriamento, pesados. Este procedimento foi repetido até obtenção de pesos constantes. Os lipídios totais foram determinados pela diferença dos pesos inicial e

final dos balões, sendo o resultado expresso como percentagem do peso seco da farinha das sementes.

5.5.5 – Determinação de Fibra Bruta e Carboidratos

O teor de fibra bruta foi determinado de acordo com a AOAC (1970). Amostras (1 g) foram colocadas em recipientes de refluxação do aparelho digestor (Sistema de Fibra Bruta/Modelo TR 146/8-50 e TE 146/5-50) juntamente com 100 mL da solução de H₂SO₄ a 1,25% e submetidas à fervura por 30 minutos, contados a partir do ponto de ebulição. Concluída a digestão ácida, procedeu-se a filtração com a haste de tela (200 – 400 mesh), lavando a tela com água destilada fervente sobre os resíduos. O material retido na tela foi removido com solução de NaOH a 1,25% previamente aquecida (100 mL). O material foi novamente colocado no aparelho digestor e submetido à fervura por mais 30 minutos. Concluída a digestão alcalina, o resíduo da hidrólise (água, fibra e minerais) foi filtrado em cadinho poroso, adaptado a um recipiente acoplado a uma bomba de vácuo. O resíduo sólido final foi lavado com álcool absoluto (20 mL) e, posteriormente, com éter etílico (10 mL), a fim de facilitar a secagem. Os cadinhos foram, então, colocados em estufa com circulação forçada de ar, por 12 horas, a 105 °C. Em seguida, os recipientes foram transferidos para o dessecador e pesados. Essa pesagem forneceu o peso do material que constava de fibras e minerais. O passo seguinte foi a calcinação em mufla a 500 °C, durante 4 horas. Nesta etapa, toda fibra foi oxidada, restando apenas minerais. O valor referente à fibra bruta foi obtido pela diferença entre o peso do resíduo das digestões antes da calcinação e o resíduo mineral final, sendo o resultado expresso como percentagem do peso seco da farinha das sementes.

Os valores correspondentes à concentração de carboidratos não estruturais foram estimados por diferença.

5.5.6 – Determinação de Fibra em Detergente Ácido

As determinações de Fibra em Detergente Ácido (FDA) foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Souza *et al.* (1999). As amostras (0,35 g) foram pesadas em

tubos de digestão 25/250 mm (peso A). Em seguida, 35 mL de solução detergente ácida e 1 mL de decaidronaftaleno (antiespumante) foram adicionados às amostras. Os tubos foram cobertos com esferas de vidro a fim de ocorrer a condensação de vapores e evitar a perda de solução. Posteriormente, os tubos foram levados ao bloco digestor e deixados em ebulição (aproximadamente 125 °C) por 1 hora. A seguir, a filtração foi realizada em cadinho filtrante, usando vácuo, previamente mantido por 1 hora a 105 °C e pesado (peso B). O resíduo foi lavado por, aproximadamente, três vezes com água fervente ou até não haver mais presença de espuma. Logo depois, foram feitas duas lavagens com aproximadamente 40 mL de acetona. Os cadinhos contendo os resíduos foram levados para estufa de secagem calibrada a 105 °C e, após aproximadamente 8 horas ou peso constante, foram retirados e transferidos para dessecador. Quando a temperatura ambiente foi atingida, procedeu-se a pesagem em balança analítica (peso C).

A percentagem dos constituintes de FDA, com base na matéria seca, foi obtida por meio da diferença entre as pesagens, ou seja: $FDA (\%) = [(C-B) \times 100]/A$, sendo “A” o peso da amostra em gramas, “B” o peso do cadinho vazio e “C” o peso do cadinho mais o resíduo.

5.5.7 – Determinação de Fibra em Detergente Neutro

As determinações de Fibra em Detergente Neutro (FDN) foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Souza *et al.* (1999). As amostras (0,35 g) foram pesadas em tubo de digestão 25/250 mm (peso A). Após a adição de 35 mL de solução detergente neutra e 1 mL de decaidronaftaleno (antiespumante), o material foi levado ao bloco digestor e tampado com esferas de vidro (com diâmetro aproximado de 25 mm), para que os vapores pudessem se condensar, evitando a perda de solução. O material foi deixado em ebulição (aproximadamente 125 °C) por 1 hora.

A seguir, a filtração foi realizada, com auxílio de vácuo, em cadinho filtrante previamente mantido por 1 hora a 105 °C e pesado (peso B). O resíduo foi lavado por aproximadamente três vezes com água fervente ou até não haver mais presença de espuma. Em seguida, foram feitas duas lavagens com aproximadamente 40 mL de acetona. Os cadinhos contendo os resíduos foram levados para estufa de secagem calibrada a 105 °C e, após aproximadamente 8 horas ou até peso constante, foram retirados e transferidos para dessecador. Quando a temperatura ambiente foi atingida, procedeu-se a pesagem em balança

analítica (peso C). A percentagem dos constituintes da parede celular ou Fibra em Detergente Neutro (FDN), com base na matéria seca, foi obtida por meio da diferença entre as pesagens, ou seja: $FDN (\%) = [(C-B) \times 100]/A$, sendo “A” o peso da amostra em gramas, “B” o peso do cadinho vazio e “C” o peso do cadinho mais o resíduo.

5.5.8 – Determinação de Fibra Alimentar Total (FAT)

A determinação do Teor de Fibra Alimentar Total das amostras foi realizada de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (1997), através da utilização do kit para ensaio de fibra dietética TDF-100 A. As amostras delipidadas foram secadas em estufa a 70 °C, por 12 horas. Em seguida, foram colocados em recipiente adequado 1 g de cada amostra, 50 mL de tampão fosfato pH 6,0 e 100 µL de α-amilase, objetivando dar início à digestão com enzimas. Todos os recipientes foram cobertos com papel alumínio e colocados em banho-maria em ebulição, sendo agitados de 5 em 5 minutos. Quando a temperatura atingiu 95 °C, foram marcados 15 minutos e a agitação continuada. Após esfriamento, foram adicionados 10 mL de NaOH 0,275 N e o pH ajustado entre 7,3 e 7,7. Imediatamente antes do uso, foi preparada uma solução contendo 50 mg protease em 1 mL de tampão fosfato, sendo utilizados 100 µL dessa solução em cada amostra. Todos os recipientes foram cobertos com papel alumínio e colocados em banho-maria a 60 °C, com agitação por 30 minutos, contados após a temperatura interna atingir 60 °C. Após o esfriamento, foram adicionados 10 mL de HCl 0,325 M e o pH ajustado entre 4,0 e 4,6, sendo, então, acrescentados 100 µL de amiloglicosidase. Novamente, banho-maria a 60 °C foi utilizado por 30 minutos. Em seguida, as soluções foram transferidas para recipientes de 500 mL, nos quais foi acrescentado etanol a 95%, correspondente a 4 vezes o volume já existente nos recipientes menores. As soluções ficaram em repouso por, aproximadamente, 12 h à temperatura ambiente, para a completa sedimentação. Para a filtração, foi necessário umedecer e redistribuir a camada de celite em cada cadinho, usando álcool etílico a 78% (aproximadamente 20 mL), com aplicação de uma sucção branda (bomba de vácuo) para sentar a celite. Este peso foi referido como R1 = peso do cadinho + celite. O precipitado e a suspensão de cada recipiente foram, então, transferidos para cadinhos sob sucção branda, tendo como objetivo a filtração. O material de cada cadinho foi lavado inicialmente com álcool etílico a 78% (20 mL), depois duas vezes com álcool etílico a 95% (10 mL) e, por último, duas vezes com acetona (10 mL). Após este

procedimento, os cadinhos foram colocados em estufa a 70 °C para secagem, por, aproximadamente, 12 horas. Os cadinhos foram transferidos para um dessecador e, posteriormente, pesados, sendo registrado os valores até a 4ª casa decimal. Este peso foi referido como R2 = peso do cadinho + celite + resíduo. Das quatro repetições de cada amostra, duas foram utilizadas para quantificação de proteínas e as outras duas para matéria mineral. A determinação de proteínas seguiu o método de Kjeldahl de acordo com a AOAC (1990), sendo a proteína total determinada através da multiplicação do teor de nitrogênio pelo fator 6,25. Para determinação das cinzas, o material foi colocado em mufla a 525 °C, por 5 horas, sendo, em seguida, resfriado em dessecador, pesado e registrado os valores até a quarta casa decimal. Este valor foi referido como R3 = peso do cadinho + celite + cinzas. Para a realização dos cálculos, inicialmente foi calculado o valor B com os resultados obtidos dos brancos, sendo $B = R_{\text{branco}} - P_{\text{branco}} - A_{\text{branco}}$.

Para o cálculo da FAT, foi utilizada a seguinte fórmula: $\%FAT = (R_{\text{amostra}} - P_{\text{amostra}} - A_{\text{amostra}} - B) \times 100/PA$. Onde R = Peso médio do resíduo (mg); P = Peso médio das proteínas (mg); A = Peso médio das cinzas (mg) e PA = Peso médio inicial das amostras (mg).

5.6 – Determinação de Minerais

Os elementos minerais sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn) foram determinados por digestão nítrico-perclórica (MALAVOLTA *et al.*, 1997). O extrato foi preparado com 0,5 g de cada amostra de farinha de sementes, previamente secada em estufa. Em seguida, foram adicionados 6,0 mL da mistura de ácido nítrico (HNO₃) e ácido perclórico (HClO₄), na proporção de 2:1 (v/v), deixando-se o material em repouso em tubos de ensaio por aproximadamente 12 horas. Decorrido esse repouso, os tubos foram colocados no bloco digestor e aquecidos gradativamente até 120 °C, permanecendo nessa temperatura até o total desprendimento de vapores castanhos. Observados esses vapores, a temperatura foi aumentada para 250 °C e mantida constante até a obtenção de vapores brancos e o extrato ficar incolor. Após atingir a temperatura ambiente (25 °C), o homogenato foi transferido para balão volumétrico, sendo o volume completado para 50 mL com água destilada. Os extratos foram usados para a determinação dos elementos minerais.

Os teores de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. Nas determinações de Ca e Mg, foi adicionado estrôncio ao extrato nítrico perclórico, pois segundo Miyazawa *et al.* (1992) é necessário para minimizar as possíveis interferências de fosfato, ferro e alumínio. Os teores de Na e K foram determinados por fotometria de chama e o de P por colorimetria, por meio de leituras de absorbâncias em 420 nm (MALAVOLTA *et al.*, 1997).

5.7 – Caracterização Química e Físico-Química das Proteínas das Sementes

5.7.1 – Extração das Proteínas

O processo de extração das proteínas solúveis (Figura 5) foi efetuado através da suspensão das farinhas delipidadas em tampão Tris-HCl 0,05 M, pH 8,0, na proporção de 1:10, (m/v) e deixada sob agitação contínua por 3 horas, a 4 °C. As suspensões foram filtradas em pano de trama fina e os resíduos re-extraídos na proporção 1:5 (m/v), por mais 2 horas e, então, filtrados. Os filtrados foram centrifugados a 15.000 x g, por 30 minutos, 4 °C e os sobrenadantes obtidos filtrados em papel de filtro, sendo em seguida, dialisados contra o tampão de extração, por 24 horas, 4 °C. Os extratos brutos e dialisados foram utilizados para determinação do teor de proteínas solúveis e realização dos ensaios de atividade tóxica.

5.7.2 – Dosagem de Proteínas

A dosagem de proteínas foi feita pelo método de Bradford (1976). A 100 µl de amostra, em diferentes concentrações, foram adicionados 2,5 mL do reagente de Bradford. A mistura foi agitada e após 10 minutos foram feitas leituras das absorbâncias a 595 nm em espectrofotômetro (tipo Novapesc II, Pharmacia). A concentração de proteínas foi estimada usando-se o fator de calibração obtido através de uma curva padrão constituída com concentrações conhecidas de albumina sérica bovina (BSA).

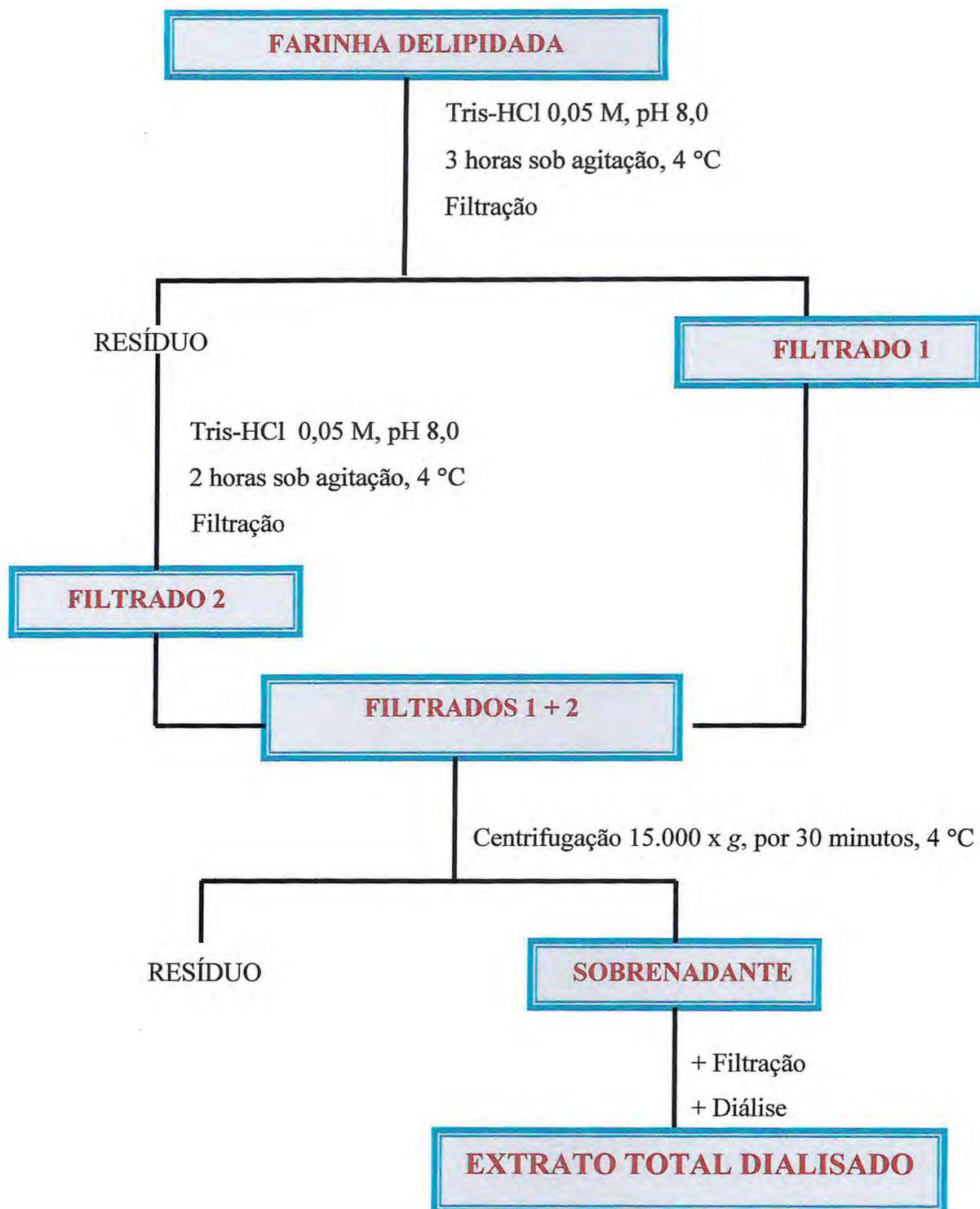


Figura 5 – Esquema de preparação do extrato total.

5.7.3 – Composição em Aminoácidos

A composição em aminoácidos das farinhas das sementes de *M. oleifera* foi determinada segundo a metodologia de Bidlingmeyer *et al.* (1984). Inicialmente, a farinha (1 mg) foi hidrolisada com 1 mL de HCl 6 N, contendo fenol 1% (p/v). A hidrólise foi realizada em ampolas de vidro, seladas sob atmosfera de nitrogênio, a 110 °C, em estufa, por 24 horas. Após hidrólise, as ampolas foram abertas e o HCl e fenol removidos, sob pressão reduzida. Depois da adição de 10 µL de uma solução contendo metanol, água e trietanolamina (2:2:1), os frascos foram agitados vigorosamente e, novamente, os resíduos foram secados sob pressão reduzida. Em seguida, foi feita a derivatização, que consistiu da adição de 20 µL de uma solução de metanol, água, trietanolamina e fenilisotiocianato (7:1:1:1; v/v/v/v), agitação vigorosa, repouso à temperatura ambiente durante 20 minutos e secagem sob pressão reduzida. Os parâmetros de análise foram determinados em coluna de PICO-TAG para aminoácidos (HPLC), à temperatura de 38 °C, em comprimento de onda de 240 nm. Um gradiente foi obedecido no decorrer do processo: 100% a 0% de tampão acetato de sódio, pH entre 5,0 e 7,0, e 0% a 100% de acetonitrila.

O triptofano foi determinado segundo a metodologia descrita por Pintér-Szakács e Molnár-Pérl (1990). Amostras das farinhas (12,5 mg) de sementes de *M. oleifera* foram postas em contato com 2,5 mL do reagente com ninidrina (Rn), composto por ninidrina 1% em HCl 37% e ácido fórmico 96%, na proporção de 2/3, por 2 horas, 35 °C. Em paralelo, foram feitas as provas em branco para cada amostra usando-se o reagente citado, mas sem ninidrina (Ro). Após esse período, foram adicionados 2,5 mL de etanol absoluto, sendo os materiais resultantes filtrados em lã de vidro. Desta forma, alíquotas de 0,5 mL foram tomadas e a elas adicionados 2 mL do reagente Ro contendo etanol absoluto (E), na proporção de ¼ (Ro/E). O teor de triptofano foi medido colorimetricamente a 380 nm, tendo como referência uma curva feita com L-triptofano, tida como padrão.

5.7.4 – Eletroforese em Gel de Tricina em Condições Desnaturantes

A massa molecular das proteínas da farinha de sementes de *M. oleifera* foi estimada por eletroforese de acordo com a técnica descrita por Schägger e Von Jagow (1987), utilizando-se gel de Tricina-SDS, que permite a separação de proteínas na faixa de 1-100 kDa. A eletroforese foi realizada em gel vertical de 2 mm de espessura, composto por um gel de aplicação, por um gel espaçador e por um gel separação, encerrando 4, 10 e 16,5% de acrilamida, respectivamente. Todos preparados em tampão Tris-HCl 3,0 M, pH 8,45, contendo 0,3% de SDS. A técnica foi adaptada para o uso de placas medindo 8,0 x 10,0 cm.

A farinha (1 mg) foi colocada em contato com 1 mL de tampão Tris-HCl 0,0625 M, pH 6,8, contendo SDS 1% e β -mercaptoetanol 1%, e incubadas a 100 °C, por 10 minutos, sendo, em seguida, centrifugadas a 14.000 x g, por 10 minutos, 10 °C. Aos sobrenadantes resultantes foram adicionados cristais de sacarose e azul de bromofenol. Alíquotas (15 a 20 μ L) das amostras tratadas foram aplicadas no gel que, por sua vez, foi submetido a uma corrente de 20 mA. A coloração das bandas protéicas foi feita com “Coomassie Brilliant Blue” R-250 a 0,05%, preparado em solução de metanol, ácido acético e água (1:3,5:8 v/v/v), por um período de 2 horas. A descoloração do gel foi feita com solução de metanol, ácido acético e água (1:3,5:8 v/v/v). As massas moleculares aparentes das proteínas de *M. oleifera* foram determinadas por comparações de suas mobilidades eletroforéticas em relação àquelas de proteínas usadas como marcadores: mioglobina (17 kDa), mioglobina I+II (14,4 kDa), mioglobina I+III (10,6 kDa), mioglobina I (8,2 kDa), mioglobina II (6,2 kDa) e mioglobina III (2,5 kDa).

5.8 – Detecção e/ou Dosagem de Compostos Com Propriedades Tóxicas e/ou Antinutricionais

5.8.1 – Lectina

A atividade hemaglutinante dos extratos brutos foi determinada segundo o método descrito por Moreira e Perrone (1977), usando hemácias humanas (sistema A, B e O), de

coelhos e de galinhas, tratadas ou não com tripsina. O processo de extração das proteínas solúveis foi efetuado através da suspensão das farinhas delipidadas em tampão borato de sódio 0,05 M, pH 6,0, contendo NaCl 0,15 M, na proporção de 1:10 (m/v), e deixada sob agitação contínua por 3 horas, 4 °C. As suspensões foram filtradas em pano de trama fina. Posteriormente, os filtrados foram centrifugados a 15.000 x g, por 30 minutos, a 4 °C, e os sobrenadantes obtidos filtrados em papel de filtro. Alíquotas do extrato bruto foram diluídas seriadamente (1:2, 1:4, 1:8, 1:16,...) em NaCl 0,15 M contendo Ca^{++} 0,005 M e Mn^{++} 0,005 M. A 0,20 mL de cada diluição, foi adicionado igual volume da suspensão de hemácias. Os tubos foram incubados a 37 °C, por 30 minutos, e deixados em repouso por mais 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, a visualização dos aglutinados foi observada a olho nu. Os resultados foram expressos como unidade de hemaglutinação (UH), que representa o valor recíproco da maior diluição capaz de causar aglutinação visível de eritrócitos.

A técnica para tratar enzimaticamente os eritrócitos foi a mesma usada por Lis e Sharon (1972). Primeiramente, amostras de 1 mL de sangue foram lavadas três vezes com NaCl 0,15 M e, em seguida, adicionada tripsina na relação de 0,1 mg de enzima para 10 mL da suspensão de eritrócitos. As suspensões foram deixadas em repouso por 1 hora, 4 °C, com agitação ocasional, e centrifugada a 3.000 x g, por 5 minutos. Os eritrócitos foram novamente lavados (6 vezes) com NaCl 0,15 M e o “pellet” de células resultante foi suspenso em um volume de NaCl 0,15 M para obtenção de hemácias a 2%.

5.8.2 – Inibidor de Tripsina

Para determinação dos inibidores de tripsina foi empregada a técnica originalmente descrita por Kakade (1974), com algumas modificações (HAMERSTRAND *et al.*, 1981). Amostras (20 mg) de farinha das sementes de *M. oleifera* foram inicialmente suspensas em 1 mL de NaOH 0,01 N e agitadas à temperatura ambiente, por 3 horas. Após repouso de 30 minutos, alíquotas de 0,5 mL dos sobrenadantes foram diluídas em 0,5 mL de NaOH 0,01 N e centrifugadas a 14.000 x g, por 5 minutos. Após centrifugação, alíquotas de 0,1 mL dessas soluções foram retiradas e incubadas a 37 °C num 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. Os resultados foram calculados considerando a curva obtida com SBTI, considerada como padrão, e expressos em miligrama de tripsina inibida por grama de farinha.

Para dissolução de 10 mg do BAPNA foi usado, primeiramente, 0,5 mL de dimetilsulfóxido que, por sua vez, foi agitado vigorosamente em “vortex” até a completa dissolução do substrato. Em seguida, o volume foi completado para 1 mL com água grau milli-Q, sendo esta solução novamente agitada e usada imediatamente.

5.8.3 – Toxina

A atividade tóxica foi realizada seguindo-se a metodologia descrita por Vasconcelos *et al.* (1994). Alíquotas do extrato bruto dialisado e não dialisado foram injetadas por via intraperitoneal em camundongos, com massa variando de 20 a 30 g, sendo observadas a sintomatologia e a mortalidade no período de 24 horas. A atividade tóxica foi expressa em termos de DL_{50} , sendo esta definida como a quantidade de proteína (em mg de proteína para 10 g de massa corporal de camundongo) capaz de causar morte em 50% dos animais testados. Os resultados foram obtidos por regressão linear, a partir de pelo menos quatro doses: a menor dose que foi capaz de matar 100% dos animais testados, a maior dose que não induziu ocorrência de óbitos e pelo menos duas doses intermediárias.

5.8.4 – Urease

A determinação da atividade ureásica foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Kaplan (1969), com algumas modificações (VASCONCELOS *et al.*, 1997). Alíquota de 0,1 mL de uma solução de uréia 500 mM foi misturada com 0,7 mL de EDTA 2%, tamponado com solução de fosfato de sódio 20 mM, pH 6,5. Após adição de 0,2 mL do extrato bruto (preparado com tampão fosfato de sódio 10 mM, pH 7,0, contendo NaCl 150 mM), a mistura foi incubada a 37 °C, por 15 minutos. A seguir, foram adicionados à mistura 1

mL da solução A (62 g de fenol + 0,25 g de nitroprussiato de sódio/L) e 1 mL da solução B (43 mL de hipoclorito de sódio 5,25 % + 20 g de hidróxido de sódio/L), sendo, então, deixada a 37 °C, por 5 minutos. Passado esse tempo, foram adicionados 7,0 mL de água deionizada aos tubos, sendo estes cobertos com parafilme e agitados vigorosamente. As leituras das absorvâncias foram feitas a 625 nm e a atividade enzimática foi avaliada em relação a uma curva obtida com urease comercial (Sigma 41H7008 – 870.000 U/g).

5.8.5 – Taninos

A presença de taninos foi determinada através do método de difusão radial descrito por Hagerman (1987). Inicialmente, foi preparada suspensão de agarose a 1% (m/v) em tampão contendo ácido acético 50 mM, ácido ascórbico 60 mM, pH 5,0, e azida sódica 0,04%. Essa suspensão foi aquecida a 100 °C e, logo em seguida, resfriada a 45 °C em banho-maria. Sendo, então, adicionado 0,1% de BSA (p/v). A solução foi distribuída em alíquotas de 50 mL em placas de Petri (15 cm de diâmetro) e resfriadas para solidificação da agarose. A extração de taninos das amostras foi realizada utilizando-se 1 g de cada amostra. Estas amostras foram colocadas em contato com 2,5 mL de uma solução de HCl 1% em metanol (1:97 v/v), com agitação por 4 horas e, depois, centrifugação a 14.000 x g, por 10 minutos. Em seguida, os extratos (32 µL) foram aplicados em poços no gel, sendo a placa incubada à temperatura ambiente (24 °C), por 96 horas. O teor de taninos foi determinado através de comparação com uma curva constituída por concentrações conhecidas de ácido tânico.

5.8.6 – Saponinas

Para determinação qualitativa de saponinas, seguiu-se a metodologia descrita por Matos (1997) que consistiu da preparação de extratos aquosos (20%). Esses extratos foram agitados vigorosamente por 2 a 3 minutos para observação de formação de espuma. A

presença de espuma persistente nos extratos das amostras analisadas foi considerada como positiva para saponinas.

5.8.7 – Glicosídeos Cianogênicos

Para detecção de glicosídeos cianogênicos, foi utilizado o teste do picrato de acordo com a metodologia descrita por Matos (1997). Sementes frescas (10 g) foram trituradas imediatamente antes do uso e misturadas com 50 mL de água destilada em recipiente com rolha esmerilhada. Uma fita de papel de filtro embebida, inicialmente, em solução de ácido pícrico a 10% (m/v) e, em seguida, em solução de carbonato de sódio a 10% (m/v) foi colocada no recipiente que continha a amostra, de modo que ficasse suspensa presa à rolha, sem contato direto com a amostra. O material ficou em observação por 2 horas e a ocorrência de glicosídeos cianogênicos foi detectada através da mudança de cor da fita, que passou de amarela para vermelho-castanha em decorrência da liberação espontânea de glicosídeos cianogênicos.

5.8.8 – Alcalóides

A extração dos alcalóides foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Matos (1997), com algumas modificações. Amostras das farinhas (2 g) foram extraídas com álcool etílico 70% (v/v). Posteriormente, o material foi centrifugado a 3.500 x g, 10 minutos, 20 °C, e o sobrenadante coletado. Em seguida, o sobrenadante foi evaporado e o resíduo diluído em 5 mL de HCl 0,1 M, sendo esse volume dividido igualmente em três tubos de ensaio. Em cada tubo foram adicionadas 3 gotas dos reagentes de Dragendorff, Hager e Mayer, os quais são específicos para precipitação de alcalóides. A observação de um precipitado floculoso e pesado em, pelo menos, dois tubos foi um indicativo da presença de alcalóides.

