



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO**



**“Alterações metabólicas benéficas em ratos *Wistar*
decorrentes do consumo do amaranto extrusado”.**

CINTHIA BAÚ BETIM

Nutricionista

PROFº. Dr. JAIME AMAYA FARFÁN

Orientador

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do
título de mestra em Nutrição Experimental.**

**CAMPINAS
2008**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

B465a Betim, Cinthia Baú
Alterações metabólicas benéficas em ratos *Wistar*
decorrentes do consumo de amaranto extrusado / Cinthia
Baú Betim. -- Campinas, SP: [s.n.], 2008.

Orientador: Jaime Amaya-Farfán
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Amarantos. 2. Dislipidemias. 3. Ratos *Wistar*. 4.
Alimentos funcionais. I. Amaya-Farfán, Jaime. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

Titulo em inglês: Changes metabolic beneficial in rats arising from the
consumption of amaranth

extruded

Palavras-chave em inglês (Keywords): Amaranths, Dyslipidemias, *Wistar* rats,
Functional foods

Área de concentração: Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de
Alimentos

Titulação: Mestre em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora: Jaime Amaya-Farfán

Érika Maria Marcondes Tassi

Eros Antonio de Almeida

Flávia Maria Netto

Miguel Arcanjo Areas

Data da defesa: 25/06/2008

Programa de Pós Graduação: Programa em Alimentos e Nutrição

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jaime Amaya Farfán
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
(Orientador)

Prof. Dra. Érika Maria Marcondes Tassi
Instituto de Biologia - UNICAMP
(Membro)

Prof. Dr. Eros Antonio de Almeida
Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP
(Membro)

Prof. Dra. Flávia Maria Netto
Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP
(Suplente)

Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas
Instituto de Biologia - UNICAMP
(Suplente)

Há dois tipos de sabedoria: a inferior e a superior. A sabedoria inferior é dada pelo quanto uma pessoa sabe e a superior é dada pelo quanto ela tem consciência de que não sabe.

Tenha a sabedoria superior. Seja um eterno aprendiz na escola da vida. A sabedoria superior tolera, a inferior julga; a superior alivia, a inferior culpa; a superior perdoa, a inferior condena.

Augusto Cury

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Jaime Amaya Farfán pela oportunidade e confiança, meu reconhecimento e admiração.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições a redação final desta dissertação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À Embrapa – Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, em especial ao pesquisador Roberto Spehar pelo fornecimento dos grãos de amaranto.

À empresa Novozymes pela doação das enzimas que foram fundamentais para as análises de fibras e amido resistente.

Ao pesquisador Dag Mendonça Lima (NEPA) pelo apoio e incentivo desde 2002, não deixando nunca que eu desistisse dos meus sonhos, meu ex-professor e hoje amigo do coração.

A minha família e ao meu noivo Ricardo pelo apoio incondicional e por acreditarem no meu potencial.

Ao Prof. Dr. Yoon Kil Chang, Prof. Dr. Everardo Carneiro, ao doutorando Mateus Depieri e a pós-doutoranda Eliane Filiputti pela colaboração para a realização deste trabalho.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos especialmente ao Departamento de Alimentos e Nutrição, professores e funcionários pela oportunidade de poder fazer parte desta grande família.

A bioterista Susana minha segunda mãe, que muito me ensinou e que trouxe luz para o meu caminho e vida profissional.

À Alessandra técnica do Laboratório de Cereais – DTA, pela amizade, carinho e apoio.

Aos amigos de laboratório Florencia, Ana Cláudia, Éder, Carla, Thony, Giovana, Carol, Viviane, Elisa e Iara.

A todos as amizades que conquistei durante o curso em especial à Jane, Eliriane, Mariana, Carol, Carlos, Liz, agradeço o carinho e compreensão.

A Oneida e Sônia do laboratório CBO-Assessoria e Análise pelas análises de colesterol hepático e ácidos graxos de cadeia curta.

À prof^a. Norma de Moura Ribeiro Torres pela revisão e correções de português.

ÍNDICE

Lista de Figuras	xi
Lista de Tabelas	xiii
Lista de Anexos	xv
Resumo	xviii
Abstract	xix
Introdução Geral	1
Referências	3
CAPÍTULO 1	4
Revisão Bibliográfica	5
1.1 Doenças Cardiovasculares	5
1.2 Amaranto	8
1.2.1 Composição Centesimal	9
1.2.1.1 Proteínas	9
1.2.1.2 Lipídeos	12
1.2.1.3 Carboidratos	14
1.2.1.4 Fibra Alimentar	17
1.2.1.5 Vitaminas e Minerais	25
1.2.1.6 Fitoquímicos	27
1.3 Extrusão	28
1.4 Conclusão	32
Referências	33

CAPÍTULO 2	41
Resumo	43
2.1 Introdução	45
2.2 Material e Métodos	47
2.2.1 Farinha de Amaranto	47
2.2.2 Animais e Dieta	47
2.2.3 Caracterização aminoacídica e conteúdos de fibras e amido resistente das farinhas crua e extrusada de amaranto	49
2.2.4 Ensaio Biológico	50
2.2.5 Protocolo Experimental	51
2.2.5.1 Consumo alimentar e ganho de peso	51
2.2.5.2 Lipídeos totais nas fezes	51
2.2.5.3 Ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal	51
2.3 Análise Estatística	52
2.4 Resultados e Discussão	53
2.5 Conclusão	64
Referências	67
CAPÍTULO 3	73
Resumo	75
3.1 Introdução	77
3.2 Material e Métodos	79
3.2.1 Farinha de Amaranto Extrusada	79
3.2.2 Animais e Dieta	79
3.2.3 Ensaio Biológico	81

3.2.4 Protocolo Experimental	82
3.2.4.1 Consumo alimentar e ganho de peso	82
3.2.4.2 Lipídeos séricos	82
3.2.4.3 Glicose sérica	83
3.2.4.4 Insulina sérica	83
3.2.4.5 Proteínas totais e albumina séricas	85
3.2.4.6 Gordura hepática	85
3.3 Análise Estatística	85
3.4 Resultados e Discussão	87
3.5 Conclusão	95
Referências	97
CONCLUSÃO GERAL	101
ANEXOS	105

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Microscopia eletrônica dos grânulos de amido do amaranto (5,000X) ...	15
Figura 1.2 Esquema de um extrusor	29
Figura 2.1 Perfil de aminoácidos indispensáveis na farinha de amaranto cru e extrusada a 150°C e 18% de umidade	54
Figura 2.2 Conteúdo de fibra bruta, fibra alimentar total, insolúvel, solúvel e amido resistente na farinha de amaranto crua e extrusada	56
Figura 2.3 Consumo das dietas pelos grupos experimentais durante ensaio biológico	57
Figura 2.4 Ganho de peso dos animais durante ensaio biológico	58
Figura 2.5 Conteúdo de lipídeos totais excretados nas fezes	61
Figura 2.6 Conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta no cecum dos animais	63
Figura 3.1 Consumo das dietas pelos grupos experimentais durante ensaio biológico	88
Figura 3.2 Concentrações séricas de colesterol total após 20 e 48 dias de consumo das dietas	91
Figura 3.3 Concentrações séricas de LDL-colesterol total após 20 e 48 dias de consumo das dietas	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 Composição de aminoácidos (mg/g de Nitrogênio total) do arroz, feijão e amaranto	10
Tabela 1.2 Composição de fibras insolúveis e solúveis em diferentes alimentos	21
Tabela 2.1: Composição das dietas (g/kg de dieta)	48
Tabela 2.2 Composição centesimal das dietas, em base seca (g/100g)	49
Tabela 2.3 Composição centesimal das farinhas de amaranto extrusadas	53
Tabela 2.3 Peso corpóreo e ganho de peso dos animais, peso e tamanho dos intestinos após 48 dias de consumo das dietas	59
Tabela 3.1 Composição das dietas (g/kg de dieta)	80
Tabela 3.2 Composição centesimal das dietas, em base seca (g/100g)	81
Tabela 3.3 Peso corpóreo e ganho de peso dos animais, peso do fígado, rins, baço e conteúdo de colesterol no fígado após 48 dias de consumo das dietas	89
Tabela 3.4 Parâmetros séricos após 48 dias de consumo das dietas	90

LISTA DE ANEXOS

Certificado Comissão de Ética na Experimentação Animal	107
Análise Estatística – Composição Centesimal das Dietas	109
Aminograma da farinha de amaranto crua e extrusada	111
Análise Estatística Aminograma das Farinhas	113
Análise Estatística das Farinhas	115
Análise Estatística – Consumo das Dietas	116
Análise Estatística – Peso dos Animais	121
Análise Estatística – <i>Protein Efficiency Ratio (PER)</i>	130
Análise Estatística – Coeficiente de Eficiência Alimentar	130
Análise Estatística – Peso dos Orgãos Final do Ensaio	131
Análise Estatística – Tamanho dos Orgãos Final do Ensaio	133
Análise Estatística – Excreção Fecal	134
Análise Estatística – Peso Final dos Orgãos do Ensaio	136
Análise Estatística – Análises Hepáticas	137
Análise Estatística – Peso dos Orgãos Final do Ensaio	138
Análise Estatística – Análises Séricas	139

RESUMO

Pseudocereal milenar de elevado valor nutricional, o amaranto é considerado um alimento funcional devido as suas ações fisiológicas benéficas à saúde. No presente estudo as farinhas, crua e extrusada, de amaranto brasileiro foram avaliadas quanto a sua composição protéica, aminoacídica e de fibras. As condições de temperatura e umidade utilizadas na extrusão foram baseadas em estudo anterior. O tratamento térmico aplicado à farinha não promoveu perdas nutricionais ao alimento, comprovada após comparação da composição aminoacídica das farinhas, principalmente em relação aos aminoácidos indispensáveis. Não foi observada diferença significativa quanto ao conteúdo de fibras e amido resistente. Sua funcionalidade foi testada em 40 ratos machos Wistar, alimentados com dietas AIN 93-G (12 e 18% de proteína), suplementadas com amaranto brasileiro extrusado (cv. Alegria), de forma que 4.2 e 6.3% da proteína da dieta corresponderem respectivamente ao amaranto. Após 48 dias de consumo das dietas não foram observadas diferenças significativas quanto ao ganho de peso entre os grupos. Porém, quando avaliado os lipídeos séricos, redução significativa foi observada no colesterol total ($p=0.0035$) e LDL-colesterol ($p=0.0005$) nos grupos suplementados com amaranto. Para os níveis séricos de HDL-colesterol, VLDL-colesterol, triacilgliceróis, glicemia e insulinemia, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Maior produção de ácidos graxos de cadeia curta, especialmente ácido butírico, foi observado entre os grupos suplementados com amaranto, o que pode estar relacionado com o conteúdo extra de fibras presente nas dietas provenientes do amaranto. Maior excreção fecal de lipídeos foi observada nos grupos suplementados com amaranto, devido à ação das fibras ou dos ácidos graxos de cadeia curta. Em relação ao conteúdo hepático de colesterol não foi observada diferença significativa entre os grupos, demonstrando que a redução sérica de colesterol não foi acompanhada de deposição hepática e conseqüentemente de esteatose. O mecanismo envolvido na ação hipocolesterolemiantes do amaranto possivelmente tem relação com os substratos contidos em sua composição, passíveis de fermentação colônica, conforme os resultados obtidos quanto à produção de ácidos graxos de cadeia curta. O consumo do amaranto se mostra eficaz para a profilaxia de dislipidemias, uma vez que sua ação hipocolesterolemiantes, já demonstrada na literatura para animais hipercolesterolêmicos, agora se mostra que tem ação também em animais normolipidêmicos.