5.9 – Avaliação da Qualidade Nutricional de Farinha de Sementes de *Moringa oleifera*

5.9.1 – Determinação da Energia Bruta

A energia bruta corresponde à quantidade de calor liberado de determinada amostra, quando esta é completamente oxidada em um ambiente rico em oxigênio (25 a 30 atmosferas). A determinação da energia bruta foi realizada em bomba calorimétrica adiabática da marca Parr (modelo 1281), de acordo com o manual Parr Instruments (1984). Inicialmente, o equivalente hidrotérmico da bomba foi determinado com a queima de péletes de ácido benzóico. Em seguida, péletes foram preparados com as farinhas das amostras (0,5 a 1,0 g), com o auxílio de prensa manual. Depois, as amostras foram colocadas em cadinhos metálicos para a pesagem e posterior queima. Um cadinho por vez, foi colocado dentro de um cilindro metálico que foi hermeticamente fechado para, em seguida, ser adicionado oxigênio até atingir 25 atmosferas. O cilindro, pronto para a queima, foi levado à bomba e os condutores da corrente elétrica acionados. Após a temperatura da água do recipiente ter atingido o equilíbrio, registrou-se a temperatura inicial, procedendo-se a queima e registro da temperatura final. Para a determinação da energia bruta das amostras, foram necessários os dados referentes ao peso, a variação de temperatura durante a queima e ao equivalente hidrotérmico da bomba.

5.9.2 – Determinação da Energia Metabolizável Aparente e Aparente Corrigida

O ensaio de digestibilidade para determinação dos valores de energia metabolizável foi conduzido no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia, da UFC. Neste ensaio, foi utilizada a metodologia da coleta total de excretas, com galos adultos da linhagem Hisex branca, pesando em média $1.897 \pm 0,106$ g. Os galos foram alojados em gaiolas de arame galvanizado, sob as quais foram instaladas bandejas coletoras de excretas, previamente revestidas com plástico para evitar perdas. Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, sendo quatro tratamentos com quatro repetições de

duas aves. O período experimental foi de oito dias, sendo três dias de adaptação das aves às rações experimentais e às gaiolas e cinco dias para coleta das excretas. Os tratamentos foram constituídos de uma ração referência (Tabela 2) e três rações testes, que continham cada um dos tipos de moringa a serem avaliados. Na obtenção das rações testes, os nutrientes substituíram 30% da ração referência com base na matéria natural, de forma que cada ração teste ficou composta por 70% da ração referência e 30% do alimento avaliado. Durante todo o período experimental, água e ração foram oferecidas à vontade. A coleta de excretas foi realizada duas vezes ao dia e, ao final do período experimental, foram determinadas as quantidades de ração consumida e de excretas produzidas. Após o descongelamento, as excretas de cada tratamento foram homogeneizadas e secadas em estufa de ventilação forçada a 55 °C, por 72 horas. Em seguida, foram moídas e encaminhadas ao laboratório, junto com amostras das rações experimentais, para determinação da matéria seca, energia bruta e nitrogênio, seguindo a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

Os valores da energia metabolizável aparente (EMA) e aparente corrigida para o nitrogênio (EMAN) foram calculados através da utilização de equações propostas por Matterson *et al.* (1965), tendo como base os resultados das análises efetuadas:

$$EMA_{RR} = \frac{EB \text{ ing (Kcal)} - EB \text{ exc (Kcal)}}{MS \text{ ing. (g)}}$$

$$EMA_{RT} = \frac{EB \text{ ing (Kcal)} - EB \text{ exc (Kcal)}}{MS \text{ ing (g)}}$$

$$EMA_{Alim} = EM_{RR} + \frac{EM_{RT} - EM_{RR}}{\% \text{ substituição}}$$

$$\text{EMAn} = (\text{MS ing} \times \text{EB dieta}) - (\text{MS exc} \times \text{EB exc}) \pm (8,22 \times \text{BN})$$

Onde:

EMA = Energia metabolizável aparente;

RR = Ração referência;

Alim = Alimento;

RT = Ração teste;

EB ing = Energia bruta ingerida;

EB exc = Energia bruta excretada;

MS ing = Matéria seca ingerida;

MS exc = Matéria seca excretada;

EB dieta = Energia bruta da dieta;

BN = Balanço nitrogenado;

EMAn = Energia metabolizável aparente corrigida para nitrogênio.

Tabela 2 – Composição da ração referência utilizada no ensaio de metabolismo

Nutriente	(%)
Milho	59,797
Farelo de Soja (45%)	35,130
Fosfato Bicálcico	1,597
Óleo de Soja	1,572
Calcário	1,025
Sal Comum	0,348
Suplemento Vitamínico-Mineral*	0,400
DL-Metionina	0,131
Total	100,00

* Composição descrita na Tabela 31 (apêndice).

5.9.3 – Determinação dos Parâmetros Nutricionais

De posse dos resultados da energia metabolizável, foi possível elaborar dietas isoprotéicas e isocalóricas, de modo a atender às necessidades nutricionais de frangos de corte estabelecidas por Rostagno *et al.* (2000). As dietas encerraram em torno de 21% de proteína bruta e 3000 Kcal/kg de energia metabolizável e foram suplementadas com metionina e lisina (Tabela 3). As rações foram preparadas um dia antes do início do experimento, objetivando evitar oxidações ou perdas no valor nutritivo, em virtude de estocagem.

As dietas experimentais foram compostas por moringa integral crua (MIC) e moringa integral autoclavada (MIA), sendo testados os seguintes níveis de substituição para cada dieta: 4%, 8%, 12% e 16% . As dietas controles foram compostas por uma dieta aprotéica e uma dieta padrão, esta última utilizada pela avicultura comercial. Esse ensaio biológico foi denominado Ensaio Biológico 1, tendo sido dividido em duas fases denominadas Fase 1 ou Fase Inicial (8º ao 21º dia de idade dos animais) e Fase 2 ou Fase de Engorda (22º ao 42º dia de idade dos animais), este último sendo referido também como ensaio de crescimento compensatório.

Ensaio Biológico 1

Grupos experimentais compostos de aves da espécie *Gallus gallus domesticus*, linhagem “Ross”, machos, com peso médio à eclosão de 46,6 g, foram analisados durante os primeiros 21 dias de vida com as dietas testes e controles. Nos sete primeiros dias, os animais experimentais foram mantidos em galpão, agrupados sob uma campânula com aquecimento controlado (Figura 6) e alimentados com dieta pré-inicial utilizada pela avicultura comercial. No oitavo dia, os animais foram distribuídos aleatoriamente em baterias metálicas (Figura 7), sendo colocados dois a dois em espaços de 0,25 x 0,50 m. Os animais foram distribuídos em 10 tratamentos com quatro repetições de seis aves cada, sendo 24 animais por tratamento e um total de 240 animais.

Tabela 3 – Composição (g/Kg) das dietas controles (padrão e aprotéica) e experimentais* (MIC 4%, 8%, 12% e 16% e MIA 4%, 8%, 12% e 16%)

Ingredientes	Padrão**	Aprotéica	MIC 4%	MIC 8%	MIC 12%	MIC 16%	MIA 4%	MIA 8%	MIA 12%	MIA 16%
	(T1)	(T2)	(T3)	(T4)	(T5)	(T6)	(T7)	(T8)	(T9)	(T10)
Amido	-	43,880	-	-	-	-	-	-	-	-
Glicose	-	41,000	-	-	-	-	-	-	-	-
Milho	58,098	-	57,320	56,542	53,955	50,568	56,676	55,255	53,937	52,680
Farelo de Soja	36,194	-	33,874	31,553	29,528	27,577	33,969	31,744	29,394	26,970
Calcário	1,188	1,121	1,193	1,198	1,200	1,199	1,191	1,194	1,197	1,200
L-Lisina HCL	-	-	-	-	0,020	0,075	-	-	0,049	0,122
DL-metionina	0,167	-	0,163	0,160	0,159	0,160	0,174	0,181	0,189	0,207
Fosfato bicálcico	1,524	2,100	1,507	1,490	1,478	1,468	1,509	1,493	1,479	1,465
Óleo de soja	2,056	1,000	1,166	0,275	-	-	1,704	1,351	0,967	0,563
Inerte	-	10,000	-	-	0,874	2,160	-	-	-	-
Supl. vitamínico#	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400	0,400
Sal comum	0,372	0,490	0,377	0,382	0,387	0,393	0,377	0,382	0,387	0,393
Amostra	-	-	4,000	8,000	12,000	16,000	4,000	8,000	12,000	16,000
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

*MIC – Moringa Integral Crua; MIA – Moringa Integral Autoclavada;

** Dieta utilizada na avicultura comercial;

Composição descrita na Tabela 31 (Apêndice).

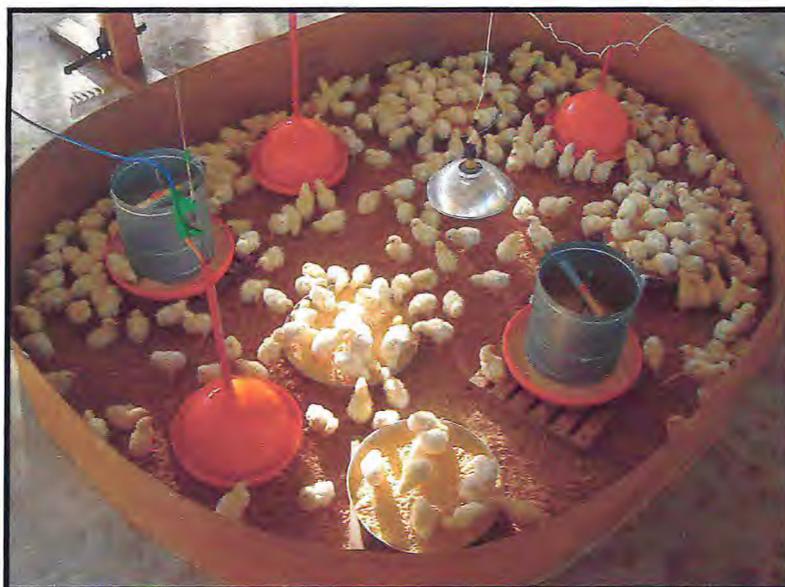


Figura 6 – Pintos (*Gallus gallus domesticus*) da linhagem “Ross”, machos, com peso médio à eclosão de 46,6 g, utilizados como modelo experimental no ensaio de desempenho.



Figura 7 – Distribuição dos animais em gaiolas suspensas.

A partir do oitavo dia foi iniciado, efetivamente, o ensaio biológico que teve duração de 14 dias. Água e dietas foram oferecidas *ad libitum*. A ração oferecida foi pesada no início e no término do ensaio e os animais foram pesados semanalmente. Nos últimos cinco dias do período experimental, as fezes foram coletadas, secadas em estufa de circulação forçada e utilizadas para a determinação do teor de nitrogênio. No vigésimo primeiro dia de vida dos animais, parte deles foi sacrificada por deslocamento cervical (2 animais de cada repetição; 8 por tratamento), sendo os órgãos digestórios internos proventrículo, moela, intestino delgado, intestino grosso, pâncreas e fígado retirados, pesados e analisados macroscopicamente. Os órgãos que apresentaram lesões tiveram fragmentos retirados para análise histopatológica. Em seguida, órgãos e carcaças foram secados em estufa com circulação de ar forçada e pesados novamente para determinação do peso seco. Posteriormente, carcaças e órgãos foram triturados juntos para determinação do nitrogênio corporal.

O restante das aves (4 animais por repetição - 16 por tratamento) permaneceu nas gaiolas e foi alimentado até os 42 dias de vida (Fase 2) com uma dieta comercial apropriada para a fase de engorda (Tabela 4). O objetivo deste procedimento foi analisar o desempenho dos animais após a retirada da farinha de sementes de *M. oleifera* das rações, assim como avaliar a possibilidade de um crescimento compensatório.

Ensaio Biológico 2

Um segundo ensaio biológico (Ensaio Biológico 2) foi realizado com o objetivo de avaliar se as proteínas coagulantes (item 5.4) das sementes de *M. oleifera* constituem-se fatores tóxicos e/ou antinutricionais e avaliar um nível mais baixo de substituição (2%) de moringa integral crua. Esse ensaio seguiu a mesma metodologia do primeiro e para sua realização foi necessária a realização de todas as análises preliminares, tais como determinação de composição proximal, mineral, aminoacídica, energia metabolizável e detecção de fatores tóxicos e/ou antinutricionais. As dietas encerraram em torno de 21% de proteína bruta e 3000 Kcal/kg de energia metabolizável e foram suplementadas com metionina (Tabela 5).

Tabela 4 – Composição da ração utilizada nos ensaios de crescimento compensatório com animais do 22º ao 42º dia

Ingredientes	Quantidade (g/100 g)
Milho grão	65,422
Soja 45%	28,753
Fosfato	1,115
Calcário	1,229
Óleo soja	2,718
Sal	0,279
Suplemento vitamínico*	0,400
DL-metionina	0,084
Total	100,00

*Composição descrita na Tabela 32 (Apêndice).

Tabela 5 – Composição (g/Kg) das dietas controles (padrão e aprotéica) e experimentais* (MIC 2% e ME 4% e 16%)

Ingredientes	Padrão**	MIC 4%	ME 4%	ME 16%
	(T1)	(T2)	(T3)	(T4)
Milho	58,098	56,949	59,298	43,752
Farelo de Soja	36,194	35,176	32,962	26,493
Fosfato bicálcico	1,524	1,517	1,434	1,385
Calcário	1,188	1,189	1,247	1,385
Óleo de soja	2,056	2,228	0,231	0,000
Sal comum	0,372	0,375	0,375	0,392
Supl. Vitamínico***	0,400	0,400	0,400	0,400
DL-metionina	0,167	0,166	0,052	0,000
Inerte	0,000	0,000	0,000	10,369
L-Lisina	0,000	0,000	0,000	0,000
Amostra	0,000	2,000	4,000	16,000
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

* MIC – Moringa Integral Crua; ME – Moringa Extraída.

** Dieta utilizada na avicultura comercial.

*** Composição descrita na Tabela 31 (apêndice).

5.9.3.1 – Técnicas de Avaliação Bioquímica da Qualidade Nutricional das Proteínas de Sementes de *M. oleifera* Cruas e Autoclavadas

O controle do crescimento de animais jovens alimentados com proteínas testes, relacionando o ganho de peso com a quantidade de proteínas ingeridas (Tagle, 1981) foi realizado com pintos em fase de crescimento e teve a duração de 14 dias. A razão de eficiência protéica (PER) foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\text{PER} = \frac{\text{Ganho de peso (g)}}{\text{Proteína ingerida (g)}}$$

Para determinação da Razão de Proteína Líquida (NPR), foi utilizada a metodologia de Bender e Doell (1957). Esta metodologia é semelhante àquela empregada na avaliação da PER, diferindo somente pela inclusão da perda de peso do grupo aprotéico.

$$\text{NPR} = \frac{\text{Ganho de Peso (g) do grupo teste} + \text{Perda de peso (g) do grupo aprotéico}}{\text{Proteína ingerida (g) do grupo teste}}$$

A Utilização Protéica Líquida (NPU) foi determinada de acordo com a metodologia de Miller e Bender (1955), com algumas modificações, sendo realizada em pintos em fase de crescimento por um período de 14 dias.

$$\text{NPU} = \frac{\text{N da carcaça (animais grupo teste)} - \text{N da carcaça (animais grupo aprotéico)}}{\text{N ingerido por animais do grupo teste}}$$

5.9.3.2 – Análise Macroscópica e Microscópica dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte

Os órgãos e glândulas do sistema digestório (pró-ventrículo, moela, intestino delgado, intestino grosso, fígado e pâncreas) foram pesados e os que apresentavam lesões visíveis foram fotografados e coletados, fixados com formol a 10% e, posteriormente, submetidos ao procedimento histológico de rotina. Este procedimento incluiu desidratação em série alcoólica, diafanização em xilol, embebição em parafina fundida a 58 °C e inclusão final em parafina. As secções histológicas desse material foram feitas em micrótomo, cuja espessura média dos cortes foi de 5 µm. Após esta etapa, foi realizada a coloração com hematoxilina-eosina de acordo com a metodologia de Junqueira e Junqueira (1983). O material histológico foi encaminhado para análise histopatológica.

5.10 – Análise Estatística

Os dados foram inicialmente submetidos aos testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk, para confirmação da normalidade da distribuição, e ao teste de Bartlett, para verificação da homogeneidade de variância entre os tratamentos. Nos casos em que os dados brutos não apresentaram homocedasticidade, foram feitas transformações de dados (radial ou logarítmica). Atendidas as exigências para realização da análise de variância (ANOVA), esta foi executada por meio do procedimento GLM do programa SAS (1999) e as médias das variáveis para cada tratamento experimental foram comparadas por meio dos testes de Tukey ou Duncan, com base no coeficiente de variação observado (SAMPAIO, 2002). Em algumas situações, o não atendimento das exigências básicas para realização da ANOVA tornou necessária a utilização do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. As médias foram consideradas significativamente diferentes quando $p < 0,05$. Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão.

6. RESULTADOS

6.1 – Características Físicas das Sementes de *Moringa oleifera*

As sementes de *M. oleifera* apresentaram comprimento médio de $0,95 \pm 0,5$ cm, diâmetro de $0,8 \pm 0,00$ cm e peso médio de $273,20 \pm 2,80$ mg, sendo 26,28% desse peso correspondente à casca e 73,72% correspondente à amêndoa.

6.2 – Composição Química Centesimal das Sementes de *M. oleifera* Cruas e Processadas

Os teores de umidade, proteína, lipídios, fibra, cinzas e carboidratos das farinhas de sementes de *M. oleifera* encontram-se apresentados na Tabela 6.

As farinhas das sementes integrais e sem casca apresentaram teores de umidade de aproximadamente 4%. As farinhas das cascas cruas e autoclavadas apresentaram teores mais altos, em torno de 6%.

Os dados da composição centesimal indicaram que as sementes de moringa contêm elevado teor protéico, com uma média de 29% para a semente integral e 38% para a semente sem casca. Além disso, contêm alto teor lipídico, em torno de 31% para a semente integral e 42% para a semente sem casca. Esses dados mostram que as sementes de moringa podem constituir uma fonte potencial de proteína e energia para alimentação humana e animal.

Os teores de fibra bruta das sementes integrais e sem casca foram em média 32% e 4%, respectivamente. Este fato já era esperado, tendo em vista que a casca constitui 26% do peso total da semente e apresenta quase que a totalidade de fibra.

O tratamento térmico aplicado às sementes, de um modo geral, não causou alterações significativas nos diferentes constituintes avaliados. Porém, foi verificada diferença significativa nos teores de umidade e de carboidratos quando comparadas a moringa integral autoclavada com a crua.

Os teores de Fibra em Detergente Acido (FDA) e em Detergente Neutro (FDN) de sementes integrais ou descascadas de *M. oleifera*, cruas e autoclavadas, foram analisados e estão apresentados na Tabela 7. Foi observado que o tratamento térmico proporcionou aumento no teor de FDA e FDN em todas as amostras. Já a remoção da casca implicou em diminuição acentuada nos referidos teores.

Tabela 6 – Composição proximal das sementes de Moringa Integral Crua (MIC), Moringa Sem Casca Crua (MSCC), Casca Crua (CC), Moringa Integral Autoclavada (MIA), Moringa Sem Casca Autoclavada (MSCA) e Casca Autoclavada (CA), expressa em percentual do peso seco

Amostras	Umidade	Proteína*	Lipídios	Fibra Bruta	Cinzas	Carboidratos**
MIC	4,40 ± 0,23c	29,44 ± 0,85b	30,88 ± 0,67c	32,95 ± 0,28c	4,22 ± 0,23ab	2,51 ± 0,92d
MIA	4,95 ± 0,00b	29,76 ± 0,36b	31,13 ± 0,30c	31,77 ± 2,09c	3,90 ± 0,29bc	5,33 ± 3,16c
MSCC	4,17 ± 0,29c	38,52 ± 0,48a	41,09 ± 0,27b	5,01 ± 0,60d	4,66 ± 0,20a	10,71 ± 0,74b
MSCA	4,13 ± 0,08c	37,46 ± 0,80a	43,20 ± 0,17a	3,76 ± 0,83d	4,37 ± 0,23ab	11,21 ± 1,12b
CC	5,70 ± 0,58ab	14,58 ± 0,48c	1,24 ± 0,39d	67,76 ± 0,74b	3,40 ± 0,16c	13,01 ± 1,28ab
CA	6,50 ± 0,05a	8,69 ± 0,33d	1,42 ± 0,93d	72,51 ± 0,74a	3,31 ± 0,39c	14,07 ± 0,33a

Os valores representam a média ± desvio padrão de três determinações.

Os valores seguidos por letras diferentes, na vertical, são significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

* Nitrogênio total x 6,25.

** Calculado por diferença.

Tabela 7 – Composição de Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Fibra em Detergente Ácido (FDA) das farinhas de sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)**, **Moringa Sem Casca Crua (MSCC)**, **Casca Crua (CC)**, **Moringa Integral Autoclavada (MIA)**, **Moringa Sem Casca Autoclavada (MSCA)** e **Casca Autoclavada (CA)**, expressa em percentual do peso seco

Amostras	FDN*	FDA**
MIC	29,16 ± 1,49c	24,16 ± 0,94c
MIA	75,22 ± 10,09b	26,44 ± 1,27c
MSCC	8,77 ± 1,10d	7,58 ± 2,04e
MSCA	38,65 ± 13,64c	14,70 ± 2,67d
CC	74,51 ± 1,48b	62,16 ± 0,79b
CA	98,19 ± 8,55a	76,19 ± 0,46a

Os valores representam média ± desvio padrão de três determinações.

Os valores seguidos por letras diferentes na vertical são significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis* e Tukey**.

6.3 – Determinação de Minerais das Sementes de *M. oleifera* Cruas e Processadas

Os resultados das análises de determinação de macro e microminerais das farinhas de sementes cruas e autoclavadas de *M. oleifera* estão mostrados nas Tabelas 8 e 9, respectivamente. Os resultados obtidos foram comparados e analisados em relação ao processamento térmico e a remoção das cascas. De uma forma geral, as amostras não apresentaram grandes diferenças nos teores de minerais, indicando que o tratamento térmico não provocou alterações. Quanto à remoção das cascas, foi observada queda no teor de alguns minerais, principalmente ferro que foi reduzido de 72,30 ppm (MIC) para 32,00 ppm (MSCC) e de 62,60 ppm (MIA) para 41,70 ppm (MSCA). Em termos comparativos com o farelo de soja, quase todos macrominerais presentes nas amostras de moringa apresentaram conteúdos superiores e, entre os microminerais, apenas ferro e cobre apresentaram valores mais baixos.

Em virtude dos resultados obtidos nas análises feitas anteriormente, optou-se por utilizar a farinha de sementes integrais porque estas apresentaram boa composição proximal e, principalmente, porque a remoção da casca é um processo que encarece a ração e pode inviabilizar a moringa como uma alternativa de substituição do milho e da soja. A partir desse ponto, portanto, as análises envolveram apenas as sementes integrais cruas e autoclavadas.

6.4 – Determinação de Fibra Alimentar Total (FAT) de Sementes de *M. oleifera* Cruas e Autoclavadas

As sementes integrais de moringa cruas ($40,28 \pm 1,18\%$) apresentaram teor de FAT superior ao observado para as sementes autoclavadas ($37,04 \pm 0,20\%$). Tais resultados sugerem que, possivelmente, o tratamento térmico tenha hidrolisado parcialmente essas fibras.

Tabela 8 – Composição (%) em macrominerais (cálcio, fósforo, sódio, potássio e magnésio) das farinhas de sementes de Moringa Integral Crua (MIC), Moringa Sem Casca Crua (MSCC), Moringa Integral Autoclavada (MIA), Moringa Sem Casca Autoclavada (MSCA), comparadas com a composição do farelo de soja

Amostras	Cálcio	Fósforo	Sódio	Potássio	Magnésio
MIC	2,49	0,55	0,09	0,62	0,35
MIA	2,44	0,61	0,09	0,62	0,40
MSCC	2,37	0,59	0,07	0,51	0,39
MSCA	2,57	0,81	0,08	0,62	0,44
Farelo de Soja*	0,24	0,54	0,04	1,79	0,20

* Valores determinados por Rodrigues *et al.*, 2002.

Tabela 9 – Composição (ppm) em microminerais (ferro, zinco, manganês e cobre) das farinhas de sementes de Moringa Integral Crua (MIC), Moringa Sem Casca Crua (MSCC), Moringa Integral Autoclavada (MIA), Moringa Sem Casca Autoclavada (MSCA), comparadas com a composição do farelo de soja

Amostras	Ferro	Zinco	Manganês	Cobre
MIC	72,30	57,30	15,40	12,20
MIA	62,60	52,00	15,70	11,80
MSCC	32,00	48,10	14,60	8,00
MSCA	41,70	57,50	17,30	12,20
Farelo de Soja*	114,85	45,83	16,85	16,85

* Valores determinados por Rodrigues *et al.*, 2002.

6.5 – Caracterização Química e Físico-Química das Proteínas de Sementes de *M. oleifera* Cruas e Autoclavadas

6.5.1 – Composição em Aminoácidos

Os resultados da análise da composição em aminoácidos das sementes de moringa cruas e autoclavadas estão mostrados na Tabela 10. Em geral, as amostras de moringa não apresentaram grandes diferenças em seus perfis aminoacídicos, com exceção de cisteína e leucina que apresentaram uma diminuição acentuada quando a moringa foi autoclavada. Os resultados obtidos foram comparados com a composição de aminoácidos de sementes de soja. A comparação entre os teores de aminoácidos essenciais para frango de corte em fase inicial presentes nas sementes de moringa com a composição média de aminoácidos essenciais da soja revelou que as sementes de moringa, de um modo geral, apresentaram conteúdos semelhantes, com exceção de lisina, tirosina e triptofano que foram inferiores e de glicina que foi superior. Com relação aos aminoácidos não-essenciais, as sementes de moringa apresentaram teores de alanina e prolina mais elevados que os teores encontrados na soja, enquanto os conteúdos de asparagina e glutamina foram inferiores.

6.5.2 – Eletroforese em Gel de Tricina em Condições Desnaturantes

As farinhas delipidadas de sementes de moringa integral crua e autoclavadas foram submetidas à eletroforese em gel de Tricina em condições desnaturantes, na presença de β -mercaptoetanol (Figura 8). Os perfis eletroforéticos das duas amostras apresentaram bandas protéicas na faixa de 10,6 kDa e, aparentemente, não diferiram entre si.

Tabela 10 – Composição em aminoácidos (g/100 g proteína) das farinhas de sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)** e **Moringa Integral Autoclavada (MIA)** e de sementes de soja

Aminoácidos	MIC	MIA	Soja**
Asx	5,49	5,18	12,00
Thr*	4,33	6,89	3,86
Ser*	5,21	4,46	4,66
Glx	10,22	10,25	19,58
Gly*	16,37	16,18	3,90
Ala	11,22	10,92	4,20
Cys*	1,36	0,73	1,46
Val*	6,20	7,16	4,65
Met*	1,91	1,88	1,46
Ile*	4,00	6,55	4,11
Leu*	6,39	3,70	7,59
Tyr*	1,19	1,30	4,64
Phe*	3,25	2,97	4,64
His*	2,38	2,42	2,71
Lys*	1,44	1,22	6,39
Arg*	7,70	9,02	7,64
Pro	10,70	8,10	5,68
Trp*	0,50	0,59	0,89

*Aminoácidos essenciais para frangos de corte em fase inicial (1-21 dias).

** Valores baseados na média dos resultados apresentados por Vasconcelos *et al.* (1997), Petzke *et al.* (1997), Maia (1998), Vieira *et al.* (1999), Zarkadas *et al.* (1999), Friedman e Brandon (2001), Sousa (2001), Vasconcelos *et al.* (2001) e Brasil (2002).

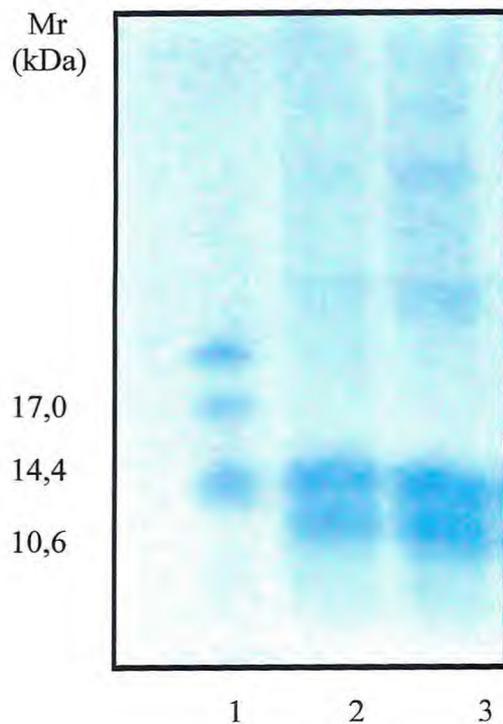


Figura 8 – Eletroforese em gel de tricina na presença de SDS e β -mercaptoetanol das farinhas de sementes de *Moringa oleifera*. 1) Marcadores de massa molecular: mioglobina (17,0 kDa); mioglobina I+II (14,4 kDa); mioglobina I+III (10,6 kDa); mioglobina I (8,2 kDa); mioglobina II (6,2 kDa) e mioglobina III (2,5 kDa); 2) **Moringa Integral Crua (MIC)** e 3) **Moringa Integral Autoclavada (MIA)**.

6.6 – Detecção e/ou Dosagem de Compostos Com Propriedades Tóxicas e/ou Antinutricionais em Sementes de *M. oleifera* Cruas e Autoclavadas

6.6.1 – Lectina

Os resultados de atividade hemaglutinante estão apresentados na Tabela 11. A atividade hemaglutinante do extrato total dialisado e não dialisado de farinha de sementes de moringa cruas e autoclavadas foi testada frente a suspensões (2%) de eritrócitos de seres humanos (sistema ABO), de coelho e de galinha, tratados e não tratados com tripsina. Os extratos dialisados preparados a partir de sementes cruas ou autoclavadas não apresentaram resultados positivos para nenhum dos tipos de eritrócitos utilizados, mesmo quando tratados com tripsina. Já o extrato não dialisado de moringa integral crua foi capaz de aglutinar eritrócitos de galinha, apresentando uma atividade hemaglutinante específica de 10,39 UH/mgP, valor este igual para os eritrócitos não tratados e tratados enzimaticamente. Desse modo, foi constatado que a intensidade de aglutinação não foi dependente do tratamento enzimático dos eritrócitos e que o processo de autoclavagem aboliu totalmente a atividade hemaglutinante.

6.6.2 – Inibidor de tripsina

Não foi constatada a presença de inibidores de tripsina nas amostras analisadas (Tabela 11). Os extratos das farinhas de sementes de moringa cruas e autoclavadas não foram capazes de inibir a tripsina.

6.6.3 – Toxina

Os extratos totais dialisados de sementes de moringa cruas e autoclavadas não apresentaram toxicidade quando injetados intraperitonealmente, nem mesmo quando

administrados na dose mais alta. Como não ocorreu morbidade ou mortalidade, foi cogitada a possibilidade de que as toxinas pudessem ser dialisáveis, ou seja, apresentassem massa molecular abaixo de 12 kDa, correspondente ao limite de retenção da membrana de diálise. Foi decidido, então, investigar o extrato bruto não dialisado, tendo em vista que a farinha de sementes de moringa apresenta grande quantidade de proteínas solúveis na faixa de 6 a 12 kDa. O extrato bruto de sementes autoclavadas não foi letal. Porém, o extrato bruto de sementes cruas foi capaz de causar a morte de camundongos dentro de um período de 12 horas. Os principais sintomas apresentados pelos animais após a injeção intraperitoneal do extrato bruto foram anorexia e apatia. Em nenhum momento foram observados sintomas neurológicos, tais como falta de coordenação motora ou convulsões. O extrato não dialisado de moringa integral crua apresentou uma DL_{50} de $4,33 \pm 0,22$ mgP/10 g de massa corpórea (Tabela 11).

6.6.4 – Urease

Os extratos totais de sementes de moringa cruas e autoclavadas apresentaram atividade ureásica. A moringa integral crua apresentou valores significativamente maiores do que a autoclavada, ficando claro que o processo de autoclavagem inativou quase que totalmente a atividade da urease (Tabela 11).

Tabela 11 – Atividades hemaglutinante, inibidora de tripsina, tóxica e ureásica dos extratos brutos obtidos a partir de farinha de sementes de *Moringa Integral Crua (MIC)* e *Moringa Integral Autoclavada (MIA)*

Amostras	Atividade hemaglutinante (UH/mgP) [*]	Atividade inibidora de tripsina (UI) ^{**}	Atividade tóxica (DL ₅₀) [#]	Atividade ureásica (U/mgF) ^{&}
MIC	10,39 ± 0,08	ND	4,33 ± 0,22	56,77 ± 7,96a
MIA	ND ^δ	ND	ND	0,51 ± 0,10b

Os valores representam média ± desvio padrão de três determinações.

* UH significa unidade de hemaglutinação, que representa o valor recíproco da maior diluição capaz de causar aglutinação visível de eritrócitos a olho nu.

** UI significa unidade de inibição. Uma UI corresponde a um miligrama de tripsina inibida por grama de farinha.

DL₅₀ foi definida como a quantidade de proteína (em mg de proteína para 10 g de peso corporal de camundongo) capaz de causar morte em 50% dos animais testados.

& Avaliada em relação a uma curva obtida com urease comercial (Sigma 41H7008 – 870.000 U/g).

δ ND - Não detectada.

6.6.5 – Taninos

Nas condições de ensaio empregadas, não foi detectada a presença de taninos (Tabela 12).

6.6.6 – Saponinas

Saponinas foram detectadas tanto na moringa integral crua, quanto na autoclavada, ficando evidente a resistência desses compostos ao processo de autoclavagem (Tabela 12).

6.6.7 – Glicosídeos cianogênicos

A presença de glicosídeos cianogênicos foi identificada somente na farinha de sementes de moringa integral crua (Tabela 12). Conseqüentemente pode-se afirmar que o tratamento térmico empregado foi eficiente na inativação desses compostos.

6.6.8 – Alcalóides

As sementes cruas e autoclavadas de moringa integral mostraram-se positivas frente ao ensaio utilizado para detecção de alcalóides (Tabela 12).

Tabela 12 - Análise qualitativa* da presença de taninos, saponinas, glicosídeos cianogênicos e alcalóides em farinha de sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)** e **Moringa Integral Autoclavada (MIA)**

Amostras	Taninos	Saponinas	Glicosídeos Cianogênicos	Alcalóides
MIC	ND**	positivo	Positivo	positivo
MIA	ND	positivo	ND	positivo

* Resultados de três análises.

** ND - Não detectado.

6.7 – Avaliação da Qualidade Nutricional de Farinha de Sementes Integrais e da Farinha Extraída de *M. oleifera*

6.7.1 – Ensaio Biológico 1

No ensaio biológico 1, dietas experimentais foram compostas por sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)** e **Moringa Integral Autoclavada (MIA)**, sendo testados os seguintes níveis de substituição para cada dieta: 4%, 8%, 12% e 16%. As dietas controles foram compostas por uma dieta aprotéica e uma dieta padrão, esta última utilizada pela avicultura comercial.

Fase 1 ou Fase Inicial (8º ao 21º dia de idade dos animais) do Ensaio Biológico 1

6.7.1.1 – Determinação da Energia Bruta, Metabolizável Aparente e Aparente Corrigida para o Nitrogênio

Embora o teor de energia bruta de um dado alimento não seja capaz de expressar a quantidade de energia que pode ser utilizada por um organismo animal consumidor, ela é o passo inicial para determinação da energia metabolizável. Os valores médios de energia bruta das farinhas de sementes de moringa cruas e autoclavadas foram 6.019 e 6.044 Kcal/g, respectivamente, com base na matéria natural.

Os valores de energia metabolizável aparente (EMA) das farinhas de sementes de moringa cruas e autoclavadas foram 2.160 e 3.320 Kcal/g, respectivamente. Esses valores foram corrigidos considerando a retenção de nitrogênio. Um balanço nitrogenado negativo (-3,07) para os animais que ingeriram a dieta contendo farinha de sementes de moringa cruas e um balanço positivo (1,49) para os que consumiram a dieta contendo farinha de sementes autoclavadas. De posse do balanço nitrogenado foi possível calcular a energia metabolizável aparente corrigida (EMAn). Os valores encontrados para a moringa integral crua e autoclavada foram 3.947 ± 430 e 3.253 ± 590 Kcal/g, respectivamente. Esses valores não

diferiram significativamente e foram utilizados para a formulação das dietas do ensaio de desempenho.

6.7.1.2 – Avaliação dos Parâmetros Nutricionais

A Tabela 13 mostra os dados referentes ao ganho de peso, consumo e eficiência alimentar dos animais. De um modo geral, os pintos alimentados com as dietas contendo sementes de moringa cruas ou autoclavadas apresentaram piores performances do que aqueles alimentados com a dieta padrão (ração comercial) e melhores desempenhos do que os animais submetidos à dieta aprotéica. Através do experimento nutricional, foi possível observar que o tratamento térmico não proporcionou melhora no consumo alimentar e que mesmo níveis de substituição baixos interferiram negativamente no consumo. É interessante ressaltar que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre níveis de substituição iguais. Assim, o consumo dos animais que ingeriram moringa crua com um nível de substituição de 4% não diferiu significativamente ($p > 0,05$) do consumo daqueles animais que ingeriram a moringa autoclavada com o mesmo nível de substituição. O mesmo ocorreu tanto para o ganho de peso, quanto para a eficiência alimentar. Os níveis de substituição mais altos foram mais prejudiciais, sendo os animais desses grupos os que apresentaram piores performances quando comparados aos animais submetidos à ração comercial. Porém, ainda que o desempenho desses animais não tenha sido equivalente ao da ração comercial, eles apresentaram um melhor desempenho que aqueles submetidos à dieta aprotéica.

A Figura 9 mostra o ganho de peso dos animais submetidos aos diferentes tratamentos. Foi notória a baixa performance dos animais. À medida que os níveis de substituição incluindo farinha de sementes de moringa cruas ou autoclavadas aumentaram, os animais ganharam menos peso.

A análise de regressão do ganho de peso em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de moringa na dieta de frangos de corte (Figuras 10 e 11) mostrou que tanto a inclusão à dieta de farinha de sementes cruas quanto de sementes autoclavadas, leva à redução da capacidade de ganho de peso das aves, sendo este efeito acentuado pelo aumento progressivo do percentual de moringa na ração. Tal fenômeno pode ser descrito através de curvas de tendência polinomial.

Tabela 13 – Ganho de peso, consumo e eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de *Moringa Integral Crua* (MIC) e *Moringa Integral Autoclavada* (MIA) em diferentes níveis de substituição (4%, 8%, 12% e 16%), comparados com os parâmetros obtidos pelos animais submetidos à dieta padrão da avicultura comercial e à dieta aprotéica (Fase 1)

Tratamentos	Ganho de peso*	Consumo**	Eficiência alimentar***
	(Kg)	(Kg)	g/100 g
Padrão (T1)	0,68 ± 0,01a	0,99 ± 0,00a	0,69 ± 0,01 ^a
Aprotéica (T2)	-0,04 ± 0,01e	0,18 ± 0,01e	-0,23 ± 0,04f
MIC			
4% (T3)	0,26 ± 0,02b	0,51 ± 0,02b	0,50 ± 0,03b
8% (T4)	0,09 ± 0,02c	0,35 ± 0,04c	0,26 ± 0,03c
12% (T5)	0,04 ± 0,01d	0,25 ± 0,06d	0,14 ± 0,03de
16% (T6)	0,03 ± 0,01d	0,25 ± 0,06d	0,10 ± 0,02de
MIA			
4% (T7)	0,27 ± 0,04b	0,53 ± 0,03ab	0,51 ± 0,06b
8% (T8)	0,11 ± 0,01c	0,32 ± 0,02c	0,33 ± 0,01c
12% (T9)	0,04 ± 0,01d	0,25 ± 0,03d	0,16 ± 0,02d
16% (T10)	0,02 ± 0,01d	0,22 ± 0,03d	0,06 ± 0,06e

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

*, ** Média de valores individuais (n =24).

*** Ganho de peso dividido pelo consumo.

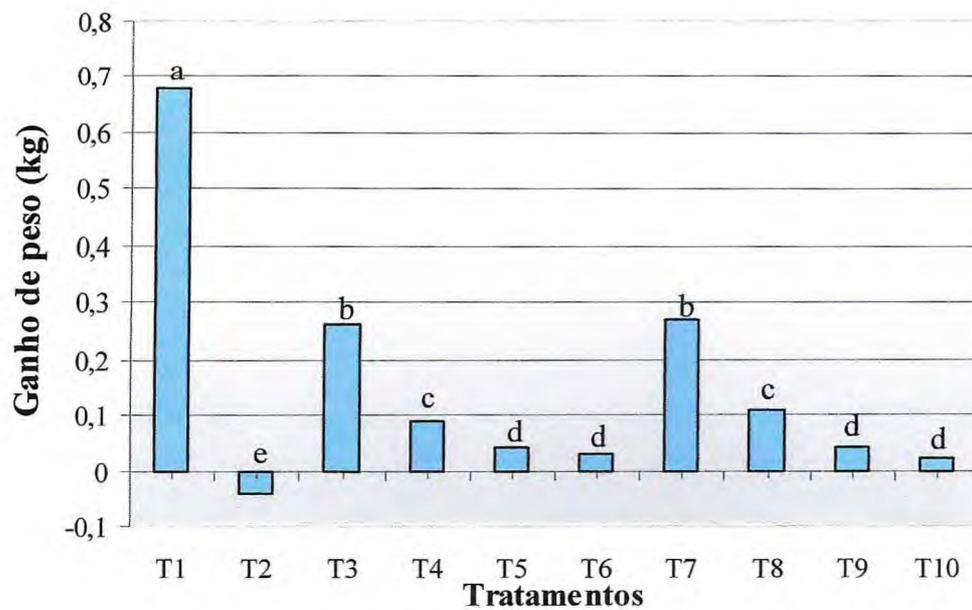


Figura 9 – Ganho de peso (kg) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com dietas contendo farinha de sementes de *Moringa Integral Crua* - MIC 4% (T3), 8% (T4), 12% (T5) e 16% (T6) e *Moringa Integral Autoclavada* - MIA 4% (T7), 8% (T8), 12% (T9) e 16% (T10), comparado com os valores obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (T1) e a uma dieta aprotéica (T2) (Fase 1).

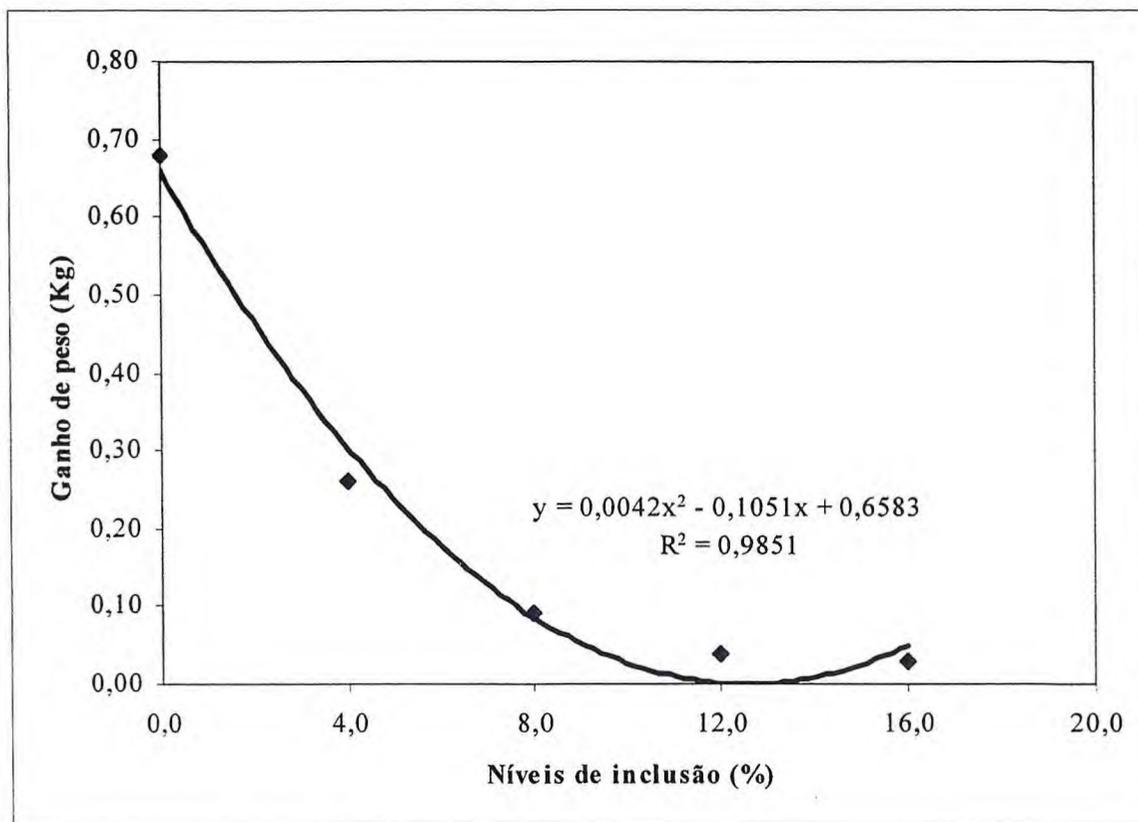


Figura 10 – Análise de regressão do ganho de peso em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de *Moringa Integral Crua* na dieta de frangos de corte (Fase 1).

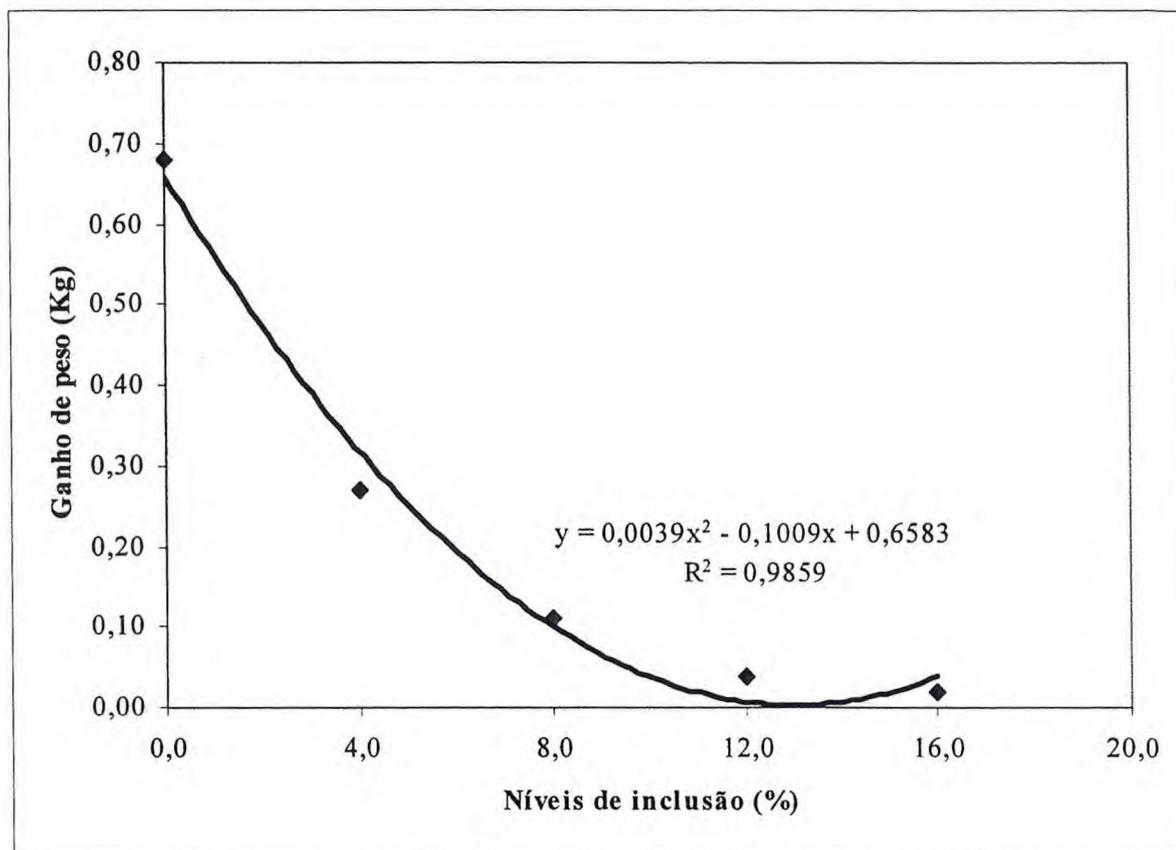


Figura 11 – Análise de regressão do ganho de peso em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de Moringa Integral Autoclavada na dieta de frangos de corte (Fase 1).

Em relação às sementes cruas, o efeito pode ser descrito através da equação $y = 0,0042x^2 - 0,105x + 0,6583$ ($R^2 = 0,9851$), onde “y” corresponde ao ganho de peso e “x” o percentual de inclusão de moringa. Em se tratando de sementes autoclavadas, a equação descritiva é $y = 0,0039x^2 - 0,1009x + 0,6583$ ($R^2 = 0,9859$), seguindo a mesma representação.

O consumo alimentar (Figura 12) foi maior no grupo experimental submetido à dieta constituída pela ração comercial e nos tratamentos com níveis de substituição mais baixos. O tratamento térmico não resultou em melhora do consumo voluntário, pois não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os mesmos níveis de substituição das dietas contendo sementes cruas e autoclavadas. O maior consumo, por sua vez, acarretou um maior ganho de peso. Foi observado que, à medida que o percentual de substituição aumentou, uma diminuição do consumo ocorreu, apresentando menores índices os animais submetidos aos tratamentos contendo uma inclusão de 16% de sementes cruas (T6) ou autoclavadas (T10). A análise de regressão do consumo de alimento em função do nível de substituição de milho x soja por sementes de moringa cruas e autoclavadas na dieta de frangos de corte (Figuras 13 e 14) mostrou que, a exemplo do que ocorreu com o ganho de peso, a inclusão dessas sementes à dieta levou à redução do consumo de alimentos pelas aves. Este efeito pode ser também descrito através de curvas de tendência polinomial. Em relação às sementes cruas, o efeito pode ser descrito através da equação $y = 0,0046x^2 - 0,1164x + 0,9637$ ($R^2 = 0,9840$), onde “y” corresponde ao consumo de alimento e “x” o percentual de inclusão de moringa. Em relação à moringa autoclavada, a equação descritiva é $y = 0,0045x^2 - 0,1169x + 0,9689$ ($R^2 = 0,9892$).

Os valores referentes à eficiência alimentar (Figura 15) não apresentaram diferenças significativas entre as dietas testes dentro do mesmo nível de substituição, evidenciando que o processo de autoclavagem não proporcionou melhora nesse parâmetro nutricional. Os animais submetidos à dieta padrão obtiveram a melhor eficiência alimentar. Já os animais submetidos à dieta aptéica apresentaram um valor negativo resultante da perda de peso corporal. A análise de regressão da eficiência alimentar em função do nível de substituição de milho x soja por moringa crua e autoclavada na dieta de frangos de corte (Figuras 16 e 17) tornou evidente que a inclusão de sementes (cruas ou autoclavadas) à dieta compromete, significativamente, o desempenho das aves. Curvas de tendência polinomial foram aquelas que melhor representaram o fenômeno observado. Assim, no que diz respeito às sementes cruas, o efeito pode ser descrito através da equação $y = 0,0019x^2 - 0,0685x + 0,706$ ($R^2 = 0,9908$), onde “y” corresponde à eficiência alimentar e “x” o percentual de inclusão das sementes. Quanto às sementes autoclavadas, a equação descritiva é $y = 0,0008x^2 - 0,0524x + 0,6963$ ($R^2 = 0,9980$), utilizando-se a mesma representação.

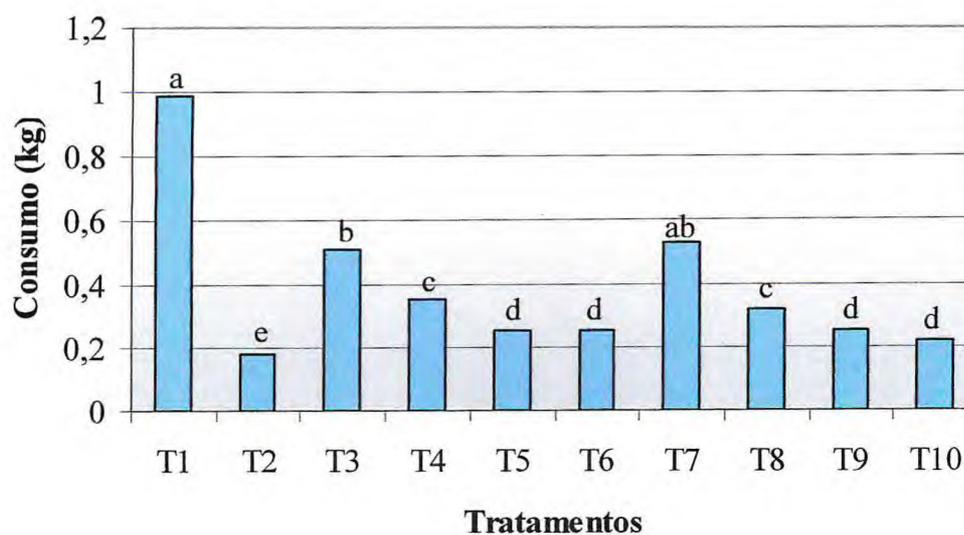


Figura 12 – Consumo alimentar (Kg) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com dietas contendo farinha de sementes de *Moringa Integral Crua* - MIC 4% (T3), 8% (T4), 12% (T5) e 16% (T6) e *Moringa Integral Autoclavada* - MIA 4% (T7), 8% (T8), 12% (T9) e 16% (T10), comparado com os valores obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (T1) e a uma dieta aprotéica (T2) (Fase 1).

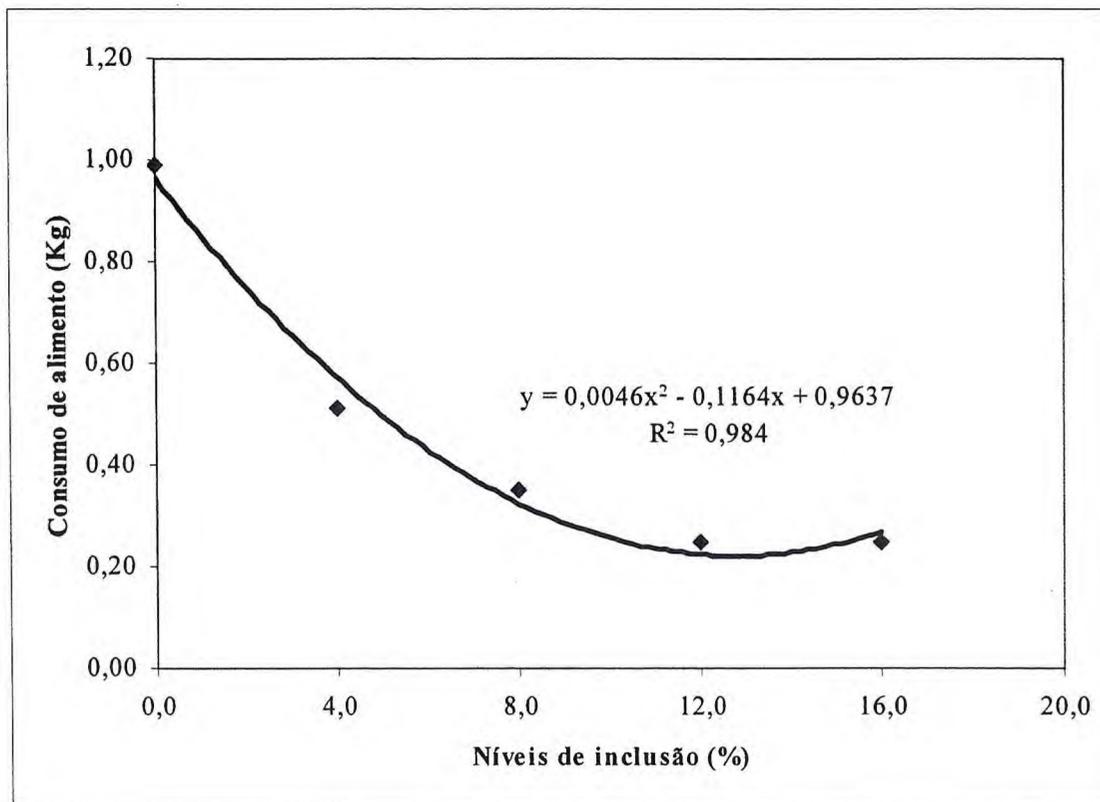


Figura 13 – Análise de regressão do consumo de alimento em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de **Moringa Integral Crua** na dieta de frangos de corte (Fase 1).