Palavras-Chave: amaranto brasileiro, dislipidemias, hipocolesterolemia, rato Wistar, alimento funcional.

ABSTRACT

Grain amaranth, a pseudocereal of prehistoric origin, has a high nutritional value and has been considered recently to be a functional food because of its physiological actions beneficial to health. In this study raw and extruded flours of the Brazilian amaranth (cv. BRS Alegria), were evaluated as its proximal composition (protein, fat, fiber and amino acids). Previously determined conditions of temperature and humidity were used to obtain the extruded products. The heat treatment applied to the meal did not promote nutritional losses of the protein, proven by comparison of the amino acid profiles of the meals, especially regarding the essential amino acids. No significant difference was observed on the content of fiber and resistant starch. Its biological functionality was tested in 40 male Wistar rats, fed diets (AIN 93-G, with 12 and 18% protein), supplemented with extruded Brazilian amaranth, so that 4.2 and 6.3% of the protein of the diet were contributed by the amaranth, respectively. After 48 days of consumption of diets, no significant differences were observed on the weight gain between groups. However, when the serum lipids were evaluated, a significant reduction in total cholesterol ($p = 0.0035$) and LDL-cholesterol ($p = 0.0005$) in the groups supplemented with amaranth was observed. As for the serum levels of HDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, triacylglycerols, glucose and insulin, no significant differences were observed between the groups. Increased production of short-chain fatty acids, especially butyric acid, was observed between groups supplemented with amaranth, which can be associated to the extra fiber content in the amaranth diets. Increased fecal excretion of lipids was observed in groups supplemented with amaranth, due to the action of the fibers or short-chain fatty acids. On the content of hepatic cholesterol, no significant difference was observed between the groups, demonstrating that the reduction of serum cholesterol was not accompanied by fat deposition and consequently resulting in fatty liver. The mechanism involved in the hypocholesterolemic action of grain amaranth can be related to the substrates contained in its composition, capable of colonic fermentation, as the results on the production of short-chain fatty acids. Consumption of grain amaranth appears to be effective for the prophylaxis of dyslipidemias, since their hypocholesterolemic action, already reported in hypercholesterolemic seems to occur also in normolipidemics animals.

Key-words: Brazilian amaranth, dyslipidemias, hypocholesterolemic, Wistar rat, functional food.

Introdução Geral

INTRODUÇÃO GERAL

O impacto do consumo das dietas de países industrializados ricos em carboidratos simples, gorduras saturadas e trans tem se mostrado fortemente correlacionado com os altos índices de doenças cardiovasculares, doenças estas relacionadas a alterações lipídicas séricas, as quais, por sua vez, são influenciadas pela alimentação e estilo de vida. Os hábitos alimentares são considerados um dos fatores secundários mais impactantes no desenvolvimento de doenças cardiovasculares (BEVILACQUA et al., 2007; COSTA e SILVA, 2002).

A ciência vem investindo sobremaneira em pesquisas na busca de uma alimentação saudável e acessível a todos. As investigações apontam que as civilizações antigas apresentavam hábitos alimentares e estilo de vida mais saudáveis, acessíveis à população, que se perderam no esquecimento. Distantes dos recursos tecnológicos atuais, a volta às culturas milenares traz à tona alimentos pouco explorados em nosso país, como, por exemplo, o amaranto, que é altamente nutritivo.

Pseudocereal, o amaranto constitui fonte de proteínas de alto valor biológico, fibras, ácidos graxos insaturados. É considerado um alimento funcional, o qual, além de contribuir com os nutrientes existentes em sua composição, apresenta ações benéficas à saúde. Investigações realizadas nos últimos anos sobre o efeito do consumo do amaranto

revelam que este alimento milenar é uma opção para pacientes com doença celíaca (GUERRA-MATIAS e ARÊAS, 2005), diabetes mellitus (KIM et al., 2006; KIM, KIM e SHIN, 2006) e dislipidemias (BERGER, 2003; MENDONÇA, 2005; PLATE e ARÊAS, 2002).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a composição centesimal da farinha de amaranto *cruentus* brasileiro BRS Alegria crua e extrusada, com relação ao seu conteúdo protéico, aminoacídico e de fibras, e investigar as alterações fisiológicas apresentadas por ratos alimentados com dieta suplementada com esse pseudocereal.

REFERÊNCIAS

1. BERGER, A.; MONNARD, I.; DIONISI, F.; GUMY, D.; HAYES, K.C.; LAMBELET, P. Cholesterol-lowering properties of amaranth flakes, crude and refined oils in hamsters. **Food Chemistry**. Orlando. v.81, n.1, p.119-124, may. 2003.
2. BEVILACQUA, M.R. ; GIMENO, S.G.A. ; MATSUMURA, L.K. ; FERREIRA, S.R.G. Hiperlipidemias e fatores dietéticos: estudo transversal entre nipo-brasileiros. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. São Paulo v. 51, n.4, p.547-558, jun. 2007.
3. COSTA, R.P.; SILVA, C.C. Doenças cardiovasculares. In: CUPPARI, L. **Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar Unifesp / Escola Paulista de Medicina – Guia de Nutrição: Nutrição Clínica no Adulto**. Editora Manole: São Paulo, 2002, 406p.
4. GUERRA-MATIAS, A.C.; ARÊAS, J.A.G. Glycemic and insulinemic responses in women consuming extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L). **Nutrition Research**. West Lafayette. v. 25, n.9 , p. 815-822, sep. 2005.
5. KIM, H.K.; KIM, M.J.; CHO, H.Y.; KIM, E-K.; SHIN, D.H. Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. **Cell Biochemistry and Function**. England, v.24, n.3, p.195-199, may/jun 2006.
6. KIM, H.K; KIM, M-J; SHIN, D-H. Improvement of Lipid Profile by Amaranth (*Amaranthus esculantus*) Supplementation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Annual Nutrition & Metabolism**. Vienna, v.50, n.3, p.277-281, feb. 2006.
7. MENDONÇA, S. **Efeito hipocolesterolemizante da proteína de amaranto (*Amaranthus cruentus* BRS-Alegria) em hamsters**. 2005. 190p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
8. PLATE, A.Y.A., ARÊAS, J.A.G. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. **Food Chemistry**. Oxford, v.76, n.1, p.1-6, jan. 2002.

Capítulo 1

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 DOENÇAS CARDIOVASCULARES

As doenças cardiovasculares estão entre as maiores causas de morte no mundo. Os fatores de risco associados ao seu desenvolvimento são: tabagismo, hipertensão arterial, diabetes mellitus, sedentarismo, acúmulo de gordura visceral e, principalmente, as dislipidemias. Dislipidemias são alterações metabólicas decorrentes do aumento sérico de colesterol total, LDL-colesterol, triacilgliceróis e diminuição dos níveis de HDL-colesterol. Constituem um problema de Saúde Pública, diretamente relacionado às doenças cardiovasculares e aterosclerose, as quais tendem a aumentar os índices de mortalidade e incapacidade física, gerando mais custos à assistência médica no Brasil e no mundo (Bevilacqua et al., 2007; Moreira et al., 2006).

A etiologia das dislipidemias pode ser primária, quando relacionada a alterações genéticas e ambientais, e secundária, quando associada a outras doenças, uso de medicamentos e hábito alimentar (Costa e Silva, 2002). A maioria das dislipidemias é causada por fatores individuais e ambientais, sendo por essa razão, evitável. Segundo especialistas do *National Cholesterol Education Program* dos Estados Unidos, a principal causa das dislipidemias é secundária, associada ao hábito alimentar. Dessa forma, a alimentação é considerada, sem dúvida alguma, um fator de extrema importância qualitativa e quantitativa (Bevilacqua et al., 2007).

O impacto do hábito alimentar sobre o perfil lipídico sérico foi avaliado no estudo realizado por Bevilacqua et al (2007), que pesquisaram a presença de dislipidemias entre a população nipo-brasileira. A dieta oriental encontra-se alicerçada em hábitos saudáveis, tendo seu consumo voltado a carboidratos complexos, ácidos graxos insaturados e proteína de origem vegetal, porém, com a emigração e influência local, modificações no hábito alimentar contribuem para o aumento no ganho de peso e alterações no perfil nutricional e de saúde dos japoneses.

Modismos e tendências são os maiores vilões no combate aos hábitos alimentares errôneos. A falta de informação associada ao marketing agressivo de *fast foods* e das indústrias do ramo alimentício criam um abismo entre o certo e o errado.

O consumo de ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oléico (ω -9) e fibras, reflete uma menor prevalência de dislipidemias. Por outro lado, uma alimentação focada no consumo de gorduras *trans* promove, além do aumento dos níveis séricos do LDL – colesterol, também a redução dos níveis de HDL – colesterol (Costa e Silva, 2002).

As dislipidemias são freqüentemente relatadas entre os pacientes diabéticos, possivelmente devido às alterações metabólicas e hormonais. O diabetes mellitus aumenta em 3 vezes o risco da mortalidade por infarto agudo do miocárdio. A insulina, hormônio regulador dos níveis séricos de glicose produzido pelas células β do pâncreas, encontra-se em produção deficitária ou ausente nesses pacientes. Outra função da insulina é a estimulação da síntese de lipídios nos vasos sangüíneos, em particular, a síntese do colesterol e do LDL, que tem a tendência a se ligar às células do músculo liso arterial e aos monócitos/macrófagos. A insulina inibe ainda a ação da epinefrina na liberação dos ácidos graxos livres, levando a uma deposição maior nos tecidos para formar as reservas de energia (McCarty, 2003; Signori et al., 2007).

O estresse oxidativo, explicado pela modificação nas moléculas de LDL por ação de radicais livres ou espécies reativas, ou ainda pela peroxidação lipídica, é outro fator relacionado ao aumento do risco das doenças cardiovasculares (Bowen e Borthakur, 2004; Stocker e Keaney, 2004).

Hoje, na prática clínica, são muito utilizadas como recurso terapêutico as estatinas, medicamentos com foco de ação na inibição da HMG-CoA redutase, enzima reguladora da síntese de colesterol. É pequeno, porém, o número de pacientes que, em uso das mesmas, atinge o perfil lipídico preconizado como adequado pelo consenso médico, para a prevenção de eventos cardiovasculares (Moreira et al., 2006).

Outros fármacos igualmente utilizados são: ezetimida, um inibidor da absorção do colesterol com ação na borda em escova das células intestinais; resinas de troca, que reduzem a absorção de ácidos biliares; fibratos derivados do ácido fíbrico, que atuam sobre os receptores de proliferação dos peroxissomas (PPAR- α); ácido nicotínico, que atua na redução da ação da lipase tecidual nos adipócitos, resultando em menor liberação de ácidos graxos livres na corrente sanguínea (Sposito et al., 2007).

Reconhecida a importância de uma alimentação e hábitos de vida saudáveis, acredita-se que a introdução de alimentos com ação hipocolesterolemiantes seja uma alternativa para se alcançar melhores resultados, uma vez comprovado que o uso de medicamentos não chega a atingir efetividade esperada no controle das dislipidemias.