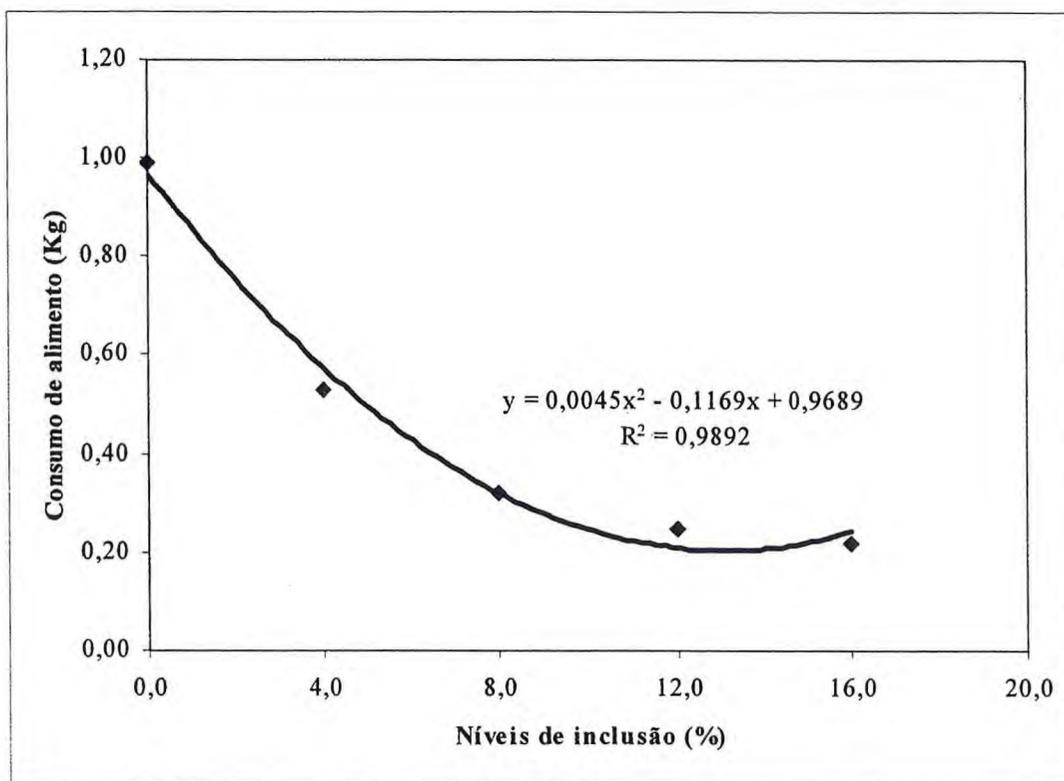


Figura 14 – Análise de regressão do consumo de alimento em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de *Moringa Integral Autoclavada* na dieta de frangos de corte (Fase 1).

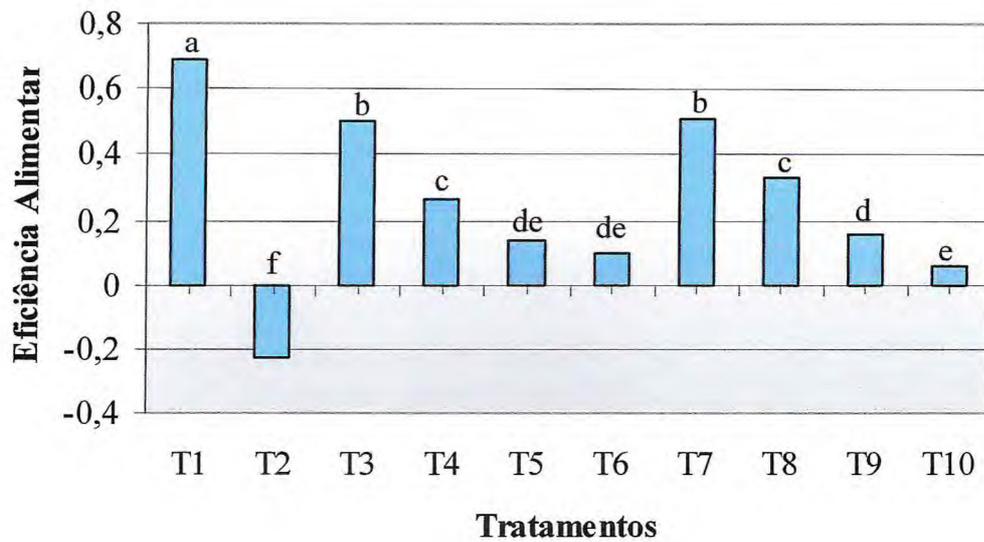


Figura 15 – Eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com dietas contendo farinha de sementes de *Moringa Integral Crua* - MIC 4% (T3), 8% (T4), 12% (T5) e 16% (T6) e *Moringa Integral Autoclavada* - MIA 4% (T7), 8% (T8), 12% (T9) e 16% (T10), comparada com os valores obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (T1) e a uma dieta aprotéica (T2) (Fase 1).

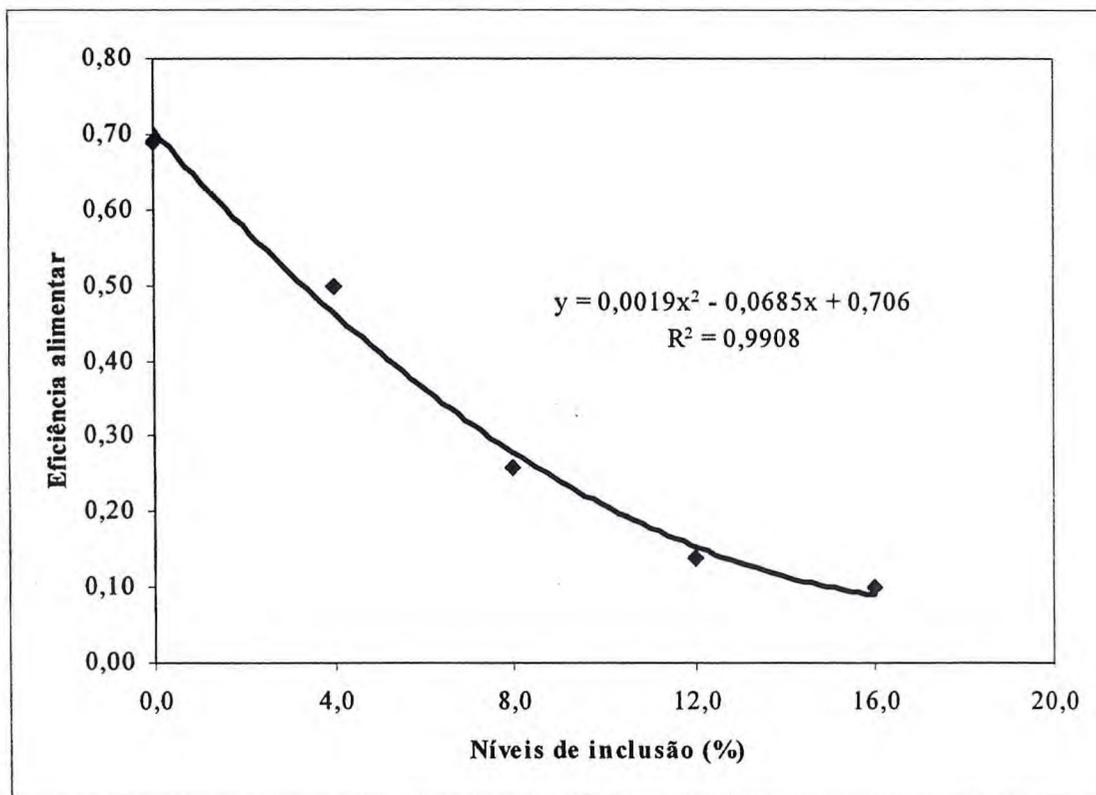


Figura 16 – Análise de regressão da eficiência alimentar em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de *Moringa Integral Crua* na dieta de frangos de corte (Fase 1).

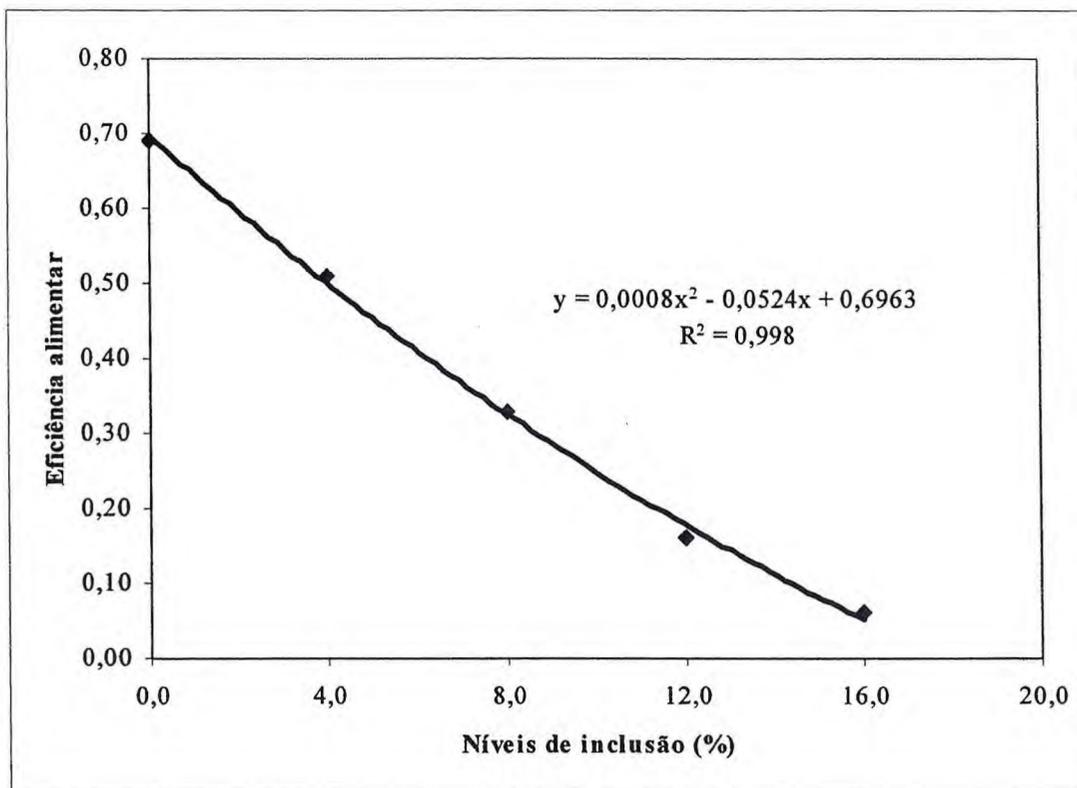


Figura 17 – Análise de regressão da eficiência alimentar em função do nível de substituição de milho x soja por farinha de sementes de Moringa Integral Autoclavada na dieta de frangos de corte (Fase 1).

6.7.1.3 – Avaliação Bioquímica da Qualidade Nutricional das Proteínas

A Tabela 14 apresenta os valores de Utilização Líquida de Proteína (NPU), Razão Líquida de Proteína (NPR) e Razão de Eficiência Protéica (PER). Os valores de NPU de todos os tratamentos foram significativamente inferiores aos do grupo alimentado com a dieta padrão. Nos tratamentos em que as dietas utilizadas encerravam percentuais mais elevados de farinha de sementes de moringa, os valores de NPU foram menores. O mesmo ocorreu com os valores de PER e NPR, podendo ser sugerido que, provavelmente, a diminuição do consumo, associada à presença de compostos com efeitos antinutricionais e/ou tóxicos, tenha influenciado nesses resultados.

6.7.1.4 – Análise Macro e Microscópica dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte

Durante a coleta dos órgãos, foram observadas alterações macroscópicas no fígado e intestino delgado em 1/5 dos animais que ingeriram rações contendo farinha de sementes de moringa. As lesões observadas no intestino delgado consistiram de áreas hemorrágicas puntiformes ou em forma de sufusões, presentes tanto na mucosa quanto na serosa do órgão (Figura 18). Áreas hemorrágicas foram observadas no jejuno de animais submetidos ao tratamento com moringa integral autoclavada 12% (T9) e no íleo daqueles pertencentes aos tratamentos com moringa integral autoclavada 4% (T7) e 8% (T8). Além disso, foram verificadas áreas hemorrágicas na junção íleo-cecal de animais alimentados com moringa integral autoclavada com níveis de substituição de 8 e 12% (T8 e T9, respectivamente).

Tabela 14 – Utilização Líquida de Proteína (NPU), Razão Líquida de Proteína (NPR) e Razão de Eficiência Protéica (PER) em frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)** e **Moringa Integral Autoclavada (MIA)** em diferentes níveis de substituição (2%, 4%, 8% e 12%), comparadas com os índices obtidos pelos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (Fase 1)

Tratamentos		NPU	NPR	PER
Padrão	(T1)	65,89 ± 6,06a	3,16 ± 0,06a	3,16 ± 0,06a
MIC				
	4% (T3)	35,72 ± 8,69bc	2,44 ± 0,20b	2,44 ± 0,20b
	8% (T4)	24,86 ± 1,48de	1,18 ± 0,11d	1,18 ± 0,11d
	12% (T5)	14,56 ± 7,01f	0,73 ± 0,15e	0,73 ± 0,15e
	16% (T6)	23,28 ± 4,95def	0,52 ± 0,11f	0,53 ± 0,11f
MIA				
	4% (T7)	44,07 ± 3,30b	2,18 ± 0,35b	2,18 ± 0,35b
	8% (T8)	30,55 ± 7,51cd	1,53 ± 0,06c	1,53 ± 0,05c
	12% (T9)	24,02 ± 6,62de	0,65 ± 0,02e	0,66 ± 0,01e
	16% (T10)	15,64 ± 4,68ef	0,07 ± 0,09g	0,07 ± 0,09g

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

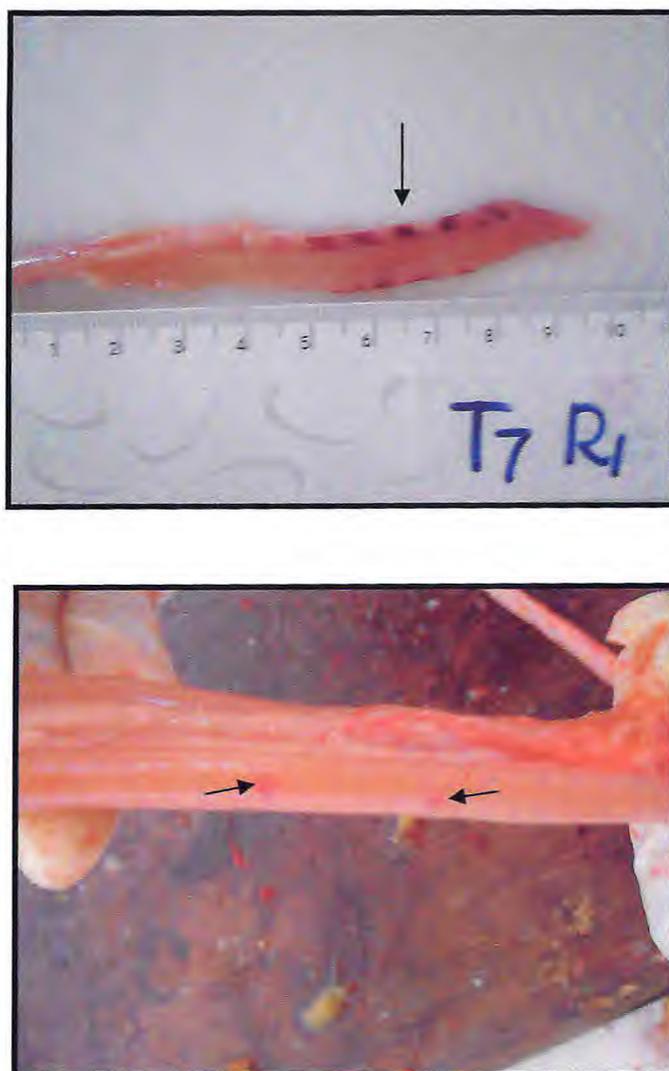


Figura 18 – Sufusões na mucosa (setas) do íleo de frangos de corte com 21 dias de idade submetidos à dieta contendo sementes de *Moringa Integral Autoclavada* (MIA), no nível de substituição de 4% (T7) (Fase 1).

A análise microscópica do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) revelou somente áreas de hiperemia, que variaram de discretas a moderadas. Levando-se em consideração que o período de exposição foi de apenas 14 dias, deduz-se que o tempo para desenvolvimento de lesões pode ter sido curto. Provavelmente, se esse período tivesse sido maior, as alterações microscópicas poderiam ser mais evidentes.

A análise macroscópica do fígado revelou que, de uma forma geral, este se apresentou congesto. Em sua superfície foram observadas lesões de tamanho e forma variáveis, sendo na maioria das vezes multifocais e de coloração amarelo-esverdeada (Figuras 19 e 20). É importante ressaltar que as lesões hepáticas mais evidentes ocorreram nos tratamentos em que os níveis de substituição foram mais altos, ou seja, em T5 e T6 (correspondentes aos níveis 12 e 16% de moringa integral crua) e T9 e T10 (correspondentes aos níveis 12 e 16% de moringa integral autoclavada). Tais resultados sugerem que a hepatotoxicidade é dose dependente e que o tratamento térmico não inativou o composto hepatotóxico, sendo a presença desse composto, diretamente relacionada à presença de lesões hepáticas. Em adição, a avaliação histopatológica revelou áreas de necrose, de coagulação e áreas hemorrágicas, com padrão preferencialmente periacinar. Foi observada, também, a formação de tecido fibroso e, em algumas regiões, colestase (Figura 21).

Apesar de não ter sido constatada macroscopicamente qualquer lesão no proventrículo dos animais estudados, a avaliação histológica revelou infiltrado linfocitário de grau moderado a intenso, distribuído de forma difusa ou focal na mucosa gástrica (Figura 22).

6.7.1.5 – Análise do Peso Fresco e Seco dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte

Os resultados referentes aos pesos frescos e secos relativos do proventrículo, fígado, moela, pâncreas, intestino delgado e intestino grosso podem ser vistos nas Tabelas 15 e 16. De um modo geral, foi verificado aumento do peso dos órgãos dos animais que ingeriram dietas contendo moringa crua e autoclavada, quando comparados ao controle. Foi observado ainda que, à medida que os níveis de substituição aumentaram, os pesos frescos e secos relativos dos órgãos também sofreram alterações.

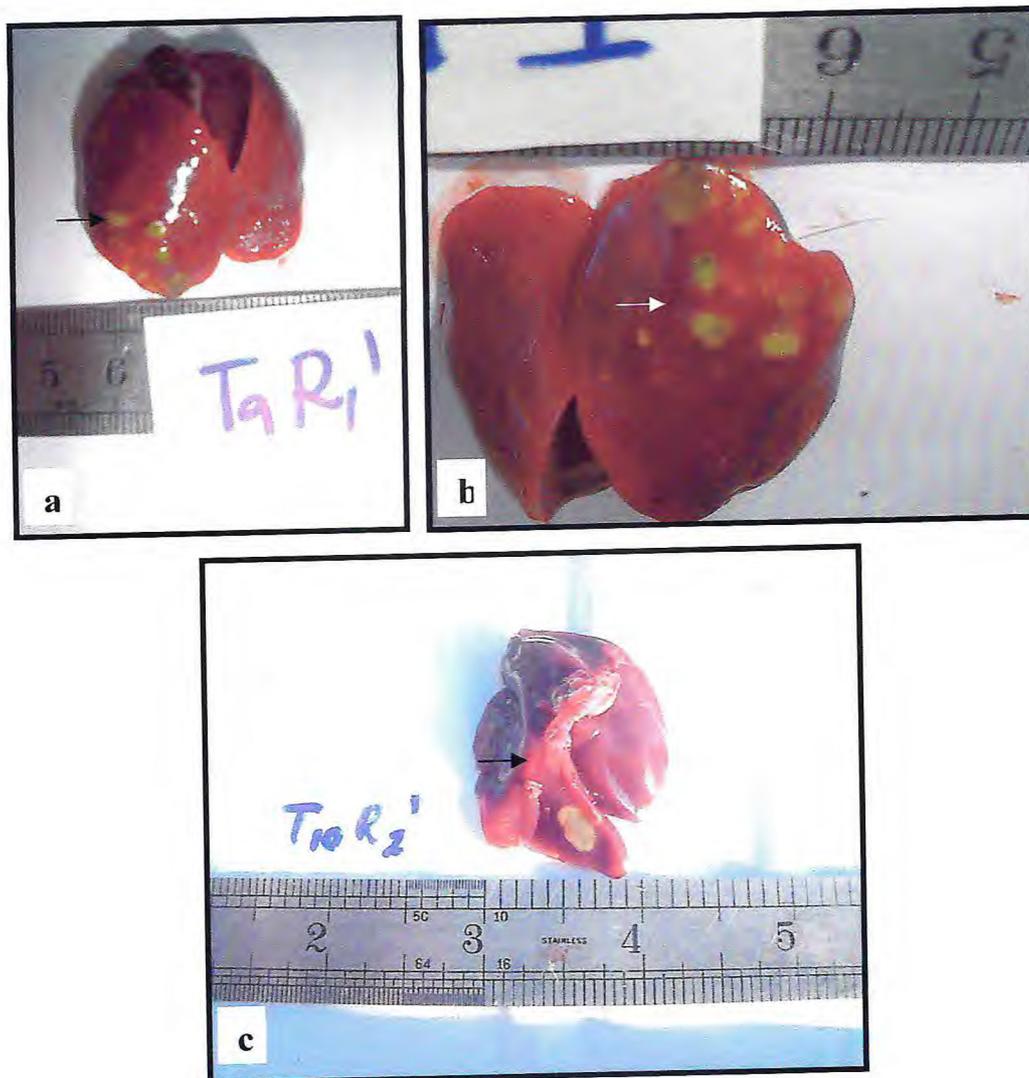


Figura 19 – Lesões necróticas multifocais com coloração esverdeada de tamanhos variáveis (setas) e colestase no fígado de frangos de corte com 21 dias de idade submetidos a tratamentos com dietas contendo sementes de *Moringa Integral Autoclavada* (MIA). (a) e (b) Nível de substituição de 12%; (c) Nível de substituição de 16% (T10) (Fase 1).

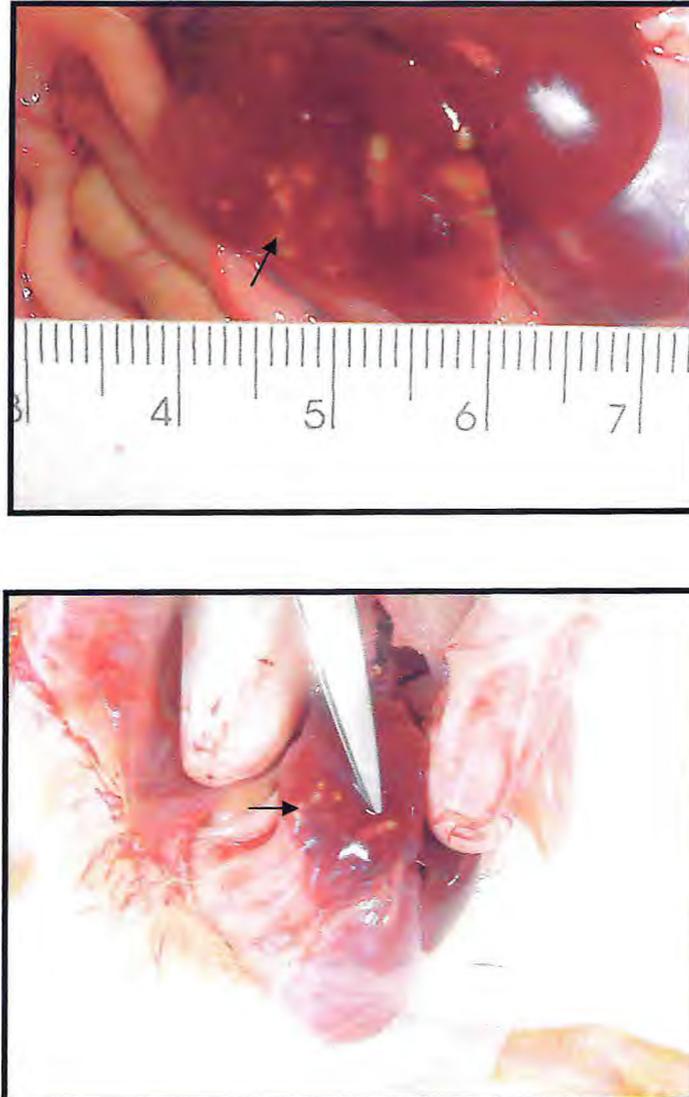


Figura 20 – Áreas necróticas multifocais de tamanhos variáveis e coloração amarelada no fígado de frangos de corte submetidos ao tratamento com dieta contendo sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)** no nível de substituição de 16% (T6) (Fase 1).

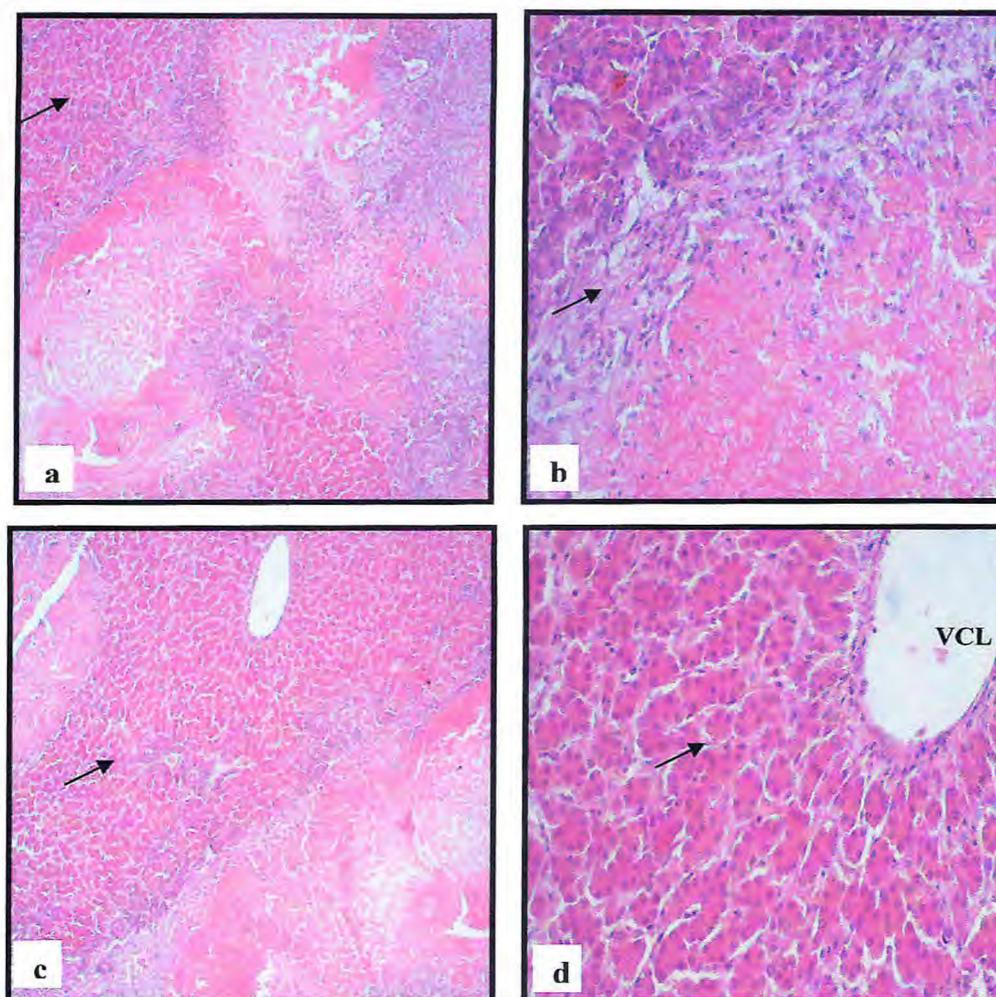


Figura 21 – Exame histopatológico de fígado, mostrando necrose difusa com variado grau de evolução, de frangos de corte com 21 dias de idade, submetido ao tratamento com dieta contendo sementes de *Moringa Integral Autoclavada* (MIA) no nível de substituição de 16% (T10). (a) Áreas de parênquima preservado (setas) ao lado de áreas necróticas (Hematoxilina-eosina; 100x); (b) Limite entre parênquima preservado e necrótico apresentando formação de tecido fibroso (seta) (Hematoxilina-eosina; 400x); (c) e (d) Preservação dos hepatócitos ao redor da veia centrolubular (VCL) (Hematoxilina-eosina; 100x e 400x, respectivamente) (Fase 1).