1.2 AMARANTO

O amaranto é um alimento milenar, provavelmente consumido na América pela civilização Maia, seguida pelas civilizações Inca e Asteca. Hoje seu cultivo está presente em países da América do Sul e Central, Ásia, Europa e África (Escudero, 2004). No Brasil ainda é praticamente desconhecido, havendo pequenas áreas de plantação em Santa Catarina e Goiás, apesar de o país apresentar excelente potencial para seu desenvolvimento, com áreas de solo e clima favoráveis, como altas planícies, altas temperaturas, restrição hídrica e luminosidade intensa (Amaya-Farfan, Marcílio, Spehar, 2005). O amaranto se adapta facilmente a adversidades como clima seco e quente, assim como solo com grandes quantidades de sal, ácido ou álcali (Karasch, 2000).

O grão do gênero *Amaranthus* da família *Amaranthaceae* apresenta de 50 a 60 espécies, entre domésticas e selvagens (Karasch, 2000). As espécies cultivadas para consumo humano e animal são o *Amaranthus cruentus*, *A. caudatus* e *A. hypochondriacus*. Em 1998, após seis anos de pesquisas, a Embrapa, através do Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, desenvolveu uma espécie adaptada às condições do Cerrado brasileiro, que foi nomeada *Amaranthus cruentus* BRS Alegria, originado da espécie *Amaranthus cruentus* AM5189, procedente dos Estados Unidos (Spehar, 2003).

O amaranto granífero cresce sob a forma de uma folhagem vistosa com a inflorescência rósea. Seu grão é pequeno, lenticular e, quando maduro, ao cair no solo em condições adequadas de umidade, germina e se desenvolve com rapidez. Pode-se proceder o seu cultivo em qualquer época do ano, sendo o outono e o inverno as melhores épocas para produção de grãos. Normalmente, no verão, o cultivo do amaranto é destinado à

produção de forragem, mas pode haver bom rendimento de grãos, uma vez que o período de seca favorece a maturação dos mesmos (Spehar, 2003).

1.2.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

1.2.1.1 PROTEÍNAS

Um dos atrativos do grão do amaranto é seu conteúdo protéico, que segundo relatos, está em torno de 14 a 18% (Guzmán-Maldonado e Paredes-López 1998). É considerado excelente fonte protéica de origem vegetal. Em relação ao seu conteúdo de aminoácidos, cada 100 gramas de proteína contêm uma média de: 2,8g de histidina; 1,8g isoleucina; 5,7g leucina; 5,6g lisina; 4,6g metionina + cistina; 8,1g fenilalanina + tirosina; 4,0g treonina; 2,5g triptofano; 4,0g valina (Guzmán-Maldonado e Paredes-López 1998), sendo estes aminoácidos indispensáveis. Em relação a outros grãos, o amaranto se destaca por seu conteúdo de lisina, aminoácido limitante nos grãos de cereais, além de possuir teores mais elevados de triptofano do que qualquer cereal, assim como elevado teor de metionina + cistina em relação às leguminosas (Amaya-Farfan, Marcílio, Spehar, 2005).

A qualidade nutricional das proteínas é calculada através do Coeficiente de Eficiência Protéica (PER), com base no ganho de peso de animais experimentais dividido pelo conteúdo protéico ingerido. Valores de PER próximos a 2,0 indicam proteínas de boa qualidade. Avaliando o *Amaranthus cruentus* L, Gamel et al (2004) encontraram valores de PER de 2,54 para a farinha crua e 2,05 para farinha do grão expandido. Esses resultados apontam para o amaranto como um possível substituto para as fontes protéicas de origem

animal em países com escassez das mesmas (Karasch, 2000). Segundo Gamel et al. (2004), quando a farinha de amaranto é misturada à farinha de trigo, obtém-se um produto com ideal balanço de aminoácidos, proporcionando à indústria alimentícia a possibilidade de sua utilização como nutrificante para a farinha de outros cereais.

Tabela 1.1 Composição de aminoácidos (mg/g de Nitrogênio total) do arroz, feijão e amaranto.

Aminoácidos	Arroz (1) <i>Oryza spp.</i>	Feijão (1) <i>Phaseolus vulgaris</i>	Amaranto (2) <i>A. cruentus</i>
Fenilalanina	303	326	235
Isoleucina	262	262	209
Leucina	514	476	322
Lisina	226	450	310
Metionina	133	66	122
Treonina	207	248	199
Triptofano	-	-	50
Valina	361	287	236

Fonte: (1) www.fao.org/docrep/005/AC854T/AC854T00.htm#TOC

(2) Becker et al. (1981)

Em seus estudos, Mendonça (2005) observou efeito hipocolesterolemizante da proteína do amaranto através da redução dos níveis plasmáticos do colesterol total, frações

LDL e VLDL colesterol, assim como triacilgliceróis, em hamsters alimentados com isolado protéico de amaranto. Berger et al. (2003) observaram ainda redução nos níveis de colesterol total em hamsters alimentados com a farinha de amaranto, assim como Plate e Arêas (2002) já haviam observado tal redução em coelhos alimentados com farinha de amaranto desengordurada e extrusada.

O amaranto pode ser também utilizado pela indústria alimentícia na fabricação de produtos para celíacos, uma vez que não há presença da fração gliadina no mesmo, fração esta composta por prolaminas responsáveis pelas reações nocivas aos celíacos (Gorinstein et al., 2002; Marcílio et al., 2003).

Na prevenção do câncer, a amarantina presente na fração protéica 11S dos grãos liga-se ao T-antígeno (Thomsen-Friedenreich antígeno), um marcador específico de carcinoma, atuando como o mais efetivo reagente anti-T. A amarantina tem sido utilizada em prova histoquímica para a proliferação de células em tecido colônico humano. Sua utilização se deve ao fato da amarantina se ligar em diferentes sítios de cortes histológicos, favorecendo melhores resultados (Guzmán-Maldonado e Paredes-López, 1998).

Em estudo realizado por Silva-Sánchez et al. (2008), estes autores identificaram a presença de peptídeos bioativos em grãos de amaranto, entre os quais a lunasina, peptídeo com atividade anti-câncer. Maiores concentrações de lunasina foram encontradas na fração protéica glutelina (2,71 a 3,01 μg equivalentes de lunasina/g de proteína), tendo sido observada capacidade seletiva para a indução de apoptose de células neoplásicas. Outro peptídeo bioativo importante identificado neste trabalho, encontra-se na fração 11S, a qual inibe a enzima conversora da angiotensina I (ECA), apresentando atividade anti-hipertensiva.

Apresenta ainda potencial não-alérgico, passível de ter aplicação em doenças alérgicas como asma e dermatite atópica, comprovado por Hibi et al. (2003), os quais, em sua pesquisa com camundongos alimentados com farinha de amaranto e extrato solúvel do grão desengordurado, observaram inibição na produção de antígeno-específico IgE, através da indução dos níveis da citocina dominante Th1.

1.2.1.2 LIPÍDEOS

Em relação à composição centesimal dos lipídeos, situa-se entre 6 e 10%, a maioria insaturados (76%), com alto teor de ácido linoléico (47%), oléico (26%) e palmítico (19%) (Lyon e Becker 1987; Berger et al., 2003). Segundo Shin et al (2004), o esqualeno do amaranto seria responsável por reduzir a atividade da enzima β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) redutase, que regula a síntese *de novo* de colesterol, ou seja, trata-se de uma operação reguladora do metabolismo.

A enzima HMG-CoA encontra-se no organismo em sua forma ativa (fosforilada) e inativa (desfosforilada), podendo ser regulada pela ação dos hormônios insulina e glucagon. A insulina promove a desfosforilação da HMG-CoA e, conseqüentemente, favorece a síntese de colesterol (Nelson, Cox, Lehninger, 2002). Destaca-se também por estimular a síntese de glicogênio e triacilgliceróis no fígado, tendo efeito oposto ao hormônio glucagon.

Sabe-se ainda que os fitosteróis β -sitosterol, campesterol, stigmasterol, encontrados na fração insaponificável dos óleos de origem vegetal, podem apresentar ação na redução dos níveis séricos de colesterol. Marcone, Kakuda e Yada (2004) encontraram, na fração lipídica do *Amaranthus cruentus*, 508 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de β -sitosterol, 8 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de campesterol e

27 µg/100g de stigmasterol, podendo haver variação no conteúdo de uma espécie para outra. Em estudos com frangos suplementados com óleo de amaranto (5%), Qureshi, Lehmann e Peterson (1996) observaram diminuição significativa nos níveis séricos de colesterol total, colesterol-LDL e triacilgliceróis, assim como diminuição na atividade da enzima HMG-CoA redutase e aumento na atividade da enzima colesterol 7 α -hidroxilase. Todas essas observações podem ser explicadas pelo efeito inibitório dos tocotrienóis e do esqualeno na síntese do ácido mevalônico, que é precursor do colesterol.

Kim et al. (2006) e Kim, Kim e Shin (2006), avaliando o efeito da suplementação do óleo e grão de *Amaranthus esculentus* em ratos com indução de diabetes por estreptozotocina, observaram diminuição da glicose sanguínea, aumento nos níveis de insulina, melhora nas enzimas AST (transaminase glutâmico oxalacética) e ALT (transaminase glutâmico pirúvica), marcadoras da função hepática, assim como redução nos níveis de TBARS (substância reativa ao ácido tiobarbitúrico – índice de peroxidação lipídica e estresse oxidativo) no citosol hepático. Sabendo que ratos diabéticos estão expostos ao estresse oxidativo, concluiu-se que a suplementação com o óleo e/ou grãos de amaranto pode ser considerada uma terapia antioxidante, pois foi observado um balanço entre a formação de espécies reativas de oxigênio e a atividade enzimática antioxidante. Foi possível ainda observar maior excreção de colesterol e ácidos biliares, sugerindo que o consumo do óleo e/ou grão de amaranto diminui a absorção intestinal de colesterol. Valor próximo do normal foi observado em relação aos lipídeos séricos, geralmente aumentados no diabetes, o que poderia estar relacionado ao controle da hiperglicemia.

Em estudo realizado com humanos com diagnóstico de doenças coronariana, obesidade e hipertensão (Martirosyan et al., 2007), recebendo dieta hipocalórica,

hipolipídica e hiposódica e foram suplementados com óleo de amaranto (18 ml/dia melhor dose resposta) apresentaram redução nas frações séricas dos lipídeos, em especial colesterol total. Este estudo revelou ainda, que o óleo de amaranto pode ser um efetivo antioxidante natural, capaz de proteger a membrana celular dos danos causados pelo estresse oxidativo.

1.2.1.3 CARBOIDRATOS

O amido, do ponto de vista botânico, é a principal reserva de carbono e energia para as plantas (Bello-Pérez, Montealvo, Acevedo, 2006). Os grânulos de amido são polímeros de glicose, podendo apresentar pequenas quantidades de lipídeos, proteínas e minerais (Bemiller e Whistler, 1996). O conteúdo de amido do grão de amaranto varia de 48 a 78% do peso total da matéria seca, apresentando baixo teor de proteínas (0,02 – 0,9%) (Menezes e Lajolo, 2006; Cai, Corke, Wu, 2004).

Os grânulos de amido são revestidos por uma parede rígida de celulose, tornando-os inacessíveis às enzimas digestivas. Em sua forma nativa, esses grânulos são insolúveis em água fria, porém solúveis em água quente. Após o cozimento, os grânulos incham, o amido gelatiniza e há o amolecimento e rompimento da parede celular, de forma a torná-los acessíveis às enzimas digestivas (Ettinger, 2002).

Os grânulos de amido são estruturas intracelulares parcialmente cristalinas, que apresentam diferentes difrações de raio X, podendo ser classificadas em três tipos: o tipo A é constituído pelas cadeias de 23 a 29 moléculas de glicose encontrada em cereais; o tipo B, pelas cadeias com 30 a 44 moléculas de glicose, presente na banana verde e batata crua; e o tipo C, pelas cadeias com 26 a 29 moléculas de glicose, presente nas leguminosas. Os

grânulos de amido que apresentam estrutura com difração tipo B e C são mais resistentes à hidrólise pelas enzimas α -amilase pancreática, resultando em menor digestibilidade (Menezes e Lajolo, 2006).

O tamanho das partículas é algo que também está diretamente relacionado às propriedades funcionais dos grânulos de amido, sendo os menores aqueles que apresentam maior poder de inchamento, menor solubilidade, maior capacidade de retenção de água e baixa susceptibilidade a α -amilase. O tamanho dos grânulos de amido no amaranto é de 1,0 a 3,0 μm (Bello-Pérez, Montealvo, Acevedo, 2006).

Outra vantagem atribuída aos grânulos menores é a capacidade de formar agregados esféricos porosos, capazes de transportar ácidos graxos essenciais e aromatizantes (Bello-Pérez, Montealvo, Acevedo, 2006).

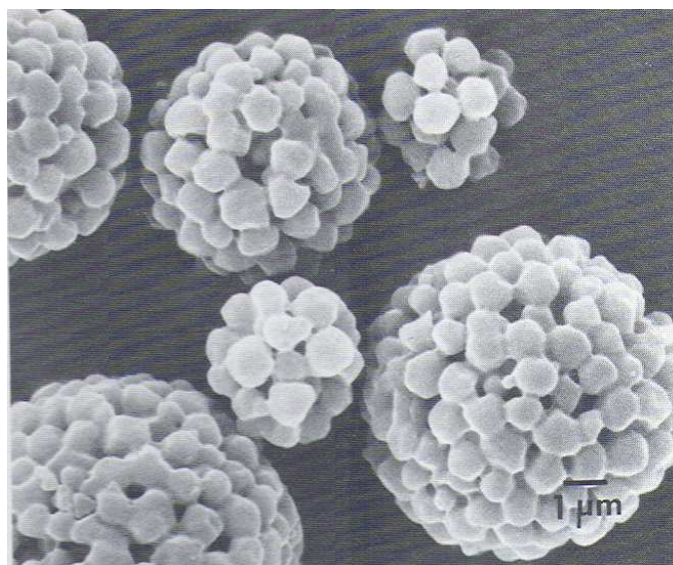


Figura 1.1: Microscopia eletrônica dos grânulos de amido do amaranto (5,000X).

Fonte: Zhao e Whistler (1994)

A funcionalidade do amido está relacionada à sua composição de amilose/amilopectina, assim como à organização física das macromoléculas estruturais do grão. A amilose é uma macromolécula linear formada por resíduos α -D-glicose unidos através de ligações $\alpha(1\rightarrow4)$, formando moléculas pequenas (10^5 a 10^6 Daltons), com menos de 1% de ramificações. Quanto a amilopectina, é formada por ligações $\alpha(1\rightarrow6)$, as quais lhe conferem ramificações até a ordem dos 5%, sendo moléculas de alto peso molecular (10^7 a 10^8 Daltons) (Ettinger, 2002; Bello-Pérez, Montealvo, Acevedo, 2006; Bemiller e Whistler, 1996).

Respostas fisiológicas distintas podem ser observadas nas diversas fontes de amido, baseado na relação amilose/amilopectina, uma vez que as ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ apresentam resistência à hidrólise ácida e enzimática, enquanto que as ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ são degradadas pelas enzima β -amilase (Bello-Pérez, Montealvo, Acevedo, 2006).

O amido do amaranto é classificado como *ceroso*, por apresentar grandes quantidades de amilopectina e menos de 1% de amilose (Bello-Pérez, Montealvo, Acevedo, 2006). Segundo Qian e Kuhn (1999), *flakes* de amaranto *cruentus* comercializados na Bolívia apresentam 7,8% de amilose e baixa tendência a retrogradação. O *amido ceroso*, quando dissolvido em água, forma uma pasta macia, resistente ao congelamento e descongelamento, podendo ser utilizado pela indústria alimentícia como espessante.

1.2.1.4 FIBRA ALIMENTAR

As fibras dietéticas correspondem à fração remanescente dos vegetais comestíveis resistentes à digestão e absorção no intestino delgado, podendo ser total ou parcialmente fermentado no intestino grosso (Bello-Pérez, Montealvo, Acevedo, 2006; Dreher, M.L., 2001). O conteúdo de fibra dietética presente no amaranto varia de 9 a 16%, dependendo da espécie (Quereshi, Lehmann e Peterson, 1996; Czerwiński et al., 2004).

A classificação das fibras dietéticas está diretamente relacionada com seus efeitos fisiológicos, e estes tendem a se basear na hidrossolubilidade das mesmas, divididas em solúveis e insolúveis (Lobo e Silva, 2001). São fibras solúveis as pectinas, gomas e oligossacarídeos, as quais podem ser hidrolisadas pelas enzimas presentes no intestino delgado e fermentadas pela microflora presente no cólon. As fibras insolúveis, representadas pela celulose, hemicelulose e lignina, não são hidrolisadas pelas enzimas digestivas, proporcionando um aumento na consistência das fezes, assim como aumento no volume fecal e diminuição no tempo de trânsito intestinal (Tovar et al., 2006).

As fibras solúveis apresentam maior viscosidade, retardando o esvaziamento gástrico e favorecendo a sensação de saciedade; as insolúveis, ao contrário, diminuem o tempo de trânsito intestinal, apresentando ação laxativa (ADA, 2002). As fibras insolúveis aumentam a massa fecal por não serem degradadas no cólon e por absorverem água. A capacidade de absorver água das fibras solúveis é perdida durante a fermentação, porém há um aumento da massa fecal, devido ao aumento da massa bacteriana e dos gases formados após a fermentação (Thungland e Meyer, 2002).

O consumo de fibras como a pectina, goma guar, β -glucana e celulose favorecem um aumento da excreção de ácidos biliares, impedindo sua reabsorção, assim como a de lipídeos (Márquez, 1999). As fibras ainda podem apresentar ação protetora contra o câncer colo-retal, uma vez em que há aumento do volume fecal, diluição e ligação com agentes carcinogênicos, diminuindo o tempo de contato destes com a mucosa intestinal; ligação com sais biliares e redução da conversão de ácidos biliares primários em secundários, alterando a microflora colônica; maior produção de ácidos graxos de cadeia curta, especialmente butirato; redução da resistência a insulina e hiperinsulinemia (Young et al., 2005).

Existe ainda o amido resistente (AR), que, segundo a definição apresentada, pode ser considerado fibra alimentar, uma vez que não sofre a digestão pelas enzimas α -amilase, glicoamilase e sacarose isomaltase no intestino delgado, podendo tornar-se substrato para fermentação pela microbiota intestinal, a qual produz hidrogênio, dióxido de carbono, metano e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Nugent, 2005). O AR promove maior controle glicêmico, liberação de insulina e aumento da saciedade, favorecendo seu consumo principalmente entre diabéticos e obesos.

O AR tem sido reconhecido pelos seus efeitos fisiológicos, como, por exemplo, a redução dos índices de glicemia e a diminuição do colesterol. Seu conteúdo nos alimentos pode ser alterado devido ao tipo do grânulo, razão amilose/amilopectina, presença de interações com outros nutrientes ou componentes do alimento, tratamento térmico, moagem, gelatinização e retrogradação, dentre outros fatores (Tovar et al., 2006). A extrusão é um tratamento térmico que pode remover ramificações da estrutura da amilopectina, as quais formam novas ligações com outros carboidratos que não podem ser

digeridos pelas enzimas. Acredita-se que o acréscimo de ácido cítrico favoreça a formação de AR, assim como a adição de fibras pode diminuir a solubilidade do amido. Outros dados sugerem que a remoção das fibras e adição de proteínas possam favorecer a formação de interações amido-proteína, as quais podem aumentar a resistência enzimática, assim como a formação de complexos amilose-lipídeo pode diminuir a digestibilidade do amido (Guy, 2001).

O amido resistente (AR) pode ser classificado em:

- Tipo 1: corresponde ao amido indigerível devido à barreira física presente na matriz do alimento; observado principalmente em alimentos que sofrem exaustiva moagem, não causando extensa deterioração estrutural nos grânulos de amido (Tovar et al., 2006).
- Tipo 2: corresponde às frações não gelatinizadas, observado em amidos com padrão de difração de raio X do tipo B (Tovar et al., 2006).
- Tipo 3: corresponde às frações de amido retrogradado, no qual o mesmo se recristaliza após a gelatinização (Tovar et al., 2006).
- Tipo 4: corresponde ao amido quimicamente modificado através de ligações cruzadas entre cadeias poliméricas, despolimerização e pré-gelatinização (Brennan, 2005).

A recomendação de ingestão diária de fibra alimentar é de 20-35g/dia para indivíduos adultos ou 10-13g/1000 kcal; para as crianças com dois anos ou mais, a recomendação é de 5g/dia (Marlett, McBurney e Slavin, 2002). Friedenreich, Brant e Riboli (2004) observaram, em um estudo de meta-análise, que o consumo superior a 27g/dia de

fibra, comparado a um consumo inferior a 11g/dia, reduziu em 50% o risco do desenvolvimento de câncer colo-retal. Para Freudenheim et al (1990), o consumo de fibras insolúveis oferece uma proteção de 70% para o desenvolvimento de câncer colo-retal, sendo menor a proteção oferecida pelas fibras solúveis. Com relação ao AR, estima-se que um consumo igual ou superior a 20g/dia ou 5-13g/1000 kcal poderia oferecer benefícios à saúde e prevenir doenças cérebro-cardiovasculares, dislipidemias, diabetes, obesidade e alguns tipos de cânceres (Tungland e Mayer, 2002).

Estudos anteriores sugerem que os alimentos ricos em fibra alimentar com compostos bioativos em sua composição, como os polifenóis, fitosteróis e carotenóides, formam complexos associados às paredes celulares através de ligações químicas e interações físicas. Os polifenóis podem formar complexos com os carboidratos, reduzindo sua absorção e, conseqüentemente, melhorando a resposta glicêmica pós-prandial (Jiratanan e Liu, 2004; Lajolo et al., 2001).

Islãs-Hernández et al. (2007), avaliando as características do amido presente nas farinhas de milho e farinha de milho enriquecida com 20% de farinha de amaranto, utilizadas para a preparação de tortillas através da extrusão, observaram maior conteúdo de amido resistente que amido retrogradado.

Tabela 1.2 Composição de fibras insolúveis e solúveis em diferentes alimentos.