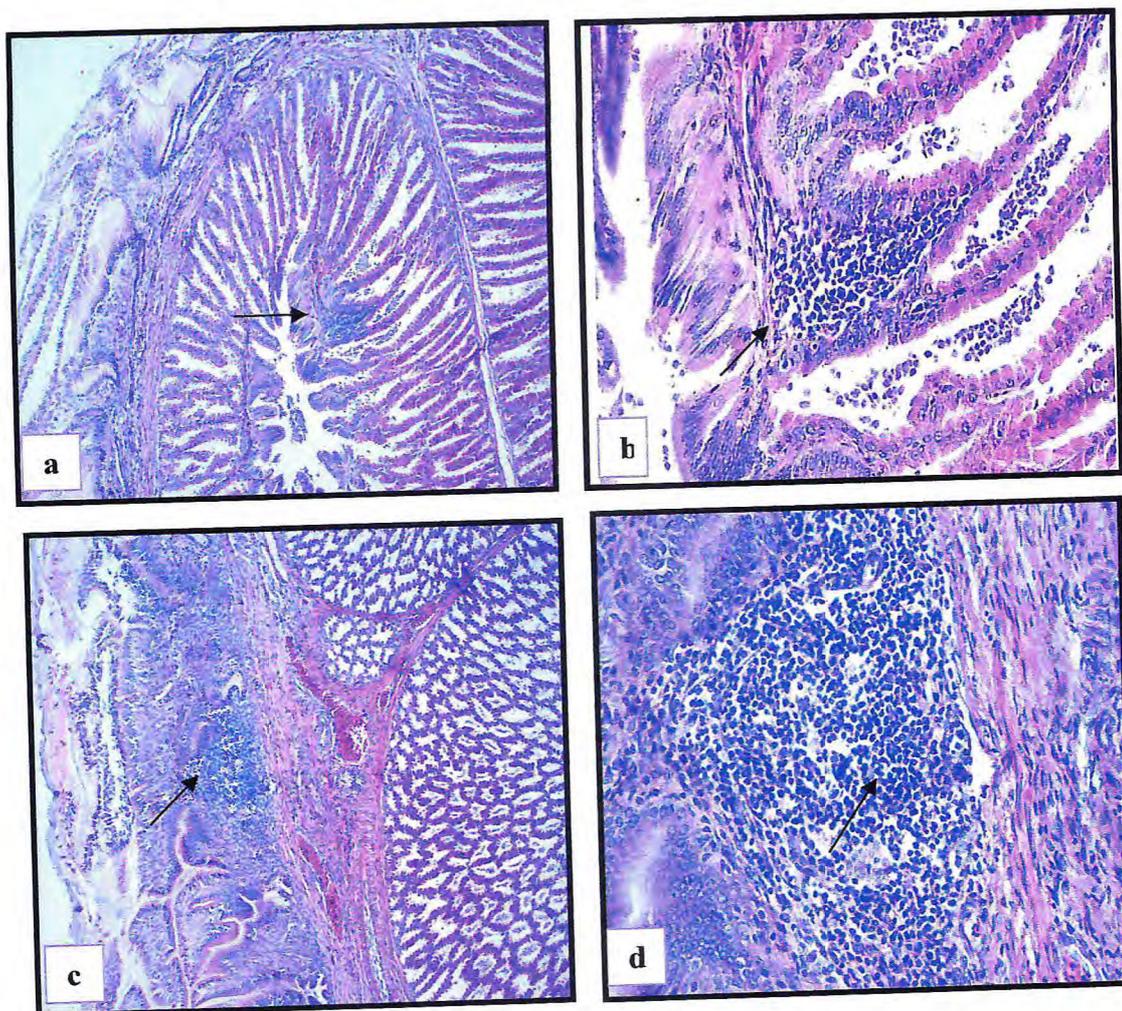


Figura 22 – Áreas hiperêmicas (a) e (c) e infiltrado linfocitário focal (b) e difuso (d) na superfície glandular e mucosa do proventrículo de frangos de corte com 21 dias de idade submetidos ao tratamento com dieta contendo sementes de *Moringa Integral Autoclavada* (MIA) no nível de substituição de 4% (T7). (Hematoxilina-eosina; 400 x) (Fase 1).

Tabela 15 – Peso fresco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)** e **Moringa Integral Autoclavada (MIA)** em diferentes níveis de substituição (2%, 4%, 8% e 12%), comparado com o peso fresco relativo dos órgãos dos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial e a uma dieta aprotéica (Fase 1)

Tratamentos	Proventrículo	Moela	Fígado	Pâncreas	Intestino delgado	Intestino grosso
Padrão (T1)	0,58 ± 0,05d	2,54 ± 0,29c	2,59 ± 0,25d	0,36 ± 0,02d	3,61 ± 0,40e	0,79 ± 0,07d
Aprotéica (T2)	0,99 ± 0,22ab	4,59 ± 0,51a	4,90 ± 0,67a	0,44 ± 0,08cd	4,00 ± 0,67de	1,28 ± 0,28abc
MIC						
4% (T3)	0,82 ± 0,08bc	3,47 ± 0,46b	3,27 ± 0,41bc	0,58 ± 0,27ab	4,97 ± 0,78bc	1,05 ± 0,18bcd
8% (T4)	1,06 ± 0,18a	4,35 ± 0,32a	3,13 ± 0,58bcd	0,60 ± 0,06 ^a	5,45 ± 0,96abc	1,32 ± 0,25abc
12% (T5)	1,04 ± 0,16a	4,65 ± 0,78a	3,24 ± 0,35bcd	0,54 ± 0,11ab	6,16 ± 1,31a	1,44 ± 0,36ab
16% (T6)	1,03 ± 0,22a	4,76 ± 0,66a	3,22 ± 0,52bcd	0,58 ± 0,11ab	5,97 ± 1,11ab	1,46 ± 0,37ab
MIA						
4% (T7)	0,84 ± 0,11bc	3,18 ± 0,30bc	2,72 ± 0,37cd	0,44 ± 0,08cd	4,60 ± 0,61cd	1,01 ± 0,18cd
8% (T8)	0,95 ± 0,12ab	3,98 ± 0,51ab	3,09 ± 0,17bcd	0,51 ± 0,05bc	5,18 ± 0,72abc	1,35 ± 0,21abc
12% (T9)	0,90 ± 0,09abc	4,55 ± 0,61a	3,50 ± 0,78b	0,55 ± 0,08ab	5,23 ± 0,67abc	1,42 ± 0,26ab
16% (T10)	0,97 ± 0,28abc	4,57 ± 0,43a	3,80 ± 0,34b	0,55 ± 0,07ab	5,39 ± 1,28abc	1,65 ± 0,34a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 16 – Peso seco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso seco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)** e **Moringa Integral Autoclavada (MIA)** em diferentes níveis de substituição (2%, 4%, 8% e 12%), comparado com o peso seco relativo dos órgãos dos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial e a uma dieta aptotéica (Fase 1)

Tratamentos	Proventrículo	Moela	Fígado	Pâncreas	Intestino delgado	Intestino grosso
Padrão (T1)	0,30 ± 0,06c	1,84 ± 0,27c	1,61 ± 0,19c	0,18 ± 0,03e	0,47 ± 0,04c	0,35 ± 0,06c
Aprotéica (T2)	0,56 ± 0,13ab	3,75 ± 0,27a	2,88 ± 0,54a	0,20 ± 0,05de	0,48 ± 0,04c	0,51 ± 0,14b
MIC						
4% (T3)	0,53 ± 0,09b	2,98 ± 0,42b	2,34 ± 0,34ab	0,26 ± 0,06bc	0,61 ± 0,05ab	0,58 ± 0,09b
8% (T4)	0,75 ± 0,12a	4,12 ± 0,35a	2,51 ± 0,43ab	0,37 ± 0,07a	0,65 ± 0,05ab	0,81 ± 0,20a
12% (T5)	0,78 ± 0,18a	4,42 ± 0,69a	2,55 ± 0,36ab	0,25 ± 0,06bcd	0,68 ± 0,07ab	0,86 ± 0,23a
16% (T6)	0,77 ± 0,19a	4,37 ± 0,51a	2,50 ± 0,30ab	0,30 ± 0,07b	0,69 ± 0,07a	0,87 ± 0,23a
MIA						
4% (T7)	0,58 ± 0,08ab	2,88 ± 0,31b	2,01 ± 0,28bc	0,21 ± 0,05cde	0,59 ± 0,06b	0,54 ± 0,09b
8% (T8)	0,64 ± 0,10ab	3,79 ± 0,47a	2,37 ± 0,32ab	0,24 ± 0,06bcde	0,64 ± 0,06ab	0,76 ± 0,18a
12% (T9)	0,61 ± 0,09ab	4,17 ± 0,56a	2,51 ± 0,52ab	0,24 ± 0,06bcde	0,64 ± 0,06ab	0,78 ± 0,18a
16% (T10)	0,74 ± 0,25ab	4,24 ± 0,50a	2,96 ± 0,41a	0,28 ± 0,06b	0,65 ± 0,10ab	0,89 ± 0,18a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fase 2- Ensaio de Crescimento Compensatório do Ensaio Biológico 1 (Fase de Engorda -22° ao 42° dia de idade dos animais)

O restante das aves (4 animais por repetição - 16 por tratamento) permaneceu nas gaiolas e foi alimentado até os 42 dias de vida (Fase 2) com uma dieta comercial apropriada para a fase de engorda (Tabela 4). O objetivo deste procedimento foi analisar o desempenho dos animais após a retirada da farinha de sementes de *M. oleifera* das rações, assim como avaliar a possibilidade de um crescimento compensatório. Ao final do experimento, foram analisados alguns parâmetros nutricionais e órgãos e glândulas anexas do sistema digestório.

6.7.1.6 – Avaliação dos Parâmetros Nutricionais

A Tabela 17 mostra os parâmetros nutricionais avaliados no ensaio de crescimento compensatório. Um maior consumo e ganho de peso foi observado para os animais que haviam sido submetidos na Fase 1 às dietas contendo moringa crua e autoclavada no nível de substituição de 4% (T3 e T7, respectivamente), não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) em relação àqueles que anteriormente haviam ingerido a dieta padrão (T1) (Figura 23). É interessante destacar que, de um modo geral, não houve diferença significativa no ganho de peso, consumo e eficiência alimentar entre os animais submetidos aos níveis de substituição iguais (T3 e T7, T4 e T8, T5 e T9, T6 e T10), podendo ser concluído que o tratamento térmico empregado na Fase 1 não proporcionou nenhum efeito positivo sobre esses parâmetros na Fase 2. Os animais pertencentes ao tratamento correspondente à dieta aprotéica (T2) na Fase 1 ganharam menos peso que os demais grupos e apresentaram eficiência alimentar semelhante aos que durante a Fase 1 haviam consumido farinha de sementes de moringa nos níveis mais elevados (Figura 23)

Tabela 17 – Ganho de peso, consumo e eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com uma ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico

Tratamentos da Fase 1	Ganho de peso* (Kg)	Consumo** (Kg)	Eficiência alimentar*** g/100 g
Padrão (T1)	1,45 ± 0,14a	2,69 ± 0,18a	0,54 ± 0,04d
Aprotéica (T2)	0,85 ± 0,06d	1,28 ± 0,07d	0,66 ± 0,01a
MIC [§]			
4% (T3)	1,29 ± 0,08b	2,23 ± 0,10b	0,58 ± 0,03cd
8% (T4)	1,07 ± 0,06c	1,81 ± 0,11c	0,59 ± 0,03bc
12% (T5)	1,07 ± 0,10c	1,70 ± 0,16c	0,63 ± 0,04ab
16% (T6)	1,06 ± 0,05c	1,64 ± 0,06c	0,65 ± 0,02a
MIA [#]			
4% (T7)	1,28 ± 0,14b	2,23 ± 0,27b	0,58 ± 0,02cd
8% (T8)	1,16 ± 0,010bc	1,77 ± 0,18c	0,62 ± 0,01abc
12% (T9)	1,04 ± 0,08c	1,59 ± 0,10cd	0,65 ± 0,02a
16% (T10)	1,02 ± 0,02c	1,60 ± 0,05cd	0,64 ± 0,02a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

*, ** Média de valores individuais (n=16).

*** Ganho de peso dividido pelo consumo.

§ MIC – Moringa Integral Crua.

MIA – Moringa Integral Autoclavada.

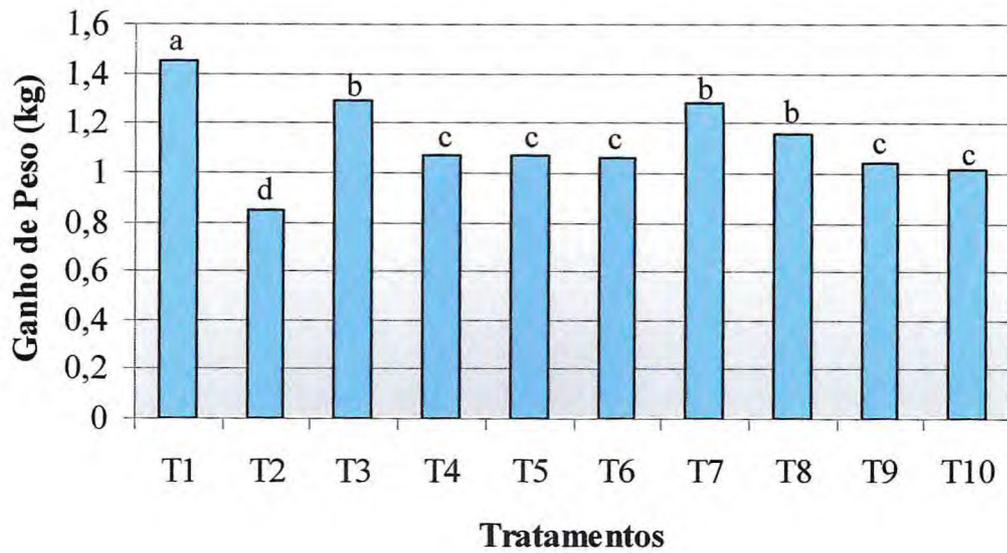


Figura 23 – Ganho de peso (Kg) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º com a ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico (T1- dieta padrão da avicultura comercial; T2- dieta aptotéica; T3- MIC 4%; T4- MIC 8% , T5- MIC 12% , T6- MIC 16%; T7- MIA 4%, T8- MIA 8% , T9- MIA 12% e T10- MIA 16%).

O consumo alimentar (Figura 24) dos animais que receberam a dieta padrão na Fase 1 (T1) foi significativamente maior ($p < 0,05$) do que os demais, seguido por aqueles pertencentes aos tratamentos T3 e T7 que, na primeira fase, receberam respectivamente moringa crua e autoclavada, em nível de substituição mais baixo (4%). A menor ingestão de dieta ocorreu em T2, cujos animais foram submetidos à dieta aprotéica na Fase 1.

Os animais que tiveram pior desempenho na Fase 1 apresentaram melhor eficiência alimentar (Figura 25) na Fase 2. Assim, os animais submetidos aos tratamentos com moringa crua e autoclavada em níveis mais elevados (T5, T6, T9 e T10) foram os que obtiveram índices mais elevados. É provável que isto esteja relacionado ao fato destes animais terem apresentado um consumo menor na primeira fase. Assim, em razão da maior privação alimentar a que foram submetidos, esses animais apresentaram uma maior compensação na segunda fase.

6.7.1.7 – Análise do Peso Fresco e Seco dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte

As Tabelas 18 e 19 apresentam o peso fresco e seco dos órgãos dos animais submetidos a uma dieta de engorda em substituição às dietas que continham moringa integral crua e autoclavada. De um modo geral, o peso dos órgãos dos animais que ingeriram as dietas experimentais na Fase 1 apresentaram-se maior que os daqueles submetidos à dieta controle. Todavia, muitos valores que diferiram significativamente ($p < 0,05$) na Fase 1, nesta Fase 2 passaram a não mais apresentar essa diferença. Em alguns casos, no entanto, diferença significativa foi encontrada em relação ao tratamento controle, constatando-se que mesmo 21 dias após a suspensão das dietas que continham moringa, havia órgãos que ainda se apresentavam maiores. Porém, vale ressaltar, que no fim do período não foi observada nenhuma lesão macroscópica.

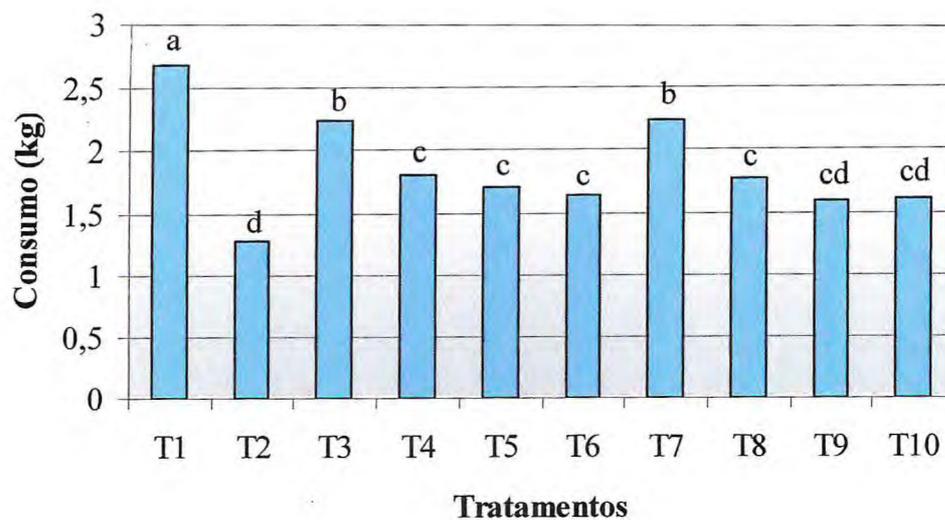


Figura 24 – Consumo alimentar (Kg) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º com a ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico (T1- dieta padrão da avicultura comercial; T2- dieta aprotéica; T3- MIC 4%; T4- MIC 8% , T5- MIC 12% , T6- MIC 16%; T7- MIA 4%, T8- MIA 8% , T9- MIA 12% e T10- MIA 16%).

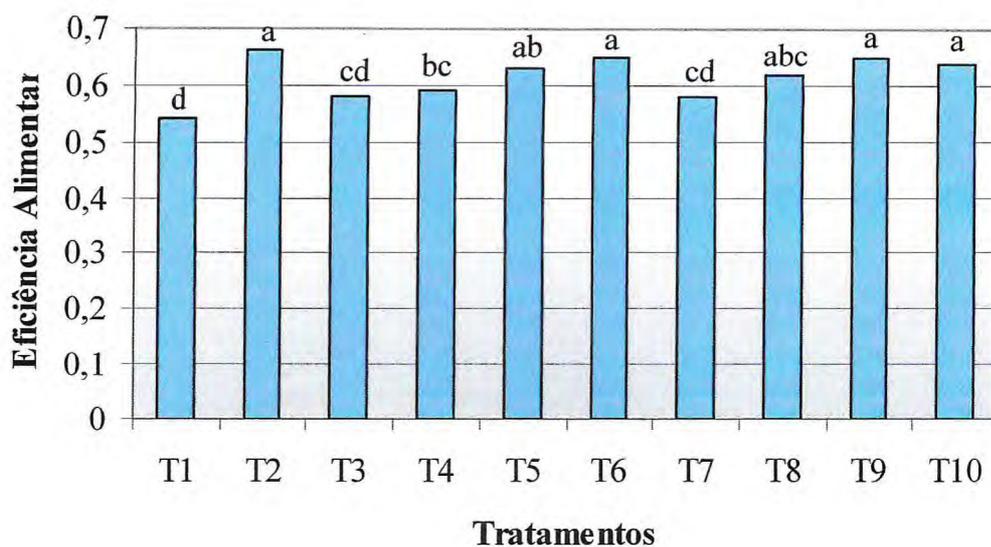


Figura 25 – Eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º com a ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico (T1- dieta padrão da avicultura comercial; T2- dieta aprotéica; T3- MIC 4%; T4- MIC 8% , T5- MIC 12% , T6- MIC 16%; T7- MIA 4%, T8- MIA 8% , T9- MIA 12% e T10- MIA 16%).

Tabela 18 – Peso fresco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com uma ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico

Tratamentos da Fase 1	Proventrículo	Moela	Fígado	Pâncreas	Intestino delgado	Intestino grosso
Padrão (T1)	0,35 ± 0,04d	1,81 ± 0,29b	1,84 ± 0,09d	0,21 ± 0,04d	2,08 ± 0,26d	0,59 ± 0,10a
Aprotéica (T2)	0,58 ± 0,10a	2,61 ± 0,13a	2,92 ± 0,24a	0,34 ± 0,04ab	3,20 ± 0,35ab	0,81 ± 0,07a
MIC [§]						
4% (T3)	0,44 ± 0,05bcd	2,06 ± 0,53ab	2,24 ± 0,29bcd	0,24 ± 0,03cd	2,36 ± 0,17cd	0,62 ± 0,05a
8% (T4)	0,52 ± 0,09ab	2,47 ± 0,25ab	2,45 ± 0,24abc	0,29 ± 0,01abcd	2,94 ± 0,36abc	0,80 ± 0,04a
12% (T5)	0,58 ± 0,12a	2,39 ± 0,30ab	2,54 ± 0,13abc	0,34 ± 0,06ab	2,81 ± 0,39abcd	0,75 ± 0,06a
16% (T6)	0,52 ± 0,06ab	2,43 ± 0,31ab	2,39 ± 0,17bc	0,30 ± 0,03abc	2,92 ± 0,14abc	0,76 ± 0,07a
MIA [#]						
4% (T7)	0,40 ± 0,05cd	2,06 ± 0,19ab	2,17 ± 0,19cd	0,23 ± 0,01cd	2,26 ± 0,33cd	0,65 ± 0,10a
8% (T8)	0,48 ± 0,04abc	2,03 ± 0,32ab	2,45 ± 0,24abc	0,27 ± 0,03bcd	2,75 ± 0,47bcd	0,70 ± 0,03a
12% (T9)	0,53 ± 0,04ab	2,33 ± 0,23ab	2,66 ± 0,24abc	0,36 ± 0,05a	3,53 ± 0,03a	0,72 ± 0,14a
16% (T10)	0,55 ± 0,10ab	2,45 ± 0,43ab	2,71 ± 0,17ab	0,30 ± 0,05abc	2,78 ± 0,27bcd	0,78 ± 0,17a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

[§] MIC – Moringa Integral Crua; [#] MIA – Moringa Integral Autoclavada.

Tabela 19 – Peso seco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com uma ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico

Tratamentos da Fase 1		Proventrículo	Moela	Fígado	Pâncreas	Intestino delgado	Intestino grosso
Padrão	(T1)	0,20 ± 0,01f	1,10 ± 0,21c	1,49 ± 0,36bc	0,12 ± 0,01d	1,20 ± 0,23d	0,31 ± 0,06c
Aprotéica	(T2)	0,43 ± 0,06abc	2,15 ± 0,28a	2,15 ± 0,05a	0,22 ± 0,03abc	2,24 ± 0,28ab	0,47 ± 0,08ab
MIC							
	4% (T3)	0,32 ± 0,09def	1,56 ± 0,40b	1,48 ± 0,29bc	0,21 ± 0,07bc	1,54 ± 0,18cd	0,37 ± 0,03bc
	8% (T4)	0,36 ± 0,09bcde	1,97 ± 0,22ab	2,02 ± 0,26a	0,24 ± 0,04ab	2,11 ± 0,23ab	0,46 ± 0,10ab
	12% (T5)	0,43 ± 0,10abcd	1,88 ± 0,30ab	2,18 ± 0,50a	0,24 ± 0,04ab	1,82 ± 0,25bc	0,45 ± 0,02ab
	16% (T6)	0,45 ± 0,06ab	2,04 ± 0,36ab	1,77 ± 0,16abc	0,23 ± 0,03abc	2,21 ± 0,12ab	0,44 ± 0,06ab
MIA							
	4% (T7)	0,31 ± 0,04ef	1,77 ± 0,19ab	1,37 ± 0,24c	0,16 ± 0,02cd	1,58 ± 0,29cd	0,39 ± 0,06abc
	8% (T8)	0,29 ± 0,20cdef	1,86 ± 0,43ab	1,95 ± 0,38ab	0,23 ± 0,05abc	2,15 ± 0,56ab	0,46 ± 0,05ab
	12% (T9)	0,47 ± 0,04a	2,11 ± 0,30a	2,07 ± 0,27a	0,29 ± 0,04a	2,56 ± 0,14a	0,47 ± 0,06ab
	16% (T10)	0,44 ± 0,05abc	2,01 ± 0,35ab	2,10 ± 0,41a	0,23 ± 0,06abc	2,03 ± 0,37b	0,49 ± 0,09a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

§ MIC – Moringa Integral Crua; # MIA – Moringa Integral Autoclavada.

6.7.2 – Ensaio Biológico 2

No ensaio biológico 2, dietas experimentais foram compostas por sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)**, sendo testado um nível de substituição mais baixo (2%), e por **Moringa Extraída (ME)**, isto é, sem as proteínas coagulantes (item 5.4), nos níveis de substituição de 4% e 16%. A dieta controle foi composta por dieta padrão, utilizada pela avicultura comercial. As finalidades desse segundo ensaio biológico foram avaliar se as proteínas coagulantes constituíam fatores tóxicos e/ou antinutricionais e averiguar se o nível de substituição de 2% com MIC seria viável, tendo em vista que no ensaio biológico 1, mesmo o nível de 4% foi prejudicial aos animais.

6.7.2.1 – Composição Química Centesimal das Sementes de *M. oleifera* Cruas Após a Extração das Proteínas Coagulantes

Os resultados da análise proximal (Figura 26) mostraram que os teores de proteína ($34,96 \pm 0,60\%$) e de lipídios ($58,45 \pm 1,0\%$) da moringa extraída foram mais altos que os teores encontrados para as sementes integrais de moringa cruas e autoclavadas. Isto se deveu à retirada da casca das sementes na metodologia utilizada para a remoção das proteínas coagulantes, que implicou em queda acentuada no teor de fibra bruta e conseqüente aumento no teor dos outros constituintes. Os teores de fibra em detergente neutro ($14,98 \pm 0,90\%$) e fibra em detergente ácido ($10,30 \pm 1,35\%$) foram bem mais baixos que aqueles encontrados para sementes de moringa cruas e autoclavadas, sendo isto, também, decorrente da remoção da casca. Já o teor de fibra alimentar ($35,10 \pm 1,80\%$) apresentou valores similares aos da moringa autoclavada ($37,04 \pm 0,20\%$) e mais baixos que os valores observados na farinha de sementes de moringa cruas ($40,28 \pm 1,18\%$).

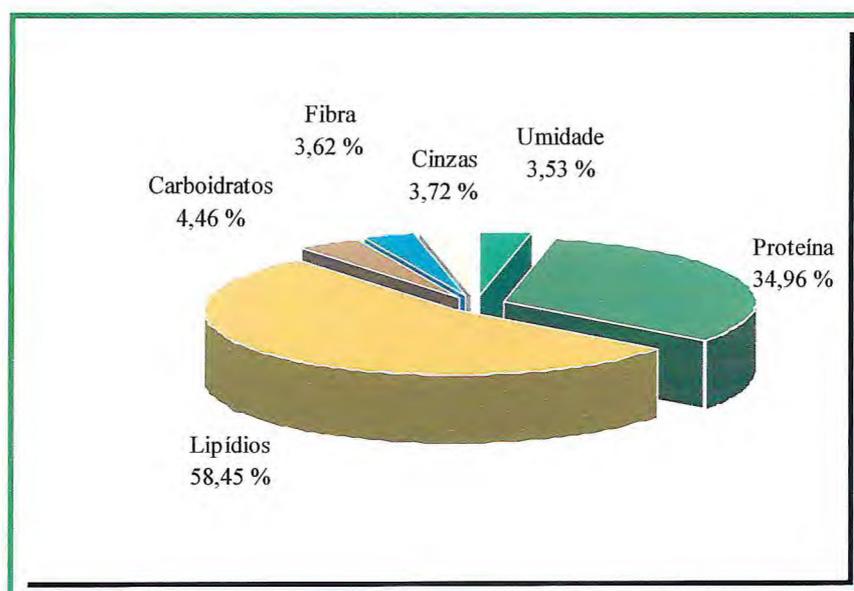


Figura 26 – Composição proximal da farinha de sementes de *Moringa oleifera* após a extração das proteínas coagulantes (Moringa Extraída), expressa em percentual do peso seco.