	Fibra insolúvel	Fibra solúvel
	(g/100g)	
Polpa de maçã ¹	47,7	12,6
Polpa de limão ¹	26,0	19,8
Farelo de trigo ¹	41,6	2,9
Farelo de aveia ¹	7,9	7,8
All-bran ¹	25,4	2,5
<i>Amaranthus cruentus</i> (moído) ²	8,2	1,8
<i>Amaranthus cruentus</i> (expandido e moído) ²	9,1	1,7

Fonte: ¹Saura-Calixto, 2006); ² (Cardozo e Eitenmiller, 1988).

Em estudo realizado com *Amaranthus cruentus* vars. AAI-1492, Qureshi, Lehmann e Peterson (1996) observaram um aumento da fração insolúvel das fibras e conseqüente diminuição da fração solúvel após tratamento térmico. As amostras moídas apresentaram 82% de fibras insolúveis e 18% de fibras solúveis; após tratamento térmico (expandido) e moagem, foram observadas 84% de fibras insolúveis e 16% de fibras solúveis. Quando frangos foram alimentados com dietas contendo as amostras, observou-se diminuição significativa nas concentrações séricas de colesterol total, colesterol-LDL e triacilgliceróis, assim como um aumento na atividade da enzima 7 α -hidroxilase. A enzima 7 α -hidroxilase é uma enzima chave na biossíntese dos ácidos biliares, de forma que um aumento na sua atividade pode estar relacionado com uma maior excreção de esteróis (saís biliares) fecais e colesterol endógeno devido à ação das fibras dietéticas.

A bile é sintetizada no fígado e constituída basicamente de fosfatidilcolina e saís biliares (ácidos biliares conjugados). Os ácidos biliares encontram-se completamente ionizados em pH fisiológico; são compostos anfipáticos com uma face polar e outra apolar,

atuando como emulsificante dos lipídeos da dieta no intestino, que sofrerão degradação pelas enzimas pancreáticas. Os ácidos biliares são sintetizados a partir do colesterol, que ativa a enzima limitante *colesterol-7- α -hidroxilase*. Os compostos mais comuns são o ácido cólico e o quenodesoxicólico, chamados de ácidos biliares primários (Champe, Harvey, Ferrier, 2006).

Antes de deixarem o fígado, os ácidos biliares primários são conjugados, podendo haver ligação com uma molécula de glicina ou taurina. Após serem conjugados, recebem o nome de sais biliares, sendo estes ácidos glicocólico, glicoquenodesoxicólico, taurocólico e tauroquenocólico. Os sais biliares apresentam natureza anfipática aumentada em relação aos ácidos biliares. Agem como detergentes, sendo a única forma significativa de excreção de colesterol. A ação das bactérias intestinais pode converter os sais biliares em ácidos biliares, assim como a conversão dos ácidos biliares primários em secundários (ácidos desoxicólico e litocólico) (Champe, Harvey, Ferrier, 2006).

Chamamos de circulação entero-hepática o processo contínuo de liberação de sais biliares no intestino e sua passagem pelo duodeno, onde parte é convertida e reabsorvida, principalmente no íleo, para retornar ao fígado. A cada dia, entre 15 e 30g de sais biliares são secretados no duodeno, sendo apenas 0,5g eliminado junto às fezes, ou seja, apenas 0,5g é sintetizado diariamente no fígado a partir do colesterol (Champe, Harvey, Ferrier, 2006).

O intestino grosso é colonizado por 100g de bactérias, sendo as mais abundantes as bactérias anaeróbicas Gram-negativas do gênero *bacterioides* e Gram-positivas dos gêneros *bifidobactérias*, *eubactéria*, *lactobacillus* e *clostridium*; as quais competem com microorganismos patogênicos externos, quanto à disponibilidade de substratos, ponto de

adesão a receptores da mucosa intestinal, produção de substâncias tóxicas a outras bactérias, produção de antibióticos, produção de moléculas que atuam na codificação gênica (genoma bacteriano), etc. (Goñi e López-Oliva, 2006).

A mucosa intestinal dos mamíferos se renova a cada dois ou três dias, renovação esta regulada por mecanismos de proliferação, diferenciação e apoptose das células epiteliais. A apoptose celular atua como um mecanismo protetor, fundamental para a manutenção da homeostase do tecido. Os mecanismos de proliferação, diferenciação e apoptose são geneticamente programados, podendo ser iniciados ou inibidos pela ausência ou presença de fatores de crescimento epitelial, dentre outros, assim como fator exógeno ambiental e dietético (Goñi e López-Oliva, 2006).

A fermentação do amido resistente forma ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que favorecem uma diminuição do pH intestinal, diminuição de patógenos da microflora colônica, diminuição na solubilidade dos ácidos biliares, aumento na absorção de minerais e redução na absorção de amônia. Os AGCCs formados no intestino são os ácidos acético, propiônico e butírico (Wong et al., 2006).

Os AGCC são ácidos voláteis absorvidos pelo epitélio do cólon e, uma vez no seu interior, podem ser utilizados como substrato energético pelos colonócitos ou transportados através da veia porta ao fígado e outros tecidos periféricos, nos quais são metabolizados (Márquez, 1999).

O ácido acético ou acetato é o principal AGCC do colón, o qual é rapidamente absorvido e transportado para o fígado, no qual é utilizado como substrato primário para a síntese do colesterol (Wong et al., 2006).

O ácido propiônico ou propionato é substrato utilizado na gliconeogênese hepática. Estudos em animais sugerem que o propionato inibe a síntese de colesterol por inibir as

enzimas 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintase e 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase. O acetato e o propionato induzem apoptose de células tumorais colo-retal e estimulam a imunogenicidade de células cancerosas (Wong et al., 2006).

O ácido butírico ou butirato apresenta efeito trófico ao epitélio colônico e parede intestinal. Em relação ao seu efeito trófico, o butirato é utilizado como aporte calórico pelos colonócitos; altera o pH intestinal inibindo a ação da enzima α -dehidroxilase, a qual converte os ácidos biliares primários em secundários, que poderiam interferir na apoptose de células danificadas induzindo à carcinogênese. Atua ainda como regulador da expressão gênica como cofator de proteínas nucleares, modulador de enzimas nucleares ou ainda através da interação com proteínas G (Wong et al., 2006; Goñi e López-Oliva, 2006).

A diminuição do pH aumenta a biodisponibilidade de cálcio, o qual diminui a atividade citolítica do conteúdo intestinal inibindo a hiperproliferação de células epiteliais, tanto por um efeito direto no metabolismo celular, como por um efeito indireto via complexação com compostos citolíticos (Pacheco e Sgarbieri, 2008). O cálcio liga-se aos sais biliares e ácidos graxos de cadeia longa, inibindo seus efeitos sob a mucosa colônica (Young et al., 2005).

O ácido butírico favorece um aumento no fluxo sanguíneo do cólon, gerando um aumento na microcirculação e desenvolvimento da mucosa. O estímulo ao crescimento celular se dá na base das criptas, onde se encontram os colonócitos saudáveis; em contrapartida, possibilita uma inibição do crescimento celular nas regiões apicais, geralmente onde se encontram as células malignas e pré-malignas, favorecendo a apoptose. Estimula ainda maior excreção de insulina e hormônios enterotróficos, etc. (Goñi e López-Oliva, 2006).

Sayar, Jannink e White (2007), avaliando diferentes espécies de aveia, observaram que as fibras solúveis apresentam melhor impacto à saúde do cólon que as insolúveis. A presença de β -glucanas favorece a maior formação de propionato e butirato, em comparação ao amido resistente e à pectina. A redução do pH no cólon favorece ainda maior absorção de cálcio e magnésio, diminuindo a formação de ácidos biliares secundários, considerados comutagênicos e promotores de tumores (Zampa, 2004).

1.2.1.5 VITAMINAS E MINERAIS

O conteúdo de niacina e tiamina no amaranto é inferior aos encontrados nos grãos de cereais (1,0 – 1,5 e 0,10 – 0,14mg/100g respectivamente), sendo superior, porém, em riboflavina (0,19 – 0,32 mg/100g) e ácido ascórbico (3,0 – 7,1 mg/100g) (Guzmán-Maldonado e Paredes-López, 1998).

O ácido ascórbico (vitamina C) é um antioxidante dietético hidrossolúvel, que pode estar envolvido na redução dos danos causados pelos radicais livres à célula, prevenindo a aterosclerose, câncer, diabetes, catarata, entre outras patologias relacionadas com o dano ao sistema biológico. Apresenta proteção antioxidante indireta na regeneração da forma reduzida (ativa) de antioxidantes biológicos, como a glutatona, o tocoferol e aos flavonóides, além de favorecer a absorção de ferro, devido à sua capacidade de reduzi-lo ao seu estado ferroso, mais absorvível no intestino. Participam da síntese do colágeno, L-carnitina e conversão da dopamina em norepinefrina (Jabob, 1999; Li e Schellhorn, 2007).

A riboflavina é uma vitamina hidrossolúvel que atua como uma coenzima, dinucleotídeo flavina adenina (FAD) e mononucleotídeo flavina adenina (FMN), essencial

para o metabolismo de carboidratos, lipídeos e aminoácidos. Atua ainda como antioxidante, podendo inibir processos de peroxidação lipídica e câncer (Combs, 2002; Powers, 2002; Rivlin, 2001).

Em relação à vitamina E, o amaranto apresenta 1,57 mg/100g de α -tocoferol; 0,59 – 1,15 mg/100g de β -tocotrienol e 0,10 – 0,87 mg/100g de γ -tocotrienol (Guzmán-Maldonado e Paredes-López, 1998). A vitamina E encontra-se presente nas membranas biológicas, atuando como antioxidante no combate à oxidação dos fosfolipídios insaturados pela ação de espécies reativas de oxigênio (Combs, 2002). O γ -tocotrienol regula a síntese de colesterol, degradando a enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMGCoA) redutase, responsável pela biossíntese de colesterol (Shils et al., 2003).

Qureshi, Lehmann e Peterson (1996), alimentando frangos com dieta elaborada com 5% de óleo de *amaranthus*, contendo 3,6 mg/100g de γ -tocotrienol, observaram significativa redução na atividade da HMGCoA redutase em comparação aos grupos alimentados com dieta controle e grãos de amaranto expandidos e moídos. Entretanto ambas as dietas contendo óleo e grãos expandidos e moídos de amaranto apresentaram um aumento na atividade da enzima colesterol 7 α -hidroxilase, provavelmente em resposta ao aumento na excreção de esteróis fecais.

O grão do amaranto apresenta 3,2 a 3,9% de minerais, sendo fonte de cálcio e ferro (Guzmán-Maldonado e Paredes-López, 1998). Entretanto Ologunde et al. (1991) relata baixa biodisponibilidade do ferro presente no grão de amaranto, possivelmente devido ao seu conteúdo de taninos e ácido fítico. O cálcio é um mineral extremamente importante para a manutenção da estrutura óssea, sendo necessária ingestão adequada nos anos pré-puberais e adolescência, fase na qual ocorre o desenvolvimento e crescimento. A ativação

de várias enzimas, principalmente proteases e dehidrogenases, é feita pelo cálcio; além de influenciar o transporte das membranas celulares, a transmissão nervosa e a regulação da função muscular cardíaca (Anderson, 2002; Weaver, 2001).

O ferro é um importante componente das heme-proteínas, que apresentam um grupo prostético porfirina ligado a ele. Participa das funções da hemoglobina, no transporte do oxigênio dos pulmões para os tecidos e no armazenamento de oxigênio nos músculos através da mioglobulina. Encontra-se presente nos citocromos, que são compostos extremamente importantes para o bom funcionamento da cadeia respiratória, assim como outras enzimas como NADH desidrogenase e succinato desidrogenase, também presentes no metabolismo energético. É também um mineral altamente reativo, podendo, através de reação redox, causar dano a componentes celulares como ácidos graxos, proteínas e ácidos nucleicos, embora seja muito importante ao organismo (Anderson, 2002; Yip, 2001).

1.2.1.6 FITOQUÍMICOS

O amarantho apresenta, em sua composição, 2,0 a 4,0 mg/g de compostos fenólicos, especialmente flavonóides, os quais exibem efeito biológico como ação anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral, antialérgica e vasodilatador, além de inibir a peroxidação lipídica, agregação plaquetária e enzimas lipoxigenases (Guzmán-Maldonado e Paredes-López, 1998).

Os flavonóides podem atuar como modulador do metabolismo de carcinógenos; como antioxidante, protegendo o DNA do estresse oxidativo e como inibidor da proliferação celular (Pacheco e Sgarbieri, 2008). Os flavonóides apresentam ação efetiva na

prevenção da proliferação celular e carcinogênese, além de induzir a apoptose (principalmente a quercetina) de diversas células tumorais (Shils, 1998). Segundo Gee, Hara e Johnson (2002), a quercetina suprime a mitose de células tumorais e aumenta a apoptose celular.

1.3 EXTRUSÃO

A extrusão é um processo termoplástico, no qual o atrito e o trabalho mecânico são combinados ao calor, promovendo a gelatinização do amido e a desnaturação das proteínas, alterando texturas e possibilitando a moldagem do material extrusado em formas diversas. É um processo versátil e relativamente de baixo custo (Mercier e Cantarelli, 1986).

Essa técnica vem sendo utilizada há mais de 50 anos, para a obtenção de produtos intermediários e acabados para o consumo humano. No ano de 1960, construiu-se o primeiro extrusor, com capacidade para processar 5 toneladas/hora. Esse feito abriu as portas para novas aplicações, como o aumento do número de cereais prontos para consumo, fabricação de *snacks* doces e salgados, croutons para sopas e saladas, rações para animais e alimentos pré-cozidos para utilização na alimentação infantil. Possibilitou significativo aumento no consumo de cereais. Em 1970, ocorreu um refino no processo, o que possibilitou a pasteurização e a homogeneização, levando ao desenvolvimento de produtos com mais de um ingrediente. Em 1980, com os avanços tecnológicos, ocorreu uma expansão na utilização da extrusão e sua aplicação na fabricação de cookie e biscoito creaker (Harper, 1998).

Com relação ao equipamento, o extrusor pode ser composto de parafuso único ou duplo, sendo que a escolha por qual tipo deverá ser utilizada para a extrusão de um produto irá variar conforme características do mesmo, como por exemplo, o teor de umidade. Segundo Colonna, Tayeb e Mercier (1998), a extrusão em curto tempo, temperatura elevada e extrusor de parafuso duplo podem favorecer a formação de açúcares de baixo peso molecular.

Segue abaixo uma figura com o esquema de um extrusor.

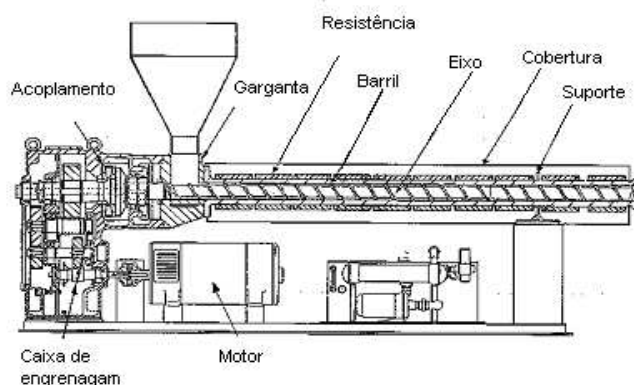


Figura 1.2: Esquema de um extrusor. (Fonte: www.empaquesplasticos.com.mx)

A extrusão como qualquer tratamento térmico, pode promover perdas na qualidade nutricional dos cereais, mas quando bem monitorado e controlado, proporciona benefícios.

Comparada com outros tipos de cozimento, a extrusão processa o alimento com teor de umidade entre 10 – 40% do peso, em base seca. O teor de umidade está diretamente relacionado com as alterações sofridas pelo alimento durante o processamento, assim como

a temperatura (100 – 180°C), que favorece a utilização de menor tempo de processamento. Biopolímeros de amido, óleos e proteínas podem sofrer alterações devido à temperatura e umidade empregadas na extrusão (Guy, 2001).

Condições brandas de extrusão podem favorecer a digestibilidade das proteínas, elevando assim seu valor nutricional, devido à inativação de inibidores de proteases. O controle do teor de umidade é outro fator que influencia a qualidade das proteínas, sendo que teores entre 12 – 18% podem favorecer a quantidade de nitrogênio protéico utilizável (NPU) e o valor biológico (VB) da mesma. Condições severas, no entanto, podem reduzir sua digestibilidade, assim como a biodisponibilidade de aminoácidos, principalmente lisina, devido à reação de Maillard (Asp e Björck, 1998).

O processo de cozimento por extrusão do amaranto tem se mostrado eficaz, segundo Mendoza e Bressani (1987), produzindo um alimento com proteínas de boa qualidade. O cozimento por extrusão favorece algumas alterações nos macronutrientes, como a gelatinização do amido, relacionada com o grau de digestibilidade do mesmo. Há relatos de que as moléculas de amilose e amilopectina sofrem redução em seu peso molecular. Quanto maior a digestibilidade, maior a absorção de glicose, ocasionando aumento nos níveis séricos de glicose e insulina, o que pode aumentar os riscos do desenvolvimento de resistência à insulina e diabetes tipo 2. Condições controladas, porém, favorecem a formação de amido resistente (AR) (Guy, 2001).

Em relação às proteínas, a extrusão promove aumento na digestibilidade das mesmas por favorecer a desnaturação, assim como a inativação de algumas enzimas. Altas temperaturas e baixa umidade durante a extrusão podem promover a reação de Maillard, devido à redução de açúcares que se adicionam aos aminoácidos, como a lisina,

favorecendo a diminuição do valor nutricional da proteína. A lisina é um aminoácido limitante nos cereais; sua depleção afeta o crescimento de crianças e animais jovens (Guy, 2001).

Guerra-Matias e Arêas (2005), avaliando a resposta insulínica e glicêmica de mulheres ao consumir amaranto extrusado, concluíram que o mesmo é rapidamente digerido devido ao seu alto índice glicêmico, comparado ao pão branco (referência). Comprovaram ainda a sua alta capacidade em estimular a síntese de insulina, através dos resultados obtidos após avaliação da curva de resposta insulínica sérica. Baseado em tais resultados, conclui-se que o consumo do amaranto extrusado seria uma opção saudável aos atletas, que, após treinamento, necessitam fazer reposição das reservas de glicogênio muscular e hepático, depletadas durante atividade física. O consumo do amaranto poderia ainda ser recomendado a pacientes celíacos para um controle glicêmico adequado.

A oxidação lipídica seria a maior causa da perda das qualidades sensorial e nutricional dos alimentos, caso a extrusão afetasse os lipídeos. Esta possibilidade, porém, não ocorre caso as condições de processamento sejam bem controladas. Acredita-se que a formação de células de ar, observada em produtos expandidos, poderia levar a um aumento da área de superfície e, conseqüentemente, à oxidação dos lipídeos, porém a extrusão favorece a inativação das enzimas lipolíticas e outras responsáveis pela oxidação. Há ainda a formação de complexo amido-lipídeos, que torna os lipídeos mais resistentes à oxidação (Guy, 2001).

1.4 CONCLUSÃO

A literatura revisada sugere que o cultivo do amaranto granífero seria de grande interesse para o Brasil, visando não somente o consumo interno de um produto agrícola de valor nutricional excepcional, senão também pelas possibilidades de desenvolvimento do mercado de exportação para países importadores da Europa. No Brasil, faz-se necessário incentivar pesquisas que promovam o melhoramento, consumo e industrialização do grão de amaranto, uma vez que se trata de alimento nutricionalmente completo e encontra em terras brasileiras condições adequadas para seu cultivo.

Existem várias pesquisas que comprovam o efeito hipocolesterolemiantes do amaranto, porém estas foram desenvolvidas com a farinha desengordura ou as frações protéica, lipídica ou glicídica. A avaliação da resposta ao consumo da farinha integral do produto brasileiro se faz importante, visto que o processamento da mesma pode mascarar o efeito coquetel da matriz alimentar completa. A avaliação da aplicação da extrusão na qualidade do produto final abre portas para a empresa alimentícia, visando a criação de novos produtos a base de amaranto.

REFERÊNCIAS

1. ADA – AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION (anonymous). Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber. **Journal of American Dietetic Association**. Chicago, v.102, n.7, p.993-1000, jul. 2002.
2. Amaya-Farfan, J., Marcílio, R., Spehar, C.R. Deveria o Brasil investir em novos grãos para a sua alimentação? A proposta do amaranto (*Amaranthus sp.*). **Segurança Alimentar e Nutricional**. Campinas, v.12, n.1, p. 47-56, jan/dez, 2005.
3. Anderson, J.J.B. Minerais. In: Mahan, L.K.; Escott-Stump, S. **Krause: Alimentos, Nutrição & Dietoterapia**. 10.ed. São Paulo: Roca, 2002. 106-145 p.
4. Asp, N. G., Björck, I. Nutritional properties of extruded foods. In: Mercier, C., Linko, P., Harper, J.M. **Extrusion Cooking**. USA: American Association of Cereal Chemists, 1998. p. 399-434.
5. Becker, R.; Wheeler, E.L.; Lorenz, K.; Stafford, A.E.; Grosjean, O.K.; Betschart, A.A.; Saunders, R.M. A compositional study of amaranth grain. **Journal of Food Science**. Chicago, v.46, n.4, p.1175-1180, jul. 1981.
6. Bello-Peréz, L.A.; Montealvo, M.G.M.; Acevedo, E.A. Almidón: definición, estructura y propiedades. In: Lajolo, F.M.; Menezes, E.W. **Carboidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos**. São Paulo Editora da Universidade de São Paulo, 2006. 15-46 p.
7. Bemiller, J.N.; Whistler, R.L. Carbohydrates. In: Fennema, O.R. **Food Chemistry**. 3ªed. New York: Marcel Dekker, Inc, 1996. 158-221 p.
8. Berger, A.; Monnard, I.; Dionisi, F.; Gumy, D.; Hayes, K.C.; Lambelet, P. Cholesterol-lowering properties of amaranth flakes, crude and refined oils in hamsters. **Food Chemistry**. Orlando. v.81, n.1, p.119-124, may. 2003.
9. Bevilacqua, M.R. ; Gimeno, S.G.A. ; Matsumura, L.K. ; Ferreira, S.R.G. Hiperlipidemias e fatores dietéticos: estudo transversal entre nipo-brasileiros. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. São Paulo v. 51, n.4, p.547-558, jun. 2007.
10. Bowen, P.E.; Borthakur, G. Postprandial lipid oxidation and cardiovascular disease risk. **Current Atherosclerosis Reports**. Philadelphia. v.6, n.6, p.477-484, nov. 2004.
11. Brennan, C.S. Dietary fibre, glycaemic response, and diabetes. **Molecular Nutrition & Food Research**. Germany, v.49, n.6, p. 560-570, jun. 2005.