6.7.2.2 – Determinação de Minerais das Sementes de *M. oleifera* Cruas Após a Extração das Proteínas Coagulantes

Os resultados das análises de determinação de macro e microminerais da farinha de sementes de moringa após a extração das proteínas coagulantes estão mostrados na Tabela 20. O processo de extração causou decréscimo acentuado nos teores de cálcio, potássio, sódio e cobre, quando comparados com as amostras de moringa analisadas anteriormente (crua e autoclavada). Isto é sugestivo de que o processo de remoção das proteínas coagulantes levou consigo parte dos minerais. Em termos comparativos com a soja, os valores de sódio, potássio, ferro e cobre foram bem inferiores aos da soja.

6.7.2.3 – Caracterização Química e Físico-Química das Proteínas de Sementes de *M. oleifera* Após a Extração das Proteínas Coagulantes

6.7.2.3.1 – Composição em Aminoácidos

O resultado da análise da composição em aminoácidos da moringa sem as proteínas coagulantes está mostrado na Tabela 21. O resultado obtido foi comparado com a composição média de aminoácidos de sementes de soja. A comparação revelou que os aminoácidos essenciais leucina, tirosina e lisina apresentaram teores notadamente inferiores aos da soja. Em relação aos aminoácidos não-essenciais, a farinha mostrou-se rica, principalmente, em alanina e prolina.

Tabela 20 – Composição em macrominerais (cálcio, magnésio, fósforo, potássio e sódio) e microminerais (ferro, cobre, zinco e manganês) da farinha de sementes de *Moringa oleifera* após a extração das proteínas coagulantes (ME, Moringa Extraída), comparada com a composição do farelo de soja

Amostras	Cálcio (%)	Magnésio (%)	Fósforo (%)	Potássio (%)	Sódio (%)	Ferro (Ppm)	Cobre (ppm)	Zinco (ppm)	Manganês (ppm)
ME	0,20	0,31	1,92	0,30	0,02	67,72	2,39	60,68	16,65
Farelo de Soja*	0,24	0,20	0,54	1,79	41,55	114,85	16,85	45,83	16,85

* Valores determinados por Rodrigues *et al.*, 2002.

Tabela 21 – Composição em aminoácidos (g/100 g proteína) das farinhas de sementes de *Moringa oleifera* após a extração das proteínas coagulantes (ME - Moringa Extraída) comparada com a composição de sementes de soja

Aminoácidos	ME	Soja**
Asx	4,51	12,00
Thr*	10,99	3,86
Ser*	7,31	4,66
Glx	7,86	19,58
Gly*	18,35	3,90
Ala	9,66	4,20
Cys*	1,61	1,46
Val*	6,41	4,65
Met*	2,58	1,46
Ile*	6,81	4,11
Leu*	2,55	7,59
Tyr*	1,43	4,64
Phe*	3,60	4,64
His*	3,91	2,71
Lys*	1,27	6,39
Arg*	7,85	7,64
Pro	10,86	5,68
Trp*	0,66	0,89

* Aminoácidos essenciais para frangos de corte na fase inicial (1-21 dias).

** Valores baseados na média dos resultados apresentados por Vasconcelos *et al.* (1997), Petzke *et al.* (1997), Maia (1998), Vieira *et al.* (1999), Zarkadas *et al.* (1999), Friedman e Brandon (2001), Sousa (2001), Vasconcelos *et al.* (2001) e Brasil (2002).

6.7.2.3.2 – Eletroforese em Gel de Tricina em Condições Desnaturantes

O perfil eletroforético para a farinha de moringa sem as proteínas coagulantes mostrou-se bastante similar aos perfis das farinhas de sementes cruas e autoclavadas. As bandas protéicas mais proeminentes apresentaram massas moleculares aparentes na faixa de 10 kDa (Figura 27).

6.7.2.4 - Detecção e/ou Dosagem de Compostos Com Propriedades Tóxicas e/ou Antinutricionais em Sementes de *M. oleifera* Após a Extração das Proteínas Coagulantes

6.7.2.4.1 – Lectinas

A atividade hemaglutinante do extrato total dialisado e não dialisado preparado com a farinha de moringa após a extração das proteínas coagulante, seguindo o esquema mostrado na Figura 5, foi testada frente a suspensões (2%) de eritrócitos de seres humanos (sistema ABO), de coelho e de galinha, tratados e não tratados com tripsina. O extrato dialisado não apresentou resultado positivo para nenhum dos tipos de eritrócitos utilizados. Já o extrato não dialisado foi capaz de aglutinar eritrócitos de galinha, apresentando atividade específica de $6,2 \pm 0,54$ UH/mg P (Tabela 22).

6.7.2.4.2 – Inibidores de Tripsina

A atividade inibidora de tripsina não foi detectada na moringa após a remoção das proteínas coagulantes (Tabela 22).

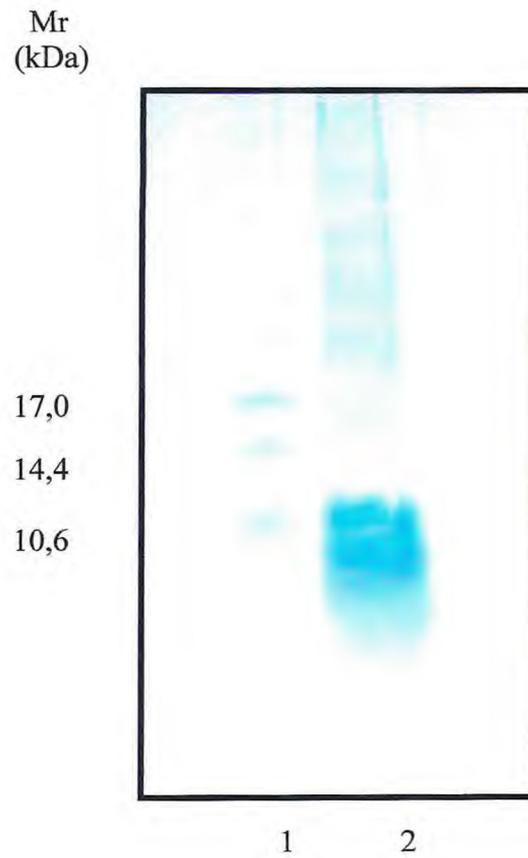


Figura 27 - Eletroforese em gel de tricina na presença de SDS e β -mercaptoetanol da farinha de sementes de *Moringa oleifera* após a extração das proteínas coagulantes. 1) Marcadores de massa molecular: mioglobina (17,0 kDa); mioglobina I+II (14,4 kDa); mioglobina I+III (10,6 kDa); mioglobina I (8,2 kDa); mioglobina II (6,2 kDa) e mioglobina III (2,5 kDa) e 2) **Moringa Extraída (ME)**.

6.7.2.4.3 – Toxinas

O extrato total dialisado da farinha de moringa após a remoção das proteínas coagulantes não apresentou toxicidade quando injetado intraperitonealmente em camundongos. Porém, o extrato não dialisado foi capaz de causar a morte desses animais (DL_{50} de $2,30 \pm 0,22$ mg P/10 g de peso corporal de camundongo), dentro de um período de 12 horas (Tabela 22). Os sintomas apresentados pelos animais foram anorexia e apatia.

6.7.2.4.4 – Urease

A moringa após a remoção das proteínas coagulantes apresentou atividade ureásica correspondente a $52,13 \pm 1,11$ U/mgF (Tabela 22), atividade esta semelhante àquela encontrada na moringa integral crua.

6.7.2.4.5 – Taninos

Nas condições de ensaio empregadas, não foi detectada a presença de taninos na moringa submetida ao processo de remoção das proteínas coagulantes (Tabela 23).

6.7.2.4.6 – Saponinas

Saponinas foram detectadas na farinha de sementes de moringa, mesmo após a remoção das proteínas coagulantes (Tabela 23).

6.7.2.4.7 – Glicosídeos cianogênicos

Glicosídeos cianogênicos não foram identificados na farinha de sementes moringa, após extração das proteínas coagulantes (Tabela 23).

6.7.2.4.8 – Alcalóides

A farinha de sementes de moringa destituída de proteínas coagulantes mostrou-se negativa frente ao ensaio utilizado para detecção de alcalóides (Tabela 23).

Tabela 22 – Atividades hemaglutinante, inibidora de tripsina, tóxica e ureásica dos extratos brutos obtidos a partir de farinha de sementes de *Moringa oleifera* após a extração das proteínas coagulantes (ME - Moringa Extraída)

Amostra	Atividade hemaglutinante (UH/mgP) [*]	Atividade inibidora de tripsina (UI) ^{**}	Atividade tóxica (DL ₅₀) [#]	Atividade ureásica (U/mgF) ^{&}
ME	6,20 ± 0,54	ND ^δ	2,30 ± 0,22	52,13 ± 1,11

Os valores representam média ± desvio padrão de três determinações.

* UH significa unidade de hemaglutinação, que representa o valor recíproco da maior diluição capaz de causar aglutinação visível de eritrócitos a olho nu.

** UI significa unidade de inibição. Uma UI corresponde a um miligrama de tripsina inibida por grama de farinha.

DL₅₀ foi definida como a quantidade de proteína (em mg de proteína para 10 g de peso corporal de camundongo) capaz de causar morte em 50% dos animais testados.

& Avaliada em relação a uma curva obtida com urease comercial (Sigma 41H7008 – 870.000 U/g).

δ ND - Não detectada.

Tabela 23 – Análise qualitativa* da presença de taninos, saponinas, glicosídeos cianogênicos e alcalóides em farinha de sementes de *Moringa oleifera* após a extração das proteínas coagulantes (ME - Moringa Extraída)

Amostras	Taninos	Saponinas	Glicosídeos Cianogênicos	Alcalóides
ME	ND**	positivo	ND	ND

* Resultados de três análises.

** ND - Não detectado.

6.7.2.5 – Avaliação da Qualidade Nutricional de Farinha de Semente Integral Crua, em Nível de Inclusão Mais Baixo, e da Farinha de Sementes de *M. oleifera* Após a Extração das Proteínas Coagulantes

Fase 1 ou Fase Inicial (8º ao 21º dia de idade dos animais) do Ensaio Biológico 2

6.7.2.5.1 – Determinação da Energia Bruta, Metabolizável Aparente e Aparente Corrigida para o Nitrogênio

A energia bruta da farinha de sementes de moringa, após a extração das proteínas coagulantes, ficou em torno de 7.000 Kcal/g, com base na matéria natural. Esse valor foi superior ao determinado para as sementes de moringa cruas e autoclavadas e pode ser justificado pelo maior conteúdo relativo de lipídios e proteínas que a moringa extraída apresenta. Os valores de energia metabolizável aparente (EMA) e de energia metabolizável aparente corrigida (EMAn) foram 5.780 ± 130 Kcal/g de matéria natural e 5.390 ± 360 Kcal/g de matéria natural, respectivamente.

6.7.2.5.2 – Avaliação dos Parâmetros Nutricionais

O consumo alimentar, o ganho de peso e a eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia de idade (Fase 1) estão mostrados na Tabela 24. O consumo dos animais que ingeriram a ração que continha a moringa destituída das proteínas coagulantes a 4% não diferiu significativamente ($p > 0,05$) do consumo apresentado pelos animais da dieta controle. Apesar disso, o ganho de peso e a eficiência alimentar não se equipararam aos valores apresentados pelos animais submetidos à ração comercial. Foi observado ainda que, mesmo em um nível de substituição mais baixo (2%), a moringa crua exerceu um efeito negativo sobre o consumo, quando comparado ao controle, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$) do tratamento englobando a moringa extraída a 16%. Houve redução do ganho de peso, tanto para o grupo que recebeu a moringa integral crua a 2%, quanto para

aquele cuja dieta era composta por moringa extraída a 16%. Além disso, nestes dois tratamentos foi verificada baixa eficiência alimentar, quando comparados ao controle. Talvez, a presença de saponinas possa ter contribuído para diminuição do consumo alimentar em virtude do sabor amargo que proporciona aos alimentos.

6.7.2.5.3 – Análise do Peso Fresco e Seco dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte

Ao final da Fase 1, parte dos animais foi sacrificada por deslocamento cervical (2 animais de cada repetição; 8 por tratamento), sendo os órgãos digestórios e as glândulas anexas (proventrículo, moela, intestino delgado, intestino grosso, pâncreas e fígado) retirados, pesados e analisados macroscopicamente. Os pesos fresco e seco do material coletado podem ser visto nas Tabelas 25 e 26, respectivamente. Foi observado aumento significativo ($p < 0,05$) do peso fresco relativo do proventrículo de todos os animais que ingeriram as dietas experimentais, quando comparados ao controle. Os animais que ingeriram a moringa integral crua no nível de substituição de 2% apresentaram, ainda, aumento significativo ($p < 0,05$) do peso fresco da moela e do intestino delgado, em relação aos animais submetidos à dieta padrão usada na avicultura comercial.

Tabela 24 – Ganho de peso, consumo e eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)**, nível de substituição de 2%, e **Moringa Extraída (ME)**[§], em diferentes níveis de substituição (4% e 16%), comparados com os parâmetros obtidos pelos animais submetidos a dieta padrão da avicultura comercial (Fase 1)

Tratamentos	Ganho de peso* (Kg)	Consumo** (Kg)	Eficiência alimentar*** g/100 g
Padrão (T1)	0,67 ± 0,01a	0,97 ± 0,02a	0,69 ± 0,01a
MIC 2% (T2)	0,47 ± 0,02c	0,79 ± 0,02b	0,59 ± 0,02c
ME			
4% (T3)	0,60 ± 0,03b	0,93 ± 0,05a	0,64 ± 0,01b
16% (T4)	0,41 ± 0,04c	0,73 ± 0,05b	0,57 ± 0,02c

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

[§] Moringa extraída representa a fração resultante após a extração das proteínas coagulantes.

*,** Média de valores individuais (n = 12).

*** Ganho de peso dividido pelo consumo.

Os animais que ingeriram a moringa extraída, em ambos os níveis empregados (4% e 16%), apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) do peso fresco do pâncreas. Em adição, um aumento do peso fresco do intestino delgado, em relação ao controle, também foi detectado nos animais pertencentes ao tratamento com moringa extraída, cujo nível de inclusão foi de 16%.

A análise do peso seco relativo dos órgãos digestórios mostrou que os proventrículos dos animais submetidos às dietas experimentais apresentaram-se significativamente ($p < 0,05$) maiores que os dos animais que ingeriram a dieta controle, resultado semelhante ao encontrado para o peso fresco. Foi observado, ainda, que os animais que consumiram a dieta contendo moringa integral crua a 2% apresentaram aumento de peso seco da moela e do pâncreas e os submetidos à dieta contendo moringa extraída a 16% mostraram aumento de peso do intestino delgado e do intestino grosso, quando comparados ao controle.

É interessante ressaltar que apesar dos animais terem apresentado alterações nos pesos fresco e seco dos órgãos, nenhuma lesão macroscópica foi observada durante a coleta dos mesmos.

Fase 2 ou Ensaio de Crescimento Compensatório do Ensaio Biológico 2 (Fase de Engorda - 22° ao 42° dia de idade dos animais)

O restante das aves (1 ave por repetição - 4 por tratamento) permaneceu nas gaiolas e foi alimentado até os 42 dias de vida (Fase 2) com dieta comercial apropriada para a fase de engorda (Tabela 4). O objetivo deste procedimento foi avaliar a possibilidade de haver crescimento compensatório após a retirada das rações que continham farinha de moringa. Ao final do experimento, foram analisados alguns parâmetros nutricionais, órgãos tubulares e glândulas anexas do sistema digestório.

Tabela 25 – Peso fresco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)**, nível de substituição de 2%, e **Moringa Extraída (ME)***, em diferentes níveis de substituição (4% e 16%), comparado com o peso fresco relativo dos órgãos dos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (Fase 1)

Tratamentos	Proventrículo	Moela	Fígado	Pâncreas	Intestino Delgado	Intestino Grosso
Padrão (T1)	0,61 ± 0,06b	2,74 ± 0,36b	2,75 ± 0,26ab	0,36 ± 0,05b	3,25 ± 0,26b	0,83 ± 0,09ab
MIC 2% (T2)	0,85 ± 0,11a	3,27 ± 0,26a	2,69 ± 0,13b	0,42 ± 0,04ab	3,82 ± 0,23a	0,92 ± 0,09a
ME						
4% (T3)	0,76 ± 0,07a	3,03 ± 0,50ab	2,93 ± 0,18ab	0,46 ± 0,05a	3,36 ± 0,19b	0,79 ± 0,11b
16% (T4)	0,80 ± 0,10a	3,04 ± 0,30ab	3,05 ± 0,30a	0,46 ± 0,09a	3,96 ± 0,41a	0,92 ± 0,08a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

* Moringa extraída representa a fração resultante após a extração das proteínas coagulantes.

Tabela 26 – Peso seco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 8º ao 21º dia com as dietas experimentais contendo sementes de **Moringa Integral Crua (MIC)**, nível de substituição de 2%, e **Moringa Extraída (ME)***, em diferentes níveis de substituição (4% e 16%), comparado com o peso seco relativo dos órgãos dos animais submetidos a uma dieta padrão da avicultura comercial (Fase 1)

Tratamentos	Proventrículo	Moela	Fígado	Pâncreas	Intestino Delgado	Intestino Grosso
Padrão (T1)	0,46 ± 0,06c	2,59 ± 0,37b	2,17 ± 0,19a	0,32 ± 0,06b	2,33 ± 0,17b	0,49 ± 0,06b
MIC 2% (T2)	0,68 ± 0,12a	3,04 ± 0,29a	2,12 ± 0,12a	0,37 ± 0,02a	2,58 ± 0,18b	0,59 ± 0,11ab
ME						
4% (T3)	0,55 ± 0,08b	2,66 ± 0,25ab	2,13 ± 0,19a	0,37 ± 0,04ab	2,49 ± 0,24b	0,50 ± 0,09b
16% (T4)	0,60 ± 0,09ab	2,84 ± 0,37ab	2,37 ± 0,24a	0,38 ± 0,08ab	3,03 ± 0,44a	0,62 ± 0,14a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

* Moringa extraída representa a fração resultante após a extração das proteínas coagulantes.

6.7.2.5.4 – Avaliação dos Parâmetros Nutricionais

Os valores relativos ao consumo alimentar dos animais alimentados do 22º ao 42º dia com dieta comercial (ração de engorda), em substituição às dietas experimentais, não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) quando comparados entre si e com o controle (T1). O mesmo aconteceu para o ganho de peso, tornando-se evidente a rápida recuperação dos animais após a retirada das dietas contendo moringa integral crua a 2% e moringa extraída a 4% e 16%. Foi verificado, ainda, que os animais que haviam ingerido a dieta contendo moringa extraída a 16% no ensaio anterior, tendo apresentado um menor ganho de peso, apresentaram eficiência alimentar maior nessa segunda fase, sendo isto também indicativo de um processo de recuperação (Tabela 27).

A Tabela 28 apresenta a avaliação da evolução do peso corporal dos frangos na Fase 2. Foi observado que no 35º dia do ensaio de crescimento compensatório os animais já não apresentavam diferenças significativas ($p > 0,05$) quando comparados ao controle, ou seja, apresentaram recuperação total de peso.

6.7.2.5.5 – Análise do Peso Fresco e Seco dos Órgãos e Glândulas Anexas do Sistema Digestório de Frangos de Corte

A análise dos órgãos tubulares e glândulas anexas do sistema digestório dos animais submetidos ao ensaio de crescimento compensatório revelou que, em geral, as dietas experimentais (T2, T3 e T4) não induziram alterações nos pesos frescos (Tabela 29) e secos (Tabela 30) relativos, já que os valores encontrados não diferiram significativamente ($p > 0,05$) daqueles apresentados pelos animais do tratamento controle (T1). Exceções foram os pesos fresco e seco, do proventrículo dos animais pertencentes ao tratamento contendo a moringa extraída a 16% (T4) e o peso seco do pâncreas dos animais submetidos à dieta contendo moringa integral crua a 2% (T2).

Tabela 27 – Ganho de peso, consumo e eficiência alimentar de frangos de corte alimentados do 21º ao 42º dia de idade com ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico

Tratamentos da Fase 1	Ganho de peso* (Kg)	Consumo** (Kg)	Eficiência alimentar*** g/100 g
Padrão (T1)	1,73 ± 0,13a	2,99 ± 0,16a	0,58 ± 0,01b
MIC [§] 2% (T2)	1,57 ± 0,39a	2,68 ± 0,52a	0,58 ± 0,05ab
ME [#]			
4% (T3)	1,74 ± 0,11a	3,05 ± 0,22a	0,57 ± 0,01b
16% (T4)	1,68 ± 0,17a	2,78 ± 0,26a	0,60 ± 0,01a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey (ganho de peso e consumo) e de Kruskal Wallis (eficiência alimentar).

*,** Média de valores individuais (n = 4).

*** Ganho de peso dividido pelo consumo.

[§] MIC – Moringa Integral Crua.

[#] ME – Moringa Extraída (fração resultante após a extração das proteínas coagulantes).

Tabela 28 – Evolução do peso corporal (Kg) de frangos de corte da alimentados do 22º ao 42º dia de idade (Fase 2) com ração de engorda usada na avicultura comercial

Tratamentos da Fase 1	21 dias	28 dias	35 dias	42 dias
Padrão (T1)	0,79 ± 0,04a	1,25 ± 0,11a	1,84 ± 0,13a	2,51 ± 0,17a
MIC [§] 2% (T2)	0,61 ± 0,06b	1,09 ± 0,06ab	1,61 ± 0,19a	2,18 ± 0,32a
ME [#]				
4% (T3)	0,79 ± 0,04a	1,26 ± 0,09a	1,87 ± 0,16a	2,53 ± 0,11a
16% (T4)	0,57 ± 0,05b	1,06 ± 0,08b	1,60 ± 0,15a	2,25 ± 0,19a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

[§] MIC – Moringa Integral Crua.

[#] ME – Moringa Extraída (fração resultante após a extração das proteínas coagulantes).

Tabela 29 – Peso fresco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico

Tratamentos da Fase 1	Proventrículo	Moela	Fígado	Pâncreas	Intestino Delgado	Intestino Grosso
Padrão (T1)	0,39 ± 0,05b	1,83 ± 0,33a	1,89 ± 0,18a	0,24 ± 0,03a	2,37 ± 0,33a	0,54 ± 0,05ab
MIC [§] 2% (T2)	0,45 ± 0,05ab	1,83 ± 0,22a	1,86 ± 0,25a	0,23 ± 0,03a	2,37 ± 0,25a	0,56 ± 0,06ab
ME [#]						
4% (T3)	0,44 ± 0,05ab	1,74 ± 0,20a	1,80 ± 0,09a	0,26 ± 0,07a	2,16 ± 0,27a	0,51 ± 0,06b
16% (T4)	0,51 ± 0,06a	1,94 ± 0,14a	1,92 ± 0,16a	0,25 ± 0,03a	2,17 ± 0,24a	0,65 ± 0,25a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

[§] MIC – Moringa Integral Crua.

[#] ME – Moringa Extraída (fração resultante após a extração das proteínas coagulantes).

Tabela 30 – Peso seco relativo dos órgãos e glândulas anexas do sistema digestório (g/Kg do peso fresco de carcaça) de frangos de corte alimentados do 22º ao 42º dia de idade com ração de engorda (Fase 2), após terem sido submetidos aos diferentes tratamentos na Fase 1 do ensaio biológico

Tratamentos da Fase 1	Proventrículo**	Moela*	Fígado*	Pâncreas**	Intestino Delgado*	Intestino Grosso*
Padrão (T1)	0,26 ± 0,03b	1,57 ± 0,24a	1,40 ± 0,22a	0,13 ± 0,01b	1,48 ± 0,22a	0,31 ± 0,01a
MIC [§] 2% (T2)	0,29 ± 0,05ab	1,53 ± 0,14a	1,47 ± 0,25a	0,17 ± 0,03a	1,49 ± 0,20a	0,38 ± 0,05a
ME [#]						
4% (T3)	0,24 ± 0,01b	1,57 ± 0,14a	1,52 ± 0,18a	0,14 ± 0,03ab	1,35 ± 0,11a	0,34 ± 0,04a
16% (T4)	0,33 ± 0,06a	1,47 ± 0,24a	1,55 ± 0,15a	0,12 ± 0,02b	1,40 ± 0,23a	0,30 ± 0,03a

Letras diferentes, verticalmente, referem-se a valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey* e de Duncan**.

[§] MIC – Moringa Integral Crua.

[#] ME – Moringa Extraída (fração resultante após a extração das proteínas coagulantes).

7. DISCUSSÃO

As sementes de *Moringa oleifera* utilizadas neste trabalho apresentaram peso médio de $273,20 \pm 2,80$ mg, sendo 74% desse peso correspondente à amêndoa e 26% à casca. Essas características físicas são similares às encontradas por Makkar e Becker (1997), sugerindo a existência de uma certa uniformidade nas características do material obtido a partir dessa espécie vegetal, com pouca influência do local de produção sobre as mesmas.

Os teores de umidade das farinhas analisadas (Tabela 6) foram relativamente baixos (4%), indicando que o material analisado havia sido conservado sob condições adequadas, com reduzidos riscos de deterioração. Segundo Lazzari (1999), para que se possa armazenar sementes e grãos, com um mínimo de perdas qualitativas e quantitativas, é imprescindível a adoção de medidas que previnam o desenvolvimento de fungos e insetos, sendo a umidade e a temperatura os principais fatores responsáveis pelo desenvolvimento desses organismos. Dentre essas medidas, destacam-se a colheita no momento certo, o manejo de pré-limpeza, a secagem e a armazenagem adequada.

Por meio da análise proximal, foi possível reafirmar que as sementes de *M. oleifera* constituem uma excelente fonte de proteínas e lipídios (Tabela 6). As sementes sem casca apresentaram teores de proteínas ($38,52 \pm 0,48\%$) e de lipídios ($41,09 \pm 0,27\%$) similares aos encontrados por outros pesquisadores (MAKKAR e BECKER, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 1999 e ABDULKARIM *et al.*, 2005). Já as sementes com casca apresentaram teores médios de 29% de proteínas e 31% de lipídios.

O tratamento térmico frequentemente proporciona melhora da palatabilidade e aumento da biodisponibilidade de nutrientes através da inativação dos fatores tóxicos e/ou antinutricionais (DEL-VECHIO *et al.*, 2005; FERREIRA *et al.*, 2006). O processamento térmico, de um modo geral, não afetou a composição centesimal das sementes de *M. oleifera* (Tabela 6). Porém, foi observado que os teores de Fibra em Detergente Ácido (FDA) e em Detergente Neutro (FDN) aumentaram após tratamento térmico (Tabela 7). León *et al.* (1998) observaram aumento de FDA em sementes de *Canavalia ensiformis* quando combinaram alta temperatura com tempo mais prolongado de exposição ao calor.

Os teores de minerais (Tabela 8) apresentaram valores similares entre as sementes cruas e autoclavadas, indicando que o tratamento térmico não provocou grandes alterações. Porém, remoção das cascas proporcionou queda no teor de alguns minerais, principalmente o ferro, que foi reduzido de 72,3 ppm na moringa integral crua para 32,0 ppm na moringa sem casca crua e de 62,6 ppm na moringa integral autoclavada para 41,7 ppm na moringa sem casca autoclavada. Agbede e Aleator (2005) observaram que sementes de *C. ensiformis* e *Mucuna puriens* apresentaram diminuição no teor de alguns minerais após a remoção da

casca. Levando-se em conta que a casca das sementes de moringa representa 26% do total da semente, diminuição no conteúdo de minerais após remoção da casca poderia ser esperada. As amostras de moringa apresentaram conteúdos de macrominerais superiores aos determinados por Rodrigues *et al.* (2002) para o farelo de soja. Os teores de cálcio, por exemplo, apresentaram-se dez vezes maior que o apresentado pelo farelo de soja. Com relação aos microminerais, apenas o sódio e o ferro apresentaram valores mais baixos (Tabela 9). A amostra da qual foram removidas as proteínas coagulantes (ME) apresentou uma queda nos teores de cálcio, fósforo, sódio e cobre (Tabela 20), quando comparada com as outras amostras de moringa, indicando que, provavelmente, a extração dessas proteínas levou consigo alguns minerais.