12. Cai, Y.Z.; Corke, H.; Wu, H.X. Amaranth. In: Wrigley, C.; Corke, H.; Walker, C. **Encyclopedia of Grain Science**. Oxford: Elsevier Academic Press, 2004, v.1, p.1-10.
13. Cardozo, M.S.; Eitenmiller, R.R. Total dietary fiber analysis of selected baked and cereal products. **Cereal Foods World**. St. Paul, v.33, p.414-419, 1988.
14. Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R. **Bioquímica Ilustrada**. 3ª. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 533 p.
15. Colonna, P., Tayeb, J., Mercier, C. Extrusion cooking of starch and starchy products. In: Mercier, C., Linko, P., Harper, J.M. **Extrusion Cooking**. USA: American Association of Cereal Chemists, 1998. p. 247-320.
16. Combs, G.F.J. Vitaminas. In: Mahan, L.K.; Escott-Stump, S. **Krause: Alimentos, Nutrição & Dietoterapia**. 10.ed. São Paulo: Roca, 2002. 65-105 p.
17. Costa, R.P.; Silva, C.C. Doenças cardiovasculares. In: Cuppari, L. **Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar Unifesp / Escola Paulista de Medicina – Guia de Nutrição: Nutrição Clínica no Adulto**. Editora Manole: São Paulo, 2002, 406p.
18. Czerwiński, J.; Bartnikowska, E.; Leontowicz, H.; Lange, E.; Leontowicz, M.; Katrich, E.; Trakhtenberg, S.; Gorinstein, S. Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. **Journal of Nutritional Biochemistry**. Lexington. v.15, n.10, p.622-629, oct. 2004.
19. Dreher, M.L. Dietary Fiber Overview. In: Cho, S.S.; Dreher, M.L. **Handbook of Dietary Fiber**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001. 1-16 p.
20. Escudero, N. L.; Arellano, M.L.; Luco, J.M.; Giménez, M.S.; Mucciarelli, S.I. Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. **Plant Foods for Human Nutrition**. New York, v.59, n.1, p.15-21, jan. 2004.
21. Ettinger, S. Macronutrientes: carboidratos, proteínas e lipídeos. In: Mahan, L.K.; Escott-Stump, S. **Krause: Alimentos, Nutrição & Dietoterapia**. 10.ed. São Paulo: Roca, 2002. 30-64 p.
22. Freudenheim, J.L. ; Graham, S. ; Horvath, P.J. ; Marshall, J.R. ; Haughey, B.P. ; Wilkinson, G. Risks associated with source of fiber and fiber components in cancer of the colon and rectum. **Cancer Research**. Philadelphia, v.50, n.11, p.3295-3300, jun. 1990.
23. Friedenreich, C.M., Brant, R.F., Riboli, E. Influence of methodological factors in a pooled analysis of 13 case-control studies of colorectal cancer and dietary fiber. **Epidemiology**. Philadelphia, v.5, p. 66-79, 1994.

24. Gamel, T.H. ; Linssen, J.P. ; Alink, G.M. ; Mosallem, A.S. ; Shekib, L.A. Nutritional study of raw and popped seed proteins of *Amaranthus caudatus* L and *Amaranthus cruentus* L. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. London, v.84, n.10, p.1153-1158, aug. 2004.
25. Gee, J.M.; Hara, H.; Johnson, I.T. Suppression of intestinal crypt cell proliferation and aberrant crypt foci by dietary quercetin in rats. **Nutrition and Cancer**. v.43, n.2, p.193-201, July 2002.
26. Goñi, I.; López-Oliva, E. Carbohidratos y salud gastrointestinal. In: Lajolo, F.M.; Menezes, E.W. **Carbohidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos**. São Paulo Editora da Universidade de São Paulo, 2006. 287-308 p.
27. Gorinstein, S.; Pawelzik, E.; Delgado-Licon, E.; Haruenkit, R.; Weisz, M.; Traktenberg, S. Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. London, v.82, n.8, p.886-891, Jun. 2002.
28. Guerra-Matias, A.C.; Arêas, J.A.G. Glycemic and insulinemic responses in women consuming extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L). **Nutrition Research**. West Lafayette. v. 25, n.9, p. 815-822, Sep. 2005.
29. Guy, R. **Extrusion cooking: Technologies and applications**. Woodhead Publishing Limited: Inglaterra, 2001. p.206.
30. Guzmán-Maldonado, S.H., Paredes-López, O. Functional products of plants indigenous to Latin America: amaranth, quinoa, common beans, and botanicals. In: Mazza, G. **Functional foods: biochemical & processing aspects**. Pennsylvania: Technomic Publishing Co, 1998. p.293-328.
31. Harper, J.M. Food extruders and their applications. In: Mercier, C., Linko, P. Harper, J.M. **Extrusion Cooking**. USA: American Association of Cereal Chemists, 1998. p. 1-16.
32. Hibi, M.; Hachimura, S.; Hashizume, S.; Obata, T.; Kaminogawa, S. Amaranth grain inhibits antigen-specific IgE production through augmentation of IFN- γ response *in vivo* and *in vitro*. **Citotechnology**. Netherlands, v.43, n.1-3, p.33-40, Nov. 2003.
33. Islas-Hernández, J.J.; Rendón-Villalobos, J.R.; Agama-Acevedo, E.; Tovar, J.; Bello-Pérez, L.A. Chemical composition and *in vitro* starch digestibility of corn tortillas with added amaranth flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. New York. v.87, n.12, p.2348-2352, Sep. 2007.
34. Jacob, R.A. Vitamin C. In: Shils, M.E. et al. **Modern Nutrition in Health and Disease**. 9.ed. Baltimore, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. 467-184 p.

35. Jiratanan, T.; Liu, R.H. Antioxidant activity of processed table beets (*Beta vulgaris var,conditiva*) and green beans (*Phaseolus vulgaris L.*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.52, n.9, p.2659-2670, may. 2004.
36. Karasch, M. Amaranth. In: Kiple, K.F., Ornelas, K.C. **The Cambridge World History of Food**. New York: Cambridge University Press, 2000, v.1. p. 75-81.
37. Kim, H.K.; Kim, M.J.; Cho, H.Y.; Kim, E-K.; Shin, D.H. Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. **Cell Biochemistry and Function**. England, v.24, n.3, p.195-199, may/jun 2006.
38. Kim, H.K; Kim, M-J; Shin, D-H. Improvement of lipid profile by amaranth (*Amaranthus esculantus*) supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats. **Annual Nutrition & Metabolism**. Vienna, v.50, n.3, p.277-281, feb. 2006.
38. Lajolo, F.M.; Saura-Calixto, F.; Penna, E.W.; Menezes, E.W. **Fibra dietética en Iberoamérica: tecnologia y salud**. São Paulo: Varela, 2001, 472p.
39. Li, Y.; Schellhorn, H.E. New Developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. **The Journal of Nutrition**. Bethesda. v.137, n.10, p.2171–2184, oct. 2007.
40. Lyon, C.K., Becker, R. Extraction and refining of oil from amaranth seed. **Journal of the American Oil Chemist's Society**. Champaign, v.64, n.2, p.233-236, fev. 1987.
41. Lobo, A.R., Silva, G.M.L. Implicações nutricionais no consumo de fibras e amido resistente. **Nutrição em Pauta**. São Paulo. ano IX, n.46, p.28-30, jan/fev. 2001.
42. Marcílio, R.; Amaya-Farfán, J.; Ciacco, C.F.; Spehar, C.R. Fracionamento do grão de *Amaranthus cruentus* brasileiro por moagem e suas características composicionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.23, n.3, p.511-516, set/dez. 2003.
43. Marcone, M.F., Kakuda, Y., Yada, R.Y. Amaranth as a rich dietary source of β -sitosterol and other phytosterols. **Plant Foods for Human Nutrition**. New York, v.58, n.3, p.207-211, set. 2003.
44. Marlett, J.A.; Mcburney, M.I.; Slavin, J.L. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. **Journal of the American Dietetic Association**, Bethesda, v.102, n.7, p.993-1000, jul. 2002.
45. Márquez, L.R. **A fibra terapêutica**. São Paulo: Americana de Publicações, 1999. 132p.
46. Martirosyan, D.M.; Miroshnichenko, L.A.; Kulakova, S.N.; Pogojeva, A.V.; Zolodov, V.I. Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension. **Lipids in Health and Disease**. London, v.6, n.1, 2007.

47. McCarty, M.F. Does postprandial storage of triglycerides in endothelial cells contribute to the endothelial dysfunction associated with insulin resistance and fatty diets? **Medical Hypotheses**. Cambridge. v.61, n.2, p.167-172, aug. 2003.
48. Mendonça, S. **Efeito hipocolesterolemizante da proteína de amaranto (*Amaranthus cruentus* BRS-Alegria) em hamsters**. 2005. 190p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
49. Mendoza, C., Bressani, R. Nutritional and functional characteristics of extrusion cooked amaranth flour. **Cereal Chemistry**. Saint Paul, v.64, n.4, p.218-222, 1987.
50. Menezes, E.W.; Lajolo, F.M. Marcadores *In Vivo* e *In Vitro* para avaliação de carboidratos. In: Lajolo, F.M.; Menezes, E.W. **Carboidratos em Alimentos Regionais Iberoamericanos**. São Paulo Editora da Universidade de São Paulo, 2006.
51. Mercier, C.; Cantarelli, C. **Pasta and extrusion cooked foods: some technological and nutritional aspects**. London, UK: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. 199p.
52. Moreira, R.O.; Santos, R.D.; Martinez, L.; Saldanha, F.C.; Pimenta, J.L.A.C.; Feijoo, J.; Jahnke, N.; Mangile, O.C.; Kupfer, R. Perfil lipídico de pacientes com alto risco para eventos cardiovasculares na prática clínica diária. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**. São Paulo v.50, n.3, p.481-489, jun. 2006.
53. Nelson, D.L., Cox, M.M., Lehninger, A.L. **Princípios de Bioquímica Lehninger**. 3ª.ed. São Paulo: Sarvier, 2002. p.1013
54. Nugent, A.P. Health properties of resistant starch. **Nutrition Bulletin**. London, v.30, n.1, p.27-54, mar. 2005.
55. Ologunde, M.O.; Shepard, R.L.; Afolabi, O.A.; Oke, O.L. Bioavailability to rats of iron from fortified grain amaranth flour. **International Journal of Food Science and Technology**. England, v.26, n.5, p. 493-500, oct. 1991.
56. Pacheco, M.T.B.; Sgarbieri, V.C. **Alimentos Funcionais**. Disponível em: <www.alimentarium.com/artigos/AlimentFuncionaisApostila.doc>. Acesso em: 2/05/08.
57. Plate, A.Y.A., Arêas, J.A.G. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. **Food Chemistry**. Oxford, v.76, n.1, p.1-6, jan. 2002.
58. Powers, H.J. Riboflavin (vitamin B-2) and health. **American Journal of Clinical Nutrition**. Houston. v.77, n.6, p.1352-1360, jun. 2003.
59. Qian, J.; Kuhn, M. Characterization of *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* starch. **Starch/Stärke**. Weinheim, v.51, n.4, p.116-120, apr. 1999.