As proteínas são fundamentais para o metabolismo, pois estão relacionadas a processos vitais do organismo. Sabe-se que as exigências de proteína variam, consideravelmente, de acordo com a taxa de crescimento. Os aminoácidos contidos nas proteínas da dieta são utilizados como constituintes estruturais primários de tecidos, como pele, penas, matriz óssea, ligamentos, bem como órgãos e músculos, além de contribuírem para diversas funções metabólicas e serem precursores de constituintes corporais não-protéicos (NRC, 1994). Levando-se em consideração que o valor nutricional de uma proteína depende, primariamente, do perfil e conteúdo de aminoácidos essenciais, estes foram determinados e comparados aos aminoácidos de sementes de soja, que é a fonte de proteína mais utilizada na fabricação de ração para animais. O tratamento térmico causou diminuição dos teores de lisina e cisteína. Provavelmente, isto possa ser explicado pelo fato de que o tratamento térmico possa ocasionar reações, tais como interações de açúcares redutores com aminoácidos, resultando na indisponibilidade e/ou destruição de alguns deles (MACHIELS e ISTASSE, 2002). Com relação à comparação dos teores de aminoácidos essenciais para frango de corte em fase inicial encontrados nas sementes de moringa com a composição média desses aminoácidos encontrados na soja, foi observado que as sementes de moringa apresentaram conteúdos similares, excetuando-se lisina, tirosina e triptofano que foram mais baixos e glicina, que apresentou conteúdo superior.

Ainda em relação às proteínas, foi observado que os extratos brutos das farinhas de sementes de *M. oleifera* cruas e processadas mostraram perfis eletroforéticos semelhantes, sendo observada a mesma distribuição de bandas protéicas nas amostras estudadas, cuja faixa foi de, aproximadamente, 10,6 kDa (Figuras 8 e 27). Ghebremichel *et al.* (2005), ao purificarem uma proteína coagulante da moringa, observaram que a mesma apresentava massa molecular aparente abaixo de 14 kDa. Giffoni (2005) isolou duas proteínas da moringa

com atividade antifúngica e ambas apresentaram-se como uma banda única com massa molecular aparente de 9 kDa. Isto sugere que as proteínas solúveis da moringa, de um modo geral, são pequenas, pois apresentam massa molecular aparente abaixo de 14 kDa.

As sementes tropicais, frequentemente, apresentam altos conteúdos de fatores antinutricionais (HOSSAIN e BECKER, 2002). Esses compostos são responsáveis por efeitos deletérios sobre organismos consumidores, comprometendo a qualidade nutricional dessas sementes.

Os fatores antinutricionais e/ou tóxicos atuam, principalmente, diminuindo a digestibilidade das proteínas e causando lesões na mucosa dos órgãos digestórios, levando a uma diminuição da função absorptiva. Dentre os fatores antinutricionais de origem protéica, foram pesquisados os inibidores de tripsina, porém sua presença não foi detectada em nenhuma das amostras estudadas (Tabelas 11 e 22). Esse resultado está de acordo com os dados obtidos por Oliveira *et al.* (1999) e Makkar e Becker (1997) que, também, não detectaram a presença destes compostos na farinha de sementes de moringa.

A análise dos fatores antinutricionais de natureza protéica incluiu, também, as lectinas. A atividade hemaglutinante representa uma maneira de se detectar a presença de lectinas e é decorrente da capacidade que as lectinas possuem de ligar-se a glicoconjugados presentes nas membranas dos eritrócitos. De acordo com Lis e Sharon (1986), a aglutinação de eritrócitos causada por lectinas pode ser afetada por suas propriedades moleculares, estado metabólico das células e condições do ensaio (temperatura, concentração e agitação). Neste trabalho, a atividade hemaglutinante dos extratos totais dialisados e não dialisados das farinhas de sementes cruas e autoclavadas foi testada frente a suspensões de eritrócitos humanos, de coelho e de galinha, tratados e não tratados com tripsina. Nas condições testadas, somente os extratos não dialisados das farinhas de sementes cruas e de sementes após a extração das proteínas coagulantes foram capazes de aglutinar eritrócitos de galinha, tanto para eritrócitos tripsinizados quanto para eritrócitos não tripsinizados, apresentando atividade específica de $10,39 \pm 0,08$ e de $6,20 \pm 0,54$ UH/mgP, respectivamente (Tabela 11). O resultado obtido mostrou que a remoção das proteínas coagulantes promoveu diminuição significativa das lectinas (Tabela 22) e que o tratamento térmico aboliu completamente a atividade hemaglutinante (Tabela 11), fato esperado tendo em vista que as lectinas são termolábeis. Como neste trabalho não se observou melhora na qualidade nutricional após o tratamento térmico das sementes, pode ser sugerido que a quantidade de lectinas presente nas amostras estudadas não foi suficientemente elevada para que esses compostos desempenhassem papel relevante como fatores antinutricionais. Além disso, os pesos dos órgãos digestórios dos

animais submetidos à dieta contendo sementes de moringa cruas não diferiram significativamente dos pesos dos frangos que ingeriram sementes autoclavadas (Tabelas 15 e 16). Outros autores reportaram-se à presença de lectinas em sementes de moringa. Grant *et al.* (1995), Makkar e Becker (1997) e Oliveira *et al.* (1999) detectaram a presença de lectinas no extrato bruto de sementes de *M. oleifera* cruas frente à suspensão de eritrócitos de coelho. Santos *et al.* (2005) observaram a presença de lectinas no extrato aquoso de *M. oleifera* frente a eritrócitos humanos do tipo A+ e B+. Os efeitos antinutricionais das lectinas estão relacionados à capacidade que elas possuem de sobreviver à passagem através do estômago e do intestino delgado e de interagir com glicoconjugados presentes nas membranas de diversos tipos celulares (GRANT, 1989). Sendo assim, as lectinas podem causar alterações tanto local, quanto sistêmicas. A lectina da soja, por exemplo, pode exercer efeitos que incluem o rápido aumento do peso relativo do intestino delgado e do pâncreas, decréscimo na digestibilidade protéica e na absorção de nitrogênio, alterações nas enzimas intestinais e diminuição no nível de insulina do sangue (GRANT, 1989; GRANT *et al.*, 1993, 1996).

A avaliação da toxicidade intraperitoneal (DL₅₀) dos extratos dialisados de sementes de *M. oleifera* cruas e autoclavadas foi negativa mesmo em doses altas. Porém, os extratos brutos não dialisados das sementes cruas e das sementes após a remoção das proteínas coagulantes foram capazes de causar a morte de camundongos dentro de um período de 12 horas, sendo que a moringa extraída (2,30 ± 0,22 mgP/10g) (Tabela 22) apresentou-se, aproximadamente, duas vezes mais tóxica que a moringa integral crua (4,33 ± 0,22 mgP/10g) (Tabela 11). A atividade tóxica foi completamente abolida na farinha de moringa processada termicamente e não causou morbidade ou mortalidade de camundongos. Este resultado sugere que, provavelmente, as toxinas encontradas no extrato bruto de sementes de *M. oleifera* sejam termolábeis e que o processo de extração das proteínas coagulantes com água destilada não extrai esse composto tóxico, aumentando a toxicidade das sementes por elevar a concentração relativa de toxina no resíduo extraído.

As atividades ureásicas das amostras de farinha de sementes de *M. oleifera* cruas e autoclavadas diferiram significativamente ($p < 0,05$) (Tabela 11), sendo que a moringa integral crua apresentou valores, aproximadamente, cem vezes maiores que os valores encontrados para moringa integral autoclavada, ficando evidente que o tratamento térmico inativou quase totalmente a atividade dessa enzima. A farinha de sementes de *M. oleifera* obtida após a extração das proteínas coagulantes apresentou atividade ureásica semelhante àquela encontrada para moringa integral crua, o que sugere que o processo de extração das proteínas coagulantes não tem influência na extração da urease. Brasil (2002) observou que a

atividade ureásica presente em sementes de soja não foi totalmente abolida mesmo após tratamentos térmicos diversificados (extrusão, desativação e tostagem úmida). Vasconcelos *et al.* (2001) observaram correlação negativa entre a urease presente em sementes de soja e o consumo de alimentos e o ganho de peso de ratos, afetando de forma significativa a Utilização Líquida de Proteína (NPU), a digestibilidade e o peso relativo de órgãos internos dos animais experimentais. Segundo Campello (2003), a urease e as neurotoxinas presentes na soja parecem ter grande importância como fatores antinutricionais e/ou tóxicos para frangos de corte. Neste trabalho, considerando-se que o desempenho dos animais praticamente não diferiu entre os que consumiram sementes de moringa crua e autoclavada, pode ser sugerido que a urease não tenha proporcionado um efeito antinutricional relevante.

Segundo Booth e Wickens (1988), os efeitos deletérios causados pela ingestão de sementes de *M. oleifera* cruas são atribuídos, principalmente, à presença de fatores antinutricionais e/ou tóxicos de natureza não protéica, particularmente saponinas e alcalóides. As saponinas apresentam sabor amargo e propriedades irritantes de mucosa (LEESON e SUMMERS, 2001), com possível efeito deterrente para os animais. A análise qualitativa revelou a presença de saponinas em todas as amostras, inclusive na farinha das sementes após a extração das proteínas coagulantes (Tabelas 12 e 23). Makkar e Becker (1997) quantificaram as saponinas presentes em sementes de *M. oleifera* sem casca e observaram que estas apresentavam 10,6 g/Kg, conteúdo que foi significativamente reduzido após a extração das proteínas coagulantes.

As duas amostras testadas, moringa integral crua (MIC) e moringa integral autoclavada (MIA) apresentaram-se positivas para alcalóides (Tabela 12), indicando que o tratamento térmico não foi capaz de inativar esses compostos. Sabe-se que os sintomas de toxicidade por alcalóides incluem depressão, anorexia, inapetência e diminuição da taxa de crescimento. Além disso, os alcalóides podem causar alterações hepáticas graves, pois são metabolicamente ativados no fígado, levando a produção de moléculas altamente reativas que se ligam ao DNA e a enzimas e proteínas estruturais. Como consequência, além de serem tóxicos para o fígado, são também genotóxicos e carcinógenos potenciais (STEGELMEIER *et al.*, 1999; PRAKASH *et al.*, 1999).

Os animais submetidos às dietas contendo moringa apresentaram lesões hepáticas, sendo que as mais evidentes ocorreram nos tratamentos em que os níveis de substituição foram mais altos (12 e 16% de moringa integral crua e de moringa integral autoclavada) (Figuras 19 e 20). Pode-se deduzir, a partir desse dado, que a hepatotoxicidade foi dose-dependente e que o tratamento térmico não inativou o composto responsável pelos danos

hepáticos. É possível que os alcalóides, assim como as proteínas coagulantes, possam ter tido algum papel no desencadeamento das lesões hepáticas, pois não foram observadas tais lesões após o fornecimento de rações contendo moringa previamente submetida à extração de proteínas coagulantes, prática que remove também os alcalóides.

A investigação de fatores antinutricionais de natureza não protéica nas farinhas das sementes de moringa estudadas incluiu, ainda, os glicosídeos cianogênicos. A análise qualitativa revelou a presença desses compostos apenas na farinha de sementes cruas, ou seja, o processamento térmico e a extração das proteínas coagulantes contribuíram para a inativação e a remoção dos glicosídeos cianogênicos (Tabelas 12 e 23). Makkar e Becker (1997) estimaram o conteúdo de glicosídeos cianogênicos em 5,2 mg/Kg na farinha de sementes de *M. oleifera* sem casca. Segundo Leeson e Summers (2001), os glicosídeos cianogênicos só causam alterações no desempenho de aves quando seu conteúdo na ração final for maior que 100 ppm. Neste trabalho, as sementes utilizadas apresentavam cascas, implicando em uma provável diminuição da concentração desse composto e dos demais citados anteriormente, tendo em vista que as cascas representam em torno de 26% do total das sementes e são desprovidas dessas substâncias. Assim, a quantidade de glicosídeos cianogênicos provavelmente não contribuiu para os efeitos antinutricionais observados.

Embora não se tenha realizado a determinação dos glicosinolatos, dados existentes na literatura mostram que os glicosinolatos e/ou os produtos de sua hidrólise têm sido associados a distúrbios em aves. Nugon-Baudon *et al.* (1988, 1990) demonstraram que bactérias presentes na microbiota intestinal produzem tioglicosidas, capazes de hidrolisar glicosinolatos em subprodutos tóxicos responsáveis pelos efeitos adversos em aves. Entre os efeitos causados pelos glicosinolatos podem ser citados: hemorragia hepática e mortalidade (CAMPBELL, 1987). Além destes, problemas relacionados à diminuição do ganho de peso foram observados em frangos de corte alimentados com dieta rica em glicosinolatos (FENWICK *et al.*, 1989). Makkar e Becker (1997) realizaram análise quantitativa de glicosinolatos em sementes de *M. oleifera* e encontraram 46,4 $\mu\text{mol/g}$ de farinha de sementes cruas sem casca e 4,4 $\mu\text{mol/g}$ na farinha após a extração das proteínas coagulantes, sugerindo que o processo de extração dessas proteínas leva consigo grande parte desses compostos. Neste trabalho, foi observado que, após a remoção das proteínas coagulantes, o consumo de farinha de sementes não ocasionou danos ao fígado dos animais, mesmo no nível de substituição mais alto (16%). É provável que durante o processo de remoção das proteínas coagulantes, o teor de glicosinolatos tenha diminuído ou mesmo tenha sido excluído totalmente da farinha, sendo sugestivo que estes também possam fazer parte dos compostos

que apresentam atividade hepatotóxica, podendo atuar, inclusive, sinergicamente com outros compostos.

Após a análise dos compostos tóxicos e/ou antinutricionais, partiu-se para a avaliação da qualidade nutricional das sementes, que incluiu inicialmente a determinação dos valores energéticos. Foi observado que a energia bruta de sementes de *M. oleifera* é bem elevada. Os valores encontrados ficaram em torno de 6.000 Kcal (moringa integral crua e autoclavada) e 7.000 Kcal (moringa após a extração das proteínas coagulantes) de EB/Kg com base na matéria natural. Os valores encontrados para sementes de moringa se apresentam mais elevados que os determinados para a soja, cujos valores variam de 4.000 a 5.000 Kcal/Kg (RODRIGUES *et al.*, 2002).

De posse dos valores de energia bruta, foi possível determinar a energia metabolizável aparente das farinhas de sementes de *M. oleifera* e, a partir daí, os valores de energia metabolizável aparente corrigida para o nitrogênio. Vários fatores afetam os valores de energia metabolizável, entre os quais a idade das aves (a retenção de nitrogênio é maior em aves durante o período de crescimento), a composição química do alimento, o nível de inclusão do ingrediente teste, a taxa de consumo, a metodologia utilizada para determinação da energia metabolizável e os fatores antinutricionais presentes nos alimentos. Assim, na tentativa de reduzir essas variações, o balanço de nitrogênio (BN) é utilizado, podendo ser negativo ou positivo. Hill e Anderson (1958) propuseram um valor de correção de 8,22 Kcal/g de nitrogênio retido, porque esta é a energia obtida quando o ácido úrico é completamente oxidado. Assim, é possível obter padronização nos valores de Energia Metabolizável Aparente de um mesmo alimento para aves com diferentes taxas de retenção de nitrogênio (POTTER, 1972). Neste trabalho, foi verificado balanço de nitrogênio negativo para os animais que ingeriram as dietas contendo farinha de sementes cruas. Os animais que ingeriram a dieta contendo farinha de sementes autoclavadas apresentaram balanço positivo, podendo ser sugerido que, provavelmente, o processamento térmico proporcionou melhora na digestibilidade e, conseqüentemente, na retenção de nitrogênio pelos animais consumidores.

A energia metabolizável aparente corrigida pelo balanço de nitrogênio (EMAn) das semente cruas e autoclavadas não diferiu estatisticamente, sendo $3.947,0 \pm 430,0$ e $3.253,0 \pm 590,0$ Kcal /kg com base na matéria natural, respectivamente. Já a farinha das sementes após a extração das proteínas coagulantes apresentou valor mais alto ($5.390,0 \pm 360,0$ Kcal/kg com base na matéria natural). Em termos comparativos, foi observado que a moringa integral crua e a autoclavada apresentaram valores de EMAn similares aos do milho (3.447 Kcal/kg) e

maiores que os do farelo de soja (2.266 Kcal/kg), farelo de trigo (1.888 Kcal/kg) e farelo de girassol (1.777 kcal/kg) (ROSTAGNO *et al.*, 2000; STRINGHININ *et al.*, 2000).

Os experimentos nutricionais realizados com pintos revelaram que os animais que ingeriram as dietas contendo *M. oleifera* apresentaram piores performances do que aqueles alimentados com a dieta padrão (ração comercial) e melhores performances do que os animais submetidos à dieta aptotéica. Isto demonstra que a qualidade nutricional das sementes de moringa é inferior à qualidade da dieta controle, porém a presença de suas proteínas ainda proporciona um melhor desempenho do que a total ausência de proteínas na dieta.

Na literatura observa-se que, de um modo geral, ocorre melhoria da qualidade nutricional de sementes após tratamento térmico (PEZZATO *et al.*, 1995; HOSSAIN e BECKER, 2002; BRASIL, 2002; SEENA *et al.*, 2005; REHMAN e SHAH, 2005; UMOREN *et al.*, 2005). Neste trabalho, de um modo geral, os experimentos nutricionais mostraram que o tratamento térmico não proporcionou melhora nos parâmetros nutricionais. Através da análise do consumo alimentar, ficou demonstrado que mesmo níveis de substituição baixos de moringa prejudicaram o consumo e, conseqüentemente, contribuíram para menor ganho de peso (Tabela 13). Foi observado que, à medida que os níveis de substituição aumentaram, ocorreu diminuição significativa do consumo para todas as dietas experimentais, quando comparadas com o controle. Isto mostra que as substâncias que apresentaram poder deterrente não foram inativadas pelo processamento térmico, ou seja, o processamento térmico parece não exercer nenhum efeito benéfico no sentido de melhorar o consumo voluntário das sementes, pelo menos nas condições aqui testadas. Já os animais que ingeriram a farinha das sementes após a remoção das proteínas coagulantes, no nível de substituição de 4%, não apresentaram diferença significativa do consumo quando comparados à dieta controle (Tabela 24). Isto demonstra que o processo de extração das proteínas coagulantes contribuiu para remoção, ainda que parcial, das prováveis substâncias deterrentes.

O menor consumo, por sua vez, acarretou menor ganho de peso. Conseqüentemente, o baixo desempenho dos frangos de corte alimentados com moringa pode ser atribuído, pelo menos em parte, a redução da ingestão alimentar. Verificou-se que, à medida que os níveis de substituição de farinha de sementes cruas ou autoclavadas aumentaram, os animais ganharam menos peso. Porém, os animais que ingeriram ração contendo moringa ganharam mais peso que aqueles submetidos à dieta aptotéica, ficando evidente que as proteínas da moringa foram aproveitadas, ainda que parcialmente (Tabela 13).

No que tange à eficiência alimentar, que relaciona ganho de peso e consumo, observou-se que os grupos de animais que ingeriram percentuais mais elevados de farinha de

sementes de moringa apresentaram diminuição progressiva e significativa da eficiência alimentar quando comparados ao controle. Os grupos experimentais submetidos aos mesmos níveis de substituição com moringa crua ou autoclavada não apresentaram diferenças significativas entre si, ficando evidente que o tratamento térmico não proporcionou melhora na eficiência alimentar (Tabela 13).

O fornecimento adequado de proteína para aves em crescimento tem o objetivo de dar condições às aves expressarem o máximo desenvolvimento corporal, com formação de massa muscular e empenamento. Por outro lado, o fornecimento inadequado de proteína provocará redução no crescimento da ave, como resultado de um provável desvio de proteínas das funções menos vitais para manter as funções mais vitais, prejudicando, assim, o desenvolvimento corporal (NRC, 1994). Na avaliação bioquímica da qualidade nutricional das proteínas obtida através da utilização protéica líquida (NPU), da Razão de Eficiência Protéica (PER) e da Razão de Proteína Líquida (NPR), os valores encontrados de NPU para a moringa crua e autoclavada foram significativamente inferiores aos do grupo alimentado com a ração controle (Tabela 14). O consumo mais baixo e, conseqüentemente, a ingestão reduzida de proteínas, energia, vitaminas e minerais, provavelmente, tiveram influência nessas determinações. Porém, vale salientar que os grupos que ingeriram percentuais mais elevados de moringa apresentaram valores de NPU, PER e NPR menores, o que evidencia a provável ação de compostos com propriedades tóxicas e/ou antinutricionais.

Dado que a digestão protéica no frango de corte inicia-se no proventrículo (MACARI *et al.*, 1994), esse órgão foi um dos escolhidos para se avaliar possíveis alterações estruturais ocasionadas por fatores antinutricionais. Além do proventrículo, também moela, fígado, pâncreas, intestinos delgado e grosso foram selecionados por suas importâncias nos processos digestivos. Durante a coleta dos órgãos, foram observadas alterações macroscópicas no intestino delgado e fígado dos animais que ingeriram rações contendo moringa crua e autoclavada. As principais alterações observadas no intestino ocorreram nos animais que ingeriram a moringa autoclavada (Figuras 18, 20 a 22), sendo sugestivo de que, provavelmente, o processo de autoclavagem possa ter desencadeado a formação de compostos tóxicos com sítio de ação no intestino. É sabido que alguns compostos tóxicos e/ou antinutricionais não são tóxicos *per se*, mas somente após sofrerem hidrólise ou algum outro processo que proporcione a liberação de subprodutos tóxicos (LEESON e SUMMERS, 2001). Desta forma, é possível que o processo de autoclavagem tenha, de alguma forma, contribuído para a formação de novos compostos.

As lesões necróticas hepáticas ocorreram com mais frequência nos animais alimentados com níveis de substituição de moringa mais elevados. Isto é sugestivo de que o composto hepatotóxico atua de forma mais evidente quando presente em concentrações altas e que o tratamento térmico não o inativa, visto que tanto os animais que ingeriram a dieta contendo moringa crua quanto os que ingeriram a dieta contendo moringa autoclavada apresentaram lesões. Já os animais que ingeriram a dieta contendo farinha de moringa após a extração das proteínas coagulantes não apresentaram lesões, sugerindo que essas proteínas sejam as responsáveis por esses efeitos tóxicos ou que o processo de remoção das mesmas levou consigo os prováveis compostos causadores das lesões. É interessante ressaltar que as proteínas coagulantes são termorresistentes, pois, segundo Ghebremichael *et al.* (2005), mesmo após 5 horas de exposição à temperatura de 95 °C, essas proteínas continuaram ativas.

A análise dos pesos frescos e secos relativos do proventrículo, fígado, moela, pâncreas, intestino delgado e intestino grosso revelou que os órgãos dos animais que ingeriram dietas contendo moringa crua e autoclavada apresentaram, de um modo geral, aumento de peso quando comparados aos órgãos dos animais que ingeriram a dieta controle (Tabelas 15 e 16). Esse aumento foi progressivamente maior à medida que o nível de substituição por moringa na ração aumentou. Quando se associa esse aumento de peso com as lesões, é possível supor que este foi causado por algum fator tóxico e/ou antinutricional. Porém, levando-se em consideração que o consumo de ração foi mais reduzido nesses animais, surgem dúvidas, não sendo possível afirmar se os compostos tóxicos e/ou antinutricionais causaram aumento dos órgãos ou se, simplesmente, a diminuição do consumo implicou em redução do peso corporal acompanhada da preservação destes, ou ainda, se ambos os fenômenos ocorreram simultaneamente.

A análise dos dados referentes aos ensaios biológicos demonstraram que, em termos de desempenho animal, os resultados obtidos com moringa crua, autoclavada e extraída foram, de forma geral, inferiores aos obtidos com a dieta utilizada na avicultura comercial. Decidiu-se, então, realizar ensaios de crescimento compensatório (Fase 2), objetivando avaliar o desempenho dos animais após a retirada da farinha de sementes de *M. oleifera* das rações. Caso houvesse recuperação dos animais, seria possível avaliar a possibilidade de inclusão de moringa em apenas uma etapa do ciclo produtivo do frango de corte.

As análises dos dados referentes aos parâmetros nutricionais revelaram que os animais que apresentaram melhor desempenho foram aqueles que, durante a primeira fase, tiveram os níveis de inclusão de moringa menores, podendo ser inferido que a recuperação destes foi mais rápida devido à menor exposição à toxicidade da moringa durante a primeira fase. Com

relação ao tratamento térmico, este não influenciou no ganho de peso dos animais na segunda fase, pois não houve diferença significativa entre os animais que haviam ingerido moringa crua e autoclavada. Porém, os animais que ingeriram moringa após a remoção das proteínas coagulantes (4% e 16%) e moringa integral crua a 2% na primeira fase, apresentaram consumo alimentar e ganho de peso similar ao controle na segunda fase, não apresentando diferença significativa. Tal fato é sugestivo de que a remoção das proteínas das sementes de moringa utilizada nas rações na primeira fase contribuiu para um melhor desempenho na segunda, possivelmente por reduzir eventuais efeitos residuais dessas proteínas e de outros fatores antinutricionais. A avaliação da evolução do peso desses animais revelou ainda que, no 35º dia do ensaio de crescimento compensatório, os animais já não apresentavam diferenças significativas quando comparados ao controle, ou seja, apresentaram recuperação de peso relativamente rápida.

A análise dos pesos frescos e secos dos órgãos dos animais submetidos ao ensaio de crescimento compensatório revelou que estes, em sua maioria, estavam maiores que os do controle (Tabelas 18 e 19). Isto significa que, mesmo 21 dias após a suspensão das dietas que continham moringa crua e autoclavada, parte dos órgãos dos animais submetidos às dietas testes ainda apresentaram-se maiores. Porém, nenhuma lesão macroscópica foi observada. Já os animais que ingeriram moringa extraída (4% e 16%) e moringa integral crua (2%) na primeira fase apresentaram, ao final do ensaio de crescimento compensatório, peso fresco e seco dos órgãos similar ao peso dos órgãos dos animais submetidos à dieta controle (Tabelas 29 e 30). Tal fato pode ser um indício de que os fatores tóxicos e/ou antinutricionais existentes na moringa extraída ou na moringa integral crua (2%) usadas na ração fornecida na fase inicial não estavam presentes em quantidades suficientes para causar efeitos residuais após sua remoção da dieta.

Diante do exposto, conclui-se que, em termos gerais, a farinha de sementes de *M. oleifera* apresenta composição centesimal, mineral e aminoacídica que permite considerá-la como ingrediente para a alimentação animal. No entanto, não se trata de uma alternativa satisfatória e inócua. Foi observado que o tratamento térmico não contribuiu para melhoria da qualidade nutricional das sementes. Porém, remoção das proteínas coagulantes acarretou redução nos níveis de fatores antinutricionais e, possivelmente como consequência melhora no desempenho dos animais. Assim, a remoção de proteínas coagulantes mostrou-se mais eficiente que o tratamento térmico na redução desses constituintes.

De acordo com os resultados dos ensaios de desempenho e de crescimento compensatório dos dois experimentos, foi determinado que a utilização de 4% ou, ainda, um

pouco mais alta, da farinha de sementes após a extração de proteínas coagulantes pode ser utilizada em rações iniciais para frangos de corte. A decisão em substituir a soja e o milho pela farinha de sementes de moringa deve ser analisada em função do preço e da disponibilidade do produto.

Em termos de perspectivas, estudos posteriores baseados nos resultados obtidos nesse trabalho podem ser planejados com o objetivo de avaliar outras possíveis formas de remoção de compostos potencialmente tóxicos e/ou antinutricionais da moringa. Como o tratamento térmico empregado não promoveu melhora significativa na qualidade nutricional das sementes, novos tipos de processamentos ou novas condições aliados à remoção das proteínas coagulantes devem ser testados, pois compostos termoresistentes atuaram como fatores tóxicos e/ou antinutricionais, comprometendo o desempenho de frangos de corte, promovendo aumento de peso relativo dos órgãos e lesões hepáticas e intestinais. Além disso, o isolamento de substâncias antinutricionais e/ou tóxicas presentes na moringa pode ser a chave para a descoberta da utilização segura do potencial nutricional máximo dessa semente.

8. CONCLUSÕES

Com base na composição centesimal, mineral e aminoacídica e no teor energético, as sementes de *Moringa oleifera* poderiam ser consideradas um ingrediente potencialmente utilizável na alimentação animal, como eventual substituto da soja e do milho.

No entanto, a inclusão de sementes cruas ou autoclavadas em rações para frangos de corte não permitiu a obtenção de resultados satisfatórios quanto ao desempenho dos animais, quando comparado ao grupo controle (ração comercial).

O processo de autoclavagem não resultou em melhoria da qualidade nutricional, mostrando que o baixo desempenho dos animais não se deve ao efeito de compostos termolábeis.

A remoção das proteínas coagulantes foi capaz de proporcionar um melhor desempenho dos animais experimentais, ainda que alguns parâmetros tenham se mostrado inferiores aos do grupo controle.

Os componentes responsáveis pelo baixo desempenho dos animais não produziram efeitos residuais sobre o ganho de peso, já que os animais passaram a apresentar desempenho satisfatório quando a ração teste foi substituída pela comercial. Houve, contudo, efeito residual sobre os órgãos digestórios.

Estudos adicionais são necessários no intuito de identificar precisamente os compostos responsáveis pelo baixo desempenho dos animais, a fim de que se possa definir o tipo e as condições de processamento que devem ser empregados para garantir o pleno aproveitamento do potencial nutricional desta espécie.

9. REFERÊNCIAS

- ABDULKARIM, S. M. et al. Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. **Food Chemistry**, v. 93, p. 253–263, 2005.
- AGBEDE, J. O.; ALETOR, V. A. Studies of the chemical composition and protein quality evaluation of differently processed *Canavalia ensiformis* and *Mucuna pruriens* seed flours. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 89–103, 2005.
- ALLEN, J. R.; CHILDS, G. R.; CRAVENS, W. W. *Crotalaria spectabilis* toxicity in chickens. **Proceedings for the Society of Experimental Biology and Medicine**, v. 104, p. 434-436, 1960.
- ANWAR, F.; ASHRAF, M.; BHANGER, M. I. Interprovenance variation in the composition of *Moringa oleifera* oilseeds from Pakistan. **Journal of American Oil Chemists Society**, v. 82, n. 1, p. 45–51, 2005.
- ANWAR, F.; BHANGER, M. I. Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6558–6563, 2003.
- ANWAR, F. et. al. Enhancement of the oxidative stability of some vegetable oils by blending with *Moringa oleifera* oil. **Food Chemistry** (2006) article in press. Disponível em : <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 16 jan. 2006.
- AREGHEORE, E. M. Intake and digestibility of *Moringa oleifera*-batiki grass mixtures by growing goats. **Small Ruminants Research**, v. 46, p. 23–28, 2002.
- ARMOUR, J. C. et al. Protease inhibitors and lectins in soya beans and effects of aqueous heat-treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 78, p. 225-231, 1998.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 12th ed. Washington, D.C., 1970. 1094 p.
- _____. **Official Methods of Analysis**, 15th ed., Arlington, VA, 1990. p. 1298.
- _____. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16th ed. Gaitheersburg, 1997.
- BAU, H. et al. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 73, p. 1-9, 1998.
- BECKER, K.; MAKKAR, H. P. S. Effects of dietary tannic acid and quebracho tannin on growth performance and metabolic rates of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Aquaculture**, v. 175, p. 327–335, 1999.
- BENDER, A. E.; DOELL, B. H. Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. **The British Journal of Nutrition**, v. 11, p. 138-143, 1957.

BERGER, M. R. et al. Toxicological assessment of seeds from *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*, two highly efficient primary coagulants for domestic water treatment of tropical raw waters. **East African Medical Journal**, v. 61, n. 9, p. 712-716, 1984.

BIDLINGMEYER, B. A.; COHEN, S. A.; TARVIN, T. L. Rapid analysis of amino acids using pre-column derivatization. **Journal of Chromatography**. Amsterdam, v. 336, n. 1, p. 93-104, 1984.

BOOTH, F. E. M.; WICKENS G. E. **Non-timber uses of selected arid zone trees and shrubs in Africa**. Rome: FAO, 1988. 101 p.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities for proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL, I. C. F. **Avaliação bioquímica e nutricional da soja comercial submetidas a diferentes processamentos**. 2002. 108 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

BROIN, M. et al. Flocculent activity of a recombinant protein from *Moringa oleifera* Lam. seeds. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 60, p. 114-119, 2002.

CAMPBELL, L. D. Intact glucosinolates and glucosinolate hydrolysis products as causative agents in liver hemorrhage in laying hens. **Nutr. Rep. Int.**, v. 36, p. 491-496, 1987.

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**. Fortaleza. 2003. 179 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

CARCERES, A. et al. Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 1: preliminary screening for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 33, p. 213-216, 1991.

_____. Pharmacological properties of *Moringa oleifera* 2: screening for antispasmodic, anti-inflammatory and diuretic activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 36, p. 233-237, 1992.

CHUANG, P. H. et al. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 232-236, 2007.

CORBETT, P. It is time for an oil change! Opportunities for high oleic vegetables oils. **Inform.**, v. 14, p. 480-481, 2003.

CUSSAC, V.; FERRERO, R. L., LABIGNE, A. Expression of *Helicobacter pylori* urease genes in *Escherichia coli* grow under nitrogen- limiting conditions. **Journal of Bacteriology**, v. 174, p. 2466-2473, 1992.

DAHOT, M. U. Antimicrobial activity of small protein of *Moringa oleifera* leaves. **J. Is. Acad. Sci.**, v. 11, n. 1, p. 111-113, 1998.

DAHOT, M. U.; MEMON, A. R. Nutritive significance of oil extracted from *Moringa oleifera* seeds. **Journal of Pharmacology**, v. 20, p. 75–79, 1985.

DANGI, S. Y.; JOLLY, C. I.; NARAYANA, S. Antihypertensive activity of the total alkaloids from the leaves of *Moringa oleifera*. **Pharma. Biol.**, v. 40, n. 2, p. 144–148, 2002.

DEL-VECHIO, G. et al. Efeito do Tratamento Térmico em Sementes de Abóboras (*Cucurbita* spp.) Sobre os Níveis de Fatores Antinutricionais e/ou Tóxicos. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 2, p.369-376, 2005.

DOUGLAS, M. W.; PARSON, C. M. Nutritional evaluation of lectin-free soya beans. **Poultry Science**, v. 76, n. 1 p. 43, 1997.

DUKE, J. A. Moringaceae: horseradish-tree, drumstiek-tree, sohnja, moringa, murunga-kai, malungay. In: BENGE, M.D. (ed.) *Moringa: a multipurpose tree that purifies water*. **Science and Technology for Environment Natural Resources**, p. 19-28, 1987.

DURANTI, M.; GIUS, C. Legume seeds: protein content and nutritional value. **Field Crops Research**, v. 53, p. 31-45, 1997.

EL-ADAWY, T. A. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. **Plant Food for Human Nutrition**, v. 57, p. 83-97, 2002.

EGOUNLETY, M.; AWORH, O. C. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). **Journal of Food Engineering**, v. 56, n. 2-3, p. 249-254, 2003.

FENWICK, G. R.; HEANEY, R. K.; MAWSON, R. Glicosinolates. In: CHECKE, P.R. (Ed.) **Toxicants of Plant Origin**. CRC Press, 1989. v. 2, p. 1-41.

FERRAO, A. M. B.; FERRAO, J. E. M. Ácidos gordos em óleo de moringuerio. **Agronomia Angolana**, v. 30, p. 3–16, 1970.

FERRÃO, M.F. et al. Técnica Não Destrutiva de Análise de Tanino em Café Empregando Espectroscopia no Infravermelho e Algoritmo Genético. **Tecno-lóg.** Santa Cruz do Sul, v. 7, n. 1, p. 9-26, 2003.

FERREIRA, A. C. P; BRAZACA, S. G. C.; ARTHUR, V. Nutritional and chemical alteration of raw, irradiated and cooked chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 1, 2006.

FIGUEIREDO, D. F. et al. Desempenho e morfometria da mucosa de duodeno de frangos de corte alimentados com farelo de canola, durante o período inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1321-1329, 2003.

- FOIDL, N.; MKKAR, H. P. S.; BECKER, K. The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: LOWELL, J.; FUGLIE, C. T. A. (Eds.). **The miracle tree: the multiple uses of moringa**. Wageningen: The Netherlands, 2001. p. 45–76.
- FOIDL, N.; MAYORGA, L.; VASQUEZ, W. Utilizacion del marango (*Moringa oleifera*) como forraje fresco para ganado. In: SANCHEZ, M.D.; ROSALES MENDEZ, M. (Eds.). **Agroforesteria para la produccion animal en America Latina, Memorias de una conferencia electronica realizada de abril a septiembre de 1998**.
- FOLKARD, G. K.; SUTHERLAND, J. P. Development of a naturally derived coagulant for water and wastewater treatment. **Water Supp.**, v. 2, n. 5–6, p. 89–94, 2002.
- FREIBERGER, C.E. et al. Nutrient content of the edible leaves of seven wild plants from Niger. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 53, p. 57–69, 1998.
- FRIEDMAN, M.; BRANDON, D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1069–1086, 2001.
- GHEBREMICHAEL, K.A. et al. simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. **Water Research**, v. 39, p. 2338–2344, 2005.
- GIFFONI, J. M. **Proteínas Ligantes à quitina de sementes de *Moringa oleifera* Lamarck e seu papel na defesa da planta**. 2005. 103 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.
- GRANT, G. Antinutritional effects of soybeans: a review. **Progress in Food and Nutrition Science**, v. 13, p. 317–348, 1989.
- GRANT, G.; DORWARD, P. M.; PUSZTAI, A. Pancreatic enlargement is evident in rats fed diets containing raw soybeans (*Glycine max*) or cowpeas (*Vigna unguiculata*) for 800 days but not on those fed diets based on kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) or lupinseed (*Lupinus angustifolius*). **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 2207–2215, 1993.
- GRANT, G. et al. Nutritional and haemagglutination properties of several tropical seeds. **Journal of Agricultural Science**, v. 124, p. 437–445, 1995.
- GRANT, G. et al. Dietary lectins vary in their effects on rat body metabolism. In: VAN DRIESSCHE, E. et al. (Eds.). **Lectins: biology, biochemistry, clinical biochemistry**. Denmark: Textop, 1996. p. 215–219.
- GRANT, G. Palnt lectins. In: CAYGILL, J. C., MUELLER- HARVEY, I.(Eds.). **Secondary Plant Products**. Nottingham, UK: Nottingham University Press, 1999. p. 87–110.
- GUEVARA, A. P. et al. An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam . **Mutation Research**, v. 440, p. 181–188, 1999.
- HAGERMAN, A. E. Radial difusion method for determining tannin in plant extracts. **Journal of Chemical Ecology**, v. 13, p. 437–449, 1987.

- HALKIER, B. A.; GERSHENZON, J. Biology and Biochemistry of Glucosinolates. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 57, p. 303–33, 2006.
- HAMERSTRAND, G. E.; BLACK, L. T.; GLOVER, J. D. Trypsin inhibitors in soy products: modification of the standard analytical procedure. **Cereal Chemistry**, v. 58, p. 42-45, 1981.
- HATTORI, M. et al. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, p. 717-720, 1990.
- HILL, F. W.; ANDERSON, D. L. Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations whit growing chicks. **Journal of Nutrition**, v. 64, n. 3, p. 587-604, 1958.
- HOSSAIN, M. A.; BECKER, K. In vitro rumen degradability of crude protein in seeds from four *Sesbania spp.* and the effects of treatments designed to reduce the levels of antinutrients in the seeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 95, p. 49–62, 2002.
- HUGHES, J. S. et al. Effects of dietary fiber and tannins on protein utilization in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Research International**, v. 29, n. 3, p. 331-338, 1996.
- JAHN, S. A. A. Traditional indonesian and ethiopian recipes for tree vegetables. **Entwicklung + Ländlicher Raum**, v. 1, p. 27-29, 1992.
- JAHN, S. A. A.; MUSNAD, H. A.; BURGSTALLER, H. The tree that purifies water. Cultivating multipurpose Moringaceae in the Sudan. **Unasylva**, v. 152, p. 23-28, 1986.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Livraria Editora Santos, 1983.
- KAKADE, M. L. et al. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. **Cereal Chem.**, v. 51, p. 376-382, 1974.
- KAPLAN, A. The determination of urea, amonia and urease. In: GLICK, D. (Ed.) **Methods of biochemical analysis**. New York, USA: John Wiley & Sons, 1969. p. 311-314.
- KALOGO, Y.; SEKA, A.; VERSTRAETE, W. Enhancing the start-up of a UASB reactor treating domestic waste water by adding a water extract of *Moringa oleifera* seeds. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 55, n. 5, p. 644-651, 2001.
- KAR, A.; CHOUDHARY, B. K.; BANDYOPADHYAY, N. G. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, p. 105- 108, 2003.
- KUNITZ, M. Crystalline soybean trypsin inhibitors: 2 Properties. **Journal General Physiology**, v. 30, p. 291-307, 1947.
- LALAS, S.; TSAKNIS, J. Characterization of *Moringa oleifera* seed oil variety “Pariyakulam 1”. **J. Food Compos. Anal.**, v. 15, p. 65–77, 2002.
- LANCINI Y.; WAITZBERG D. L. Proteínas. In: WAITZBERG D.L. (Ed.) **Nutrição enteral e parenteral na prática clínica**. Rio de Janeiro: Editora Ateneu, 1995. p. 7-20.

- LAZZARI, F. A. Controle de micotoxinas no armazenamento de grãos e subprodutos. In: SIMPÓSIO SOBRE MICOTOXINAS EM GRÃOS. 1999. Santo Amaro. **Anais...** Santo Amaro: Fundação ABC, 1999. p. 81-106
- LEDOUX, D. R. et al. Effects of feeding crambe meal upon intake, gain, health and meat quality of broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**, v. 76, p. 227-240, 1999.
- LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Scott's nutrition of the chicken**. 4. ed. Guelph: University Books, 2001. 591 p.
- LEON, A. et al. Detoxification of jackbean (*Canavalia ensiformis* L.) with pilot scale roasting. II: Nutritional value for poultry. **Animal Feed Science and Technology**, v. 73, p. 231-242, 1998.
- LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews In Food Science and Nutrition**, v. 34, p. 31-67, 1994.
- LIENER, I. E.; KAKADE, M. L. Protease inhibitors. In: LIENER, I.E. (Ed.). **Toxic Constituents of Plant Foodstuff**. 2nd ed. New York: Academic Pres, 1980. p. 7-71.
- LIS, H.; SHARON, N. Soybean (*Glycine max*) agglutinin. **Methods in Enzimology**, v. 28, p. 360-368, 1972.
- LIS, H.; SHARON, N. In: LIENER, I. E.; SHARON, N.; GOLDSTEIN, I. J. **Lectins: properties, functions and applications in biology and medicine**. Orlando, USA: Academic Press, 1986. p. 294-370.
- LOCKETT, C.T.; CALVERT, C.C.; GRIVETTI, L.E. Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought. **Int. J. Food Sci. Nutr.**, v. 5, p. 195-208, 2000.
- LORENZI, H.; ABREU, F. J. M. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Intituto Plantarum, 2002. p. 275-276.
- LOTUFO, L. V. C. et al. Studies of the anticancer potential of plants used in Bangladeshi folk medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p. 21-30, 2005.
- LOWELL, J. F. **Moringa oleifera: natural nutrition for the tropics**. Dakar Senegal: Church World Service, 1999.
- MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frango de corte**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 296 p.
- MAIA, A. A. B. **Efeitos bioquímicos e nutricionais de cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merr.] adaptadas às condições de plantio da região nordeste**. 1998. 100 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1998.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutrients and anti-quality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. **Journal of Agricultural Science**, v. 128, p. 311–322, 1997.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319 p.

MACHIELS D.; ISTASSE L. La réaction de Maillard: importance et applications en chimie des aliments. **Ann. Méd. Vét.**, v. 146, p. 347-352, 2002.

MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Review article number 6: plant molluscicides. **Phytochemistry**, v. 24, p. 639-652, 1985.

MARTÍNEZ, J. A. et al. Growth, hormonal status and protein turnover in rats fed on a diet containing peas (*Pisum sativum* L.) as the source of protein. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 47, p. 211-220, 1995.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997. 141 p.

MATTERSON, L. D.; POTTER, L. M.; STUTZ, M. W. **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. (Agricultural Experiment Station Research Report) Storrs: University of Connecticut, 1965. p. 11: 3-11.

MARUGANDAN, S. et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of some medicinal plants. **J. Med. Arom. Plt. Sci.**, v. 22, p. 56–58, 2001.

MEGAT, J. *Moringa oleifera* seeds as a flocculant in waste sludge treatment. **Int. J. Environ. Stud.**, v. 58, p. 185–195, 2001.

MEHTA, K. et al. Effect of fruits of *Moringa oleifera* on the lipid profile of normal and hypercholesterolaemic rabbits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 86, p. 191–195, 2003.

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

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; BLOCH, M. F. de M. **Análise química de tecido vegetal**. Londrina: IAPAR, 1992. 17 p. (Circular, 74).

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

NASCIMENTO, A. H. **Avaliação química e energética do farelo de canola e sua utilização para frangos de corte**. 1997. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of poultry**. 9th revised. Washington: Acad. Press, 1994.

- NORTON, G. Proteinase inhibitors. In: D'MELLO, J. P. F., DUFFUS, C. M., DUFFUS, J. M. (Eds.). **Toxic substances in crop plants**. Cambridge, U.K.: Royal Society of Chemistry, 1991. p. 69-106.
- NOY, Y.; SKLAN, D. **Enzyme secretion and small intestine passage time in the young chick**. Glasgow, UK: European Poultry Conf. 1994. p. 451-452.
- NUGON-BAUDON, L. et al. Interactions of the intestinal microflora with glucosinolates in rapeseed meal toxicity: first evidence of an intestinal *Lactobacillus* possessing a myrosinase-like activity *in vivo*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 52, p. 547-59, 1990.
- NUGON-BAUDON, L.; SZYLIT, O.; RAIBAUD, P. Production of toxic glucosinolate derivatives from rapeseed meal by intestinal micro flora of rat and chicken. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 43, p. 299-308, 1988.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, H.; HATANO, T. Ellagitannins as active constituents of medicinal plants. **Planta Medica**, v. 55, p. 117-122, 1989.
- _____. Classification of oligomeric hydrolysable tannin and specificity of their occurrence in plants. Review article number 73. **Phytochemistry**, v. 32, p. 507-521, 1993.
- OLESZEK, W. Alfalfa saponins: structure, biological activity, and chemotaxonomy. **Adv Exp Med Biol.**, v. 405, p. 155-170, 1996.
- OLESZEK, W.; BIAŁY, Z. Chromatographic determination of plant saponins an update (2002-2005). **Journal of Chromatography**, v. 1112, p. 78-91, 2006.
- OLIVEIRA, J. T. A. et al. Compositional and nutritional attributes of seeds from the multiple purpose tree *Moringa oleifera* Lamarck. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 79, n. 6, p. 815-820, 1999.
- PARR INSTRUMENTS CO. **Instructions for the 1241 and 1242 adiabatic calorimeters**. Moline, 1984. 29 p. (Parr Manual, 153).
- PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, J. M. E. Prevalence, biological activity and genetic manipulation of lectins in foods. **Trends In Food Science & Technology**, v. 7, p. 132-138, 1996.
- PEZZATO, A. C. et al. Estudo do Valor Nutritivo do Farelo de Guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millps] na Alimentação de Frango de Corte. 1. Avaliação do Tratamento Térmico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 569-576, 1995.
- PINHEIRO, J. W. et al. Farelo de Girassol na Alimentação de Frangos de Corte em Diferentes Fases de Desenvolvimento **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1418-1425, 2002.
- 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**, v. 38, p. 720-726, 1990.

- POLACCO, J. C.; HOLLAND, M. A. Roles of urease in plant cells. **International Review Cytology**, v. 145, p. 65-103, 1993.
- POTTER, L. M. The precision of measuring metabolizable energy in poultry feedstuffs. **Feedstuffs**, v. 44, n. 12, p. 28-30, 1972.
- PRAKASH, A. S. et al. Pyrrolizidine alkaloids in the human diet. **Mutat. Res.**, v. 443, p. 53-67, 1999.
- PRICE, M. L. Vegetables from a tree! ECHO News. 8(4), 1-2. In C. Ramachandran, K. V. Peter, P. K. Gopalakrishnan (1980). Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. **Economic Botany**, v. 34, p. 276-283, 1986.
- PUSZTAI, A. et al. Relationship between survival and binding of plant lectins during small intestinal passage and their effectiveness as growth factors. **Digestion**, v. 46, p. 308-316, 1990.
- RAMACHANDRAN, C.; PETER, K. V.; GOPALAKRISHNAN, P. K. Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. **Economic Botany**, v. 34, p. 276-283, 1980.
- RANGEL, M. S. A. **Moringa oleifera**: uma planta de múltiplo uso. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 1999. 41 p. (Circular técnica, 9).
- REHMAN, Z.; SHAH, W. H. Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. **Food Chemistry**, v. 91, p. 327-331, 2005.
- RODRIGUES, P.B. et al. Valores energéticos da soja e subprodutos da soja, determinados com frangos de corte e galos adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1771-1782, 2002.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. **Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: UFV/DZO, 2000. 141 p.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2. ed. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265 p.
- SANTOS, A. F. S. et al. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. **Water Research**, v. 39, p. 975-980, 2005.
- SAS/STAT. **User's Guide**. Cary, N.C.: SAS Institute Inc., 1999.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3875-3883, 1991.
- SCHÄGGER, H.; JAGOW, G. V. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. **Anal. Biochem.**, v. 166, p. 368-379, 1987.

SEENA, S.; SRIDHAR, K. R.; JUNG, K. Nutritional and antinutritional evaluation of raw and processed seeds of a wild legume, *Canavalia cathartica* of coastal sand dunes of India. **Food Chemistry**, v. 92, p. 465–472, 2005.

SGARBIERI, V.C. Propriedades nutricionais das proteínas. In: **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações**. São Paulo: Livraria Varela Ltda., 1996. p. 139-257.

SHARMA, P. et al. Removal of cadmium from aqueous system by shelled *Moringa oleifera* Lam. seed powder. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 2, p. 299-305, 2006.

SHERKAR, B. V. Drumstick. **The Balf Journal**, v. 13, n. 2, p. 20, 1993.

SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Nutritional and antinutritional composition, in vitro amino acid availability, starch digestibility and predicted glycemic index of differentially processed mucuna beans (*Mucuna pruriens* var. utilis): an under-utilized legume. **Food Chemistry**, v. 91, p. 275–286, 2005.

SIEBRA, E. A. **Toxina da soja [*Glycine max* (L.) Merr.] cv. BR-10. Isolamento e purificação**. 1998. 109 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1998.

_____. **SBTX, uma nova toxina protéica das sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merr.]: Aspectos bioquímicos e seu provável papel na defesa de plantas**. 2004, 149p. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 2002. 235 p.

SILVA, J. H. V. **Relatório técnico do uso de subprodutos do urucum na ração de aves**. Bananeiras: DAP/UFPB, 2003a. 5 p.

_____. **Produção científica em nutrição de aves. Contribuição da UFPB nos últimos cinco anos**. Bananeiras: DAP/UFPB, 2003b. 31 p.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. Nutritional aspects of phytates and tannins. **Revista de Nutrição**. Campinas, v. 12, n. 1, 1999.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Florianópolis: Ed. da Universidade/UFRGS, 2004.

SIRKO, A; BRODZIK, R. Plant ureases: Roles and regulation. **Acta Biochimica Polonica**, v. 47, n. 4, p. 1189–1195, 2000.

SOUSA, D.O.B. **Soyatoxina 2 - uma toxina de sementes de soja: aspectos estruturais, do mecanismo de ação e efeitos biológicos**. 1998. 157 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

- SOUSA, D. O. B. **Avaliação bioquímica e nutricional da soja [*Glycine max* (L) Merr.] CV. Seridó e Seridó-RCH**. 2001. 108 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.
- SOUZA, G. B. et al. **Método alternativo para determinação de fibra em detergente neutro e detergente ácido**. São Carlos: EMBRAPA Pecuária Sudeste, 1999. (Boletim de pesquisa, 4).
- STEGELMEIER, B. L. et al. Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. **J. Nat. Toxins**, v. 8, p. 95–116, 1999.
- STRINGHINI, J. H.; CAFÉ, M. B.; FERNANDES, C. M. Avaliação do valor nutritivo do farelo de girassol para aves. In: **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 52, n. 2, p. 41, 2000.
- TAGLE, M. A. Proteína: qualidade química e biológica. In: **Nutrição**. São Paulo: Artes Médicas para a Língua Portuguesa, 1981. p. 49-65.
- TRIEBOLD, H. O. **Quantitative analysis with applications to agricultural and food products**. New York, USA: Van Nostrand Company, 1946.
- TRIER, R. **Uso da semente do gênero "Moringa": uma proposta alternativa para clarificação das águas brutas no nordeste**. Recife: AS-PTA-Reg. NE, 1995. 17 p.
- TSAKNIS, J.; LALAS, S. Stability during frying of *Moringa oleifera* seed oil variety "Periyakulam 1". **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, n. 1, p. 79–101, 2002.
- UMOREN, U. E. et al. Chemical evaluation of the seeds of *Milletia obanensis*. **Food chemistry**, v. 91, n. 22, p. 195-201, 2005.
- VALUEVA, T. A.; MOSOLOV, V. V. Protein inhibitors of proteinases in seeds: 1. classification, distribution, structure, and properties. **Russian Journal of plant physiology**, v. 46, p. 307-321, 1999.
- VASCONCELOS, I. M. et al. Purification and physicochemical characterization of soyatoxin, a novel toxic protein isolated from soybeans (*Glycine max*). **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 312, p. 357-366, 1994.
- _____. Composition, toxic and antinutritional factors of newly developed cultivars of brazilian soybean (*Glycine max*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 75, p. 419-426, 1997.
- _____. Nutritional study of two Brazilian soybean (*Glycine max*) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. **Journal of Nutritional Biochemistry** 12: 1-8, 2001.
- VASCONCELOS, I. M.; OLIVEIRA, J. T. A. Antinutritional properties of plant lectins. **Toxicon**, p. 385 – 403, 2004.

VIEIRA, C. R.; CABRAL, L. C.; PAULA, A. C. O. de. Proximate composition and amino acid, fatty acid and mineral contents of six soybean cultivars for human consumption. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 7, p. 1277-1283, 1999.

VLAHOF, G.; CHEPKWONY, P.K.; NDALUT, P.K. ¹³C NMR characterization of triacylglycerols of *Moringa oleifera* seed oil: an Oleic-Vaccenic acid oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 970-975, 2002.

ZARKADAS, C. G. et al. Assessment of the protein quality of nine northern adapted yellow and brown seed coated soybean cultivars by amino acid analysis. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 47, n. 12, p. 5009-5018, 1999.

10. APÊNDICE

Tabela 31 - Composição do suplemento vitamínico-mineral para aves com aditivo promotor de crescimento e aditivo coccidiostático indicado para rações de aves de corte na fase inicial (06 a 21 dias).

Componentes	Quantidade	Unidade
Vit. A	1.750.000	UI
Vit. D ₃	500.000	UI
Vit. E	2.750	mg
Vit. K ₃	500	mg
B ₁ (Tiamina)	500	mg
B ₂ (Riboflavina)	1.250	mg
B ₆ (Piridoxina)	700	mg
B ₁₂ (Cianocobalamina)	2.500	mg
Pantetonato de cálcio	3.000	mg
Niacina	7.000	mg
Ác. fólico	200	mg
Anti-oxidante	2,5	g
Selênio	75	mg
Coccidiostático	10	g
Promotor de crescimento	12,5	g
Cloreto de colina	60	g
Manganês	16.250	mg
Ferro	12.500	mg
Cobre	3.000	mg
Zinco	12.500	mg
Iodo	250	mg

Níveis de garantia por 1000 g do produto.

Tabela 32 - Composição do suplemento vitamínico-mineral para aves com aditivo promotor de crescimento e aditivo coccidiostático indicado para rações de aves de corte na fase de engorda (22 a 42 dias).

Componentes	Quantidade	Unidade
Vit. A	1.500.000	UI
Vit. D ₃	500.000	UI
Vit. E	2.500	mg
Vit. K ₃	500	mg
B ₁ (Tiamina)	350	mg
B ₂ (Riboflavina)	1.000	mg
B ₆ (Piridoxina)	500	mg
B ₁₂ (Cianocobalamina)	2.000	mg
Ácido pantotênico	2.750	mg
Niacina	6.500	mg
Ácido fólico	150	mg
Anti-oxidante	25	g
Selênio	75	mg
Coccidiostático	16,5	g
Promotor de crescimento	2,5	g
Cloreto de colina	75	g
Manganês	16.250	mg
Ferro	12.500	mg
Cobre	3.000	mg
Zinco	12.500	mg
Iodo	250	mg

Níveis de garantia por 1000 g do produto.