60. Qureshi, A.A.; Lehmann, J.W.; Peterson, D.M. Amaranth and its oil inhibit cholesterol biosynthesis in 6-week-old female chickens. **The Journal of Nutrition**. Bethesda, v.126, n.8, p.1972-1978, aug.1996.
61. Rivlin, R.S. Riboflavin. In: Bowman, B.A.; Russell, R.M. **Present Knowledge in Nutrition**. 8° ed. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 2001, p.191-198.
62. Saura-Calixto, F. Evolución del concepto de fibra. In: Lajolo, F.M.; Menezes, E.W. **Carboidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos**. São Paulo Editora da Universidade de São Paulo, 2006. 235-254 p.
63. Sayar, S.; Jannink, J-L; White, P.J. Digestion residues of typical and high- β -glucan oat flours provide substrates for in vitro fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. California, v.55, n.13, p.5306-5311, jun. 2007.
64. Shils, M.E.; Olson, J.A.; Shike, M.; Ross, A.C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença** 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. v.1 e 2, 2016p.
65. Shin, D.H.; Heo, H.J.; Lee, Y.J.; Kim, H.K. Amaranth squalene reduces serum and liver lipid levels in rat fed a cholesterol diet. **British Journal of Biomedical Science**. London, v.61, n.1, p.11-14, mar. 2004.
66. Signori, L.U.; Plentz, R.D.M.; Irigoyen, M.C.; Schaan, B.D'A. O papel da lipemia pós-prandial na gênese da aterosclerose: particularidades do diabetes mellitus. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. São Paulo. v.51, n.2, p.222-231, mar. 2007.
64. Silva-Sánchez, C.; La Rosa, A.P.B.; Leon-Galván, M.F.; Lúmen, B.O.; Leon-Rodríguez, A.; Mejía, E.G. Bioactive peptides in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. California, v.56, n.4, p.1233-1240, feb. 2008.
65. Spehar, C.R.; Teixeira, D.L.; Cabezas, W.A.R.L.; Erasmo, E.A.L. Amarantho BRS Alegria: alternativa para diversificar os sistemas de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.38, n.5, p.659-663, may 2003.
66. Sposito, A.C.; Caramelli, B.; Fonseca, F.A.H.; Bertolami, M.C. IV Diretriz Brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose: Departamento de aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. São Paulo, v.88, supl.1, apr. 2007.
67. Stocker, R.; Keaney, J.F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiological Reviews**. Bethesda. v.84, n.4, p.1381-1478, oct. 2004.
68. Tovar, J. et al. Almidón Resistente: caracterización y análisis. In: Lajolo, F.M.; Menezes, E.W. **Carboidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2006. 63-88 p.

69. Tunland, B.C.; Meyer, D. Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. Chicago, v.3, n.1, p.73-92, Apr. 2002.
70. Wong, J.M.W.; Souza, R.; Kendall, C.W.C.; Emam, A.; Jenkins, D.J.A. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. **Journal of Clinical Gastroenterology**. Philadelphia, v.40, n.3, p.235-243, march 2006.
71. Weaver, C.M. Calcium. In: Bowman, B.A.; Russell, R.M. **Present Knowledge in Nutrition**. 8° ed. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 2001, p. 273-280.
72. Yip, R. Iron. In: Bowman, B.A.; Russell, R.M. **Present Knowledge in Nutrition**. 8° ed. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 2001. 311-328 p.
73. Young, G.P.; Hu Y.; Leu, R.K.L.; Nyskohus, L. Dietary fibre and colorectal cancer: A model for environment – gene interactions. **Molecular Nutrition & Food Research**. Germany, v.49, n.6, p.571-584, may. 2005.
74. Zampa, A.; Silvi, S.; Fabiani, R.; Morozzi, G.; Orpianesi, C.; Cresci, A. Effects of different digestible carbohydrates on bile acid metabolism and SCFA production by human gut micro-flora grown in an vitro semi-continuous culture. **Anaerobe**. England, v.10, n. 1, p.19-26, feb. 2004.
75. Zhao, J.; Whistler, R.L. Isolation and characterization of starch from amaranth flour. **Cereal Chemistry**. Saint Paul, v.71, n.4, p.392-393, 1994.

Capítulo 2

CAPÍTULO 2

RESPOSTA FISIOLÓGICA DO CONSUMO DE FARINHA CRUA E EXTRUSADA DE AMARANTO BRASILEIRO (Amaranthus cruentus BRS ALEGRIA) EM RATOS WISTAR

Cinthia Baú Betim

RESUMO

Importante fonte protéica de origem vegetal o amaranto se destaca por seu perfil aminoacídico, conteúdo de fibras, ácidos graxos insaturados, vitaminas e minerais. O objetivo deste trabalho foi comparar o conteúdo protéico, aminoacídico, fibras dietéticas e amido resistente da farinha de amaranto brasileiro (cv. Alegria) crua e extrusada, assim como seus efeitos fisiológicos no controle de dislipidemias. Foram utilizados 48 ratos machos Wistar, os quais receberam dieta AIN-93G elaboradas com 12 e 18% de proteína tendo sido acrescido farinha de amaranto nas dietas experimentais de forma a suprir 35% do conteúdo total de proteínas. Não foi observada diferença significativa (menor valor encontrado $p = 0,0781$ para fibra alimentar insolúvel) entre o conteúdo protéico, conteúdo de fibras, amido resistente e perfil aminoacídico das farinhas crua e extrusada, indicando

que as condições utilizadas no tratamento térmico não acarretaram perdas nutricionais. A suplementação com amaranto favoreceu maior produção de ácidos graxos de cadeia curta, especialmente ácido butírico, o que possivelmente tenha favorecido maior excreção fecal de lipídeos.

Palavras-Chave: amaranto brasileiro, amido resistente, ácidos graxos de cadeia curta, alimento funcional, dislipidemia, doenças cardiovasculares.

2.1 INTRODUÇÃO

Conhecido como alimento sagrado pelas civilizações Maia, Asteca e Inca, o Amarantho após a colonização espanhola passou por um grande período de esquecimento, entretanto em épocas recentes voltou a tomar o seu lugar entre os cultivos no México, América Central e América do Sul (Amaya-Farfan, Marcílio, Spehar, 2005). Importante fonte protéica de origem vegetal, o amarantho granífero apresenta sementes contendo de 14 a 18% em proteínas de alto valor biológico. Esta proteína é fonte de aminoácidos indispensáveis, com destaque para seu alto conteúdo de lisina, limitante nos grãos de cereais (Guzmán-Maldonado e Paredes-López, 1998). Os teores de triptofano, assim como dos sulfurados, metionina + cistina são também elevados, em comparação com os cereais e leguminosas, respectivamente (Amaya-Farfan, Marcílio, Spehar, 2005). Pelo seu perfil de aminoácidos nutricionalmente indispensáveis, o amarantho é considerado como fonte de proteínas de alta qualidade. Apresenta ainda potencial para a indústria alimentícia para fins especiais, por ser isento da fração gliadina, composta por prolaminas responsáveis pelas reações alérgicas em celíacos (Gorinstein et al., 2002; Marcílio et al., 2003).

Além da sua qualidade e conteúdo protéicos, o amarantho merece reconhecimento ainda por seu conteúdo ou qualidade do amido, fibra alimentar, ácidos graxos insaturados, vitaminas e minerais.

Quando comparado ao trigo, milho e aveia, o Amarantho apresenta conteúdo superior de fibra alimentar, a qual varia de 9 a 16% (Tosi et al., 2001). Qureshi, Lehmann e Peterson (1996), ao avaliar o *Amaranthus cruentus* (var. AAI-1492), observaram um aumento da

fração insolúvel das fibras e conseqüente diminuição da fração solúvel, após tratamento térmico.

O conteúdo de amido do grão varia de 56 a 78% do peso total da matéria seca (Menezes e Lajolo, 2006). Apresenta ainda em sua composição amido resistente (AR) aquele que não sofre a digestão pelas enzimas α -amilase, glicoamilase e sacarose isomaltase no intestino delgado, podendo se tornar substrato para fermentação pela microbiota intestinal e produzindo hidrogênio, dióxido de carbono, metano e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Nugent, 2005; Wong et al., 2006). O AR promove maior controle glicêmico, liberação de insulina, aumento da saciedade, favorecendo seu consumo principalmente entre diabéticos e obesos. Os ácidos graxos de cadeia curta produzidos após fermentação colônica apresentam diversas funções fisiológicas dentre elas ação hipocolesterolemizante.

A extrusão é um processo termoplástico, no qual o atrito gerado pelo trabalho mecânico, combinado ao calor, promove a gelatinização do amido e a desnaturação das proteínas, alterando texturas e possibilitando a moldagem do material extrusado em formas diversas (Mercier e Cantarelli, 1986). Em condições controladas pode favorecer a digestibilidade das proteínas, elevando assim seu valor nutricional; a gelatinização do amido, a qual está relacionada com o grau de digestibilidade do mesmo; redução do peso molecular das moléculas de amilose e amilopectina, favorecendo a formação de amido resistente (Guy, 2001).

O objetivo deste trabalho foi comparar o conteúdo protéico, perfil de aminoácidos e conteúdo de fibras dietéticas da farinha de amaranto brasileiro (cv. Alegria), crua e

extrusada, assim como seus efeitos fisiológicos no controle de dislipidemias em ratos *Wistar*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Farinha de Amaranto

Foram utilizados grãos de amaranto da espécie *cruentus* (BRS-Alegria), provenientes da Embrapa Cerrados (Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, Planaltina, DF, Brasil), os quais foram submetidos a moagem em moinho de facas (Marconi MA580) para obtenção da farinha. Procedeu-se à extrusão, realizada em escala laboratorial em extrusor monorosca Brabender (Duisburg – Alemanha, modelo GNF 1014/2), sob as seguintes condições: 18% de umidade, taxa de compressão 3:1; temperatura na 1ª zona de aquecimento, 60°-65°C; 2ª zona, 125°C e 3ª zona, 150°C. Após a extrusão o material foi moído novamente e acondicionado em embalagem plástica com armazenamento em refrigerador a 4°C.

2.2.2 Animais e dieta

Foram utilizados 48 ratos machos da linhagem Wistar, com 21 dias de vida, provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica – CEMIB da Universidade Estadual de Campinas. Os animais foram divididos em 4 grupos (n=12), os quais permaneceram em condições ambientais controladas, em gaiolas individuais de crescimento, com temperatura de $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 50 a 60%, com ciclo claro/escuro de 12 horas e com fornecimento de água e dieta *ad libitum*.

As dietas foram elaboradas segundo definição do American Institute of Nutrition (AIN 93-G), modificada para conter 12 ou 18% de proteínas. Na dieta do grupo experimental, a farinha de amaranto extrusada foi utilizada de forma a substituir 35% do conteúdo protéico. As quantidades dos ingredientes amido e lipídeos das dietas experimentais foram corrigidos visando manter composições próximas àquelas da dieta da AIN. As dietas foram elaboradas de forma a serem isoenergéticas e isocalóricas, seguindo as recomendações da dieta padrão do *American Institute of Nutrition*, apresentando diferença somente quanto ao conteúdo protéico.

Tabela 2.1: Composição das dietas (g/kg de dieta)

Ingredientes	Grupos			
	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
Caseína ¹	146,341	95,122	219,512	142,683
Amaranto ²	-	262,500	-	393,750
Amido	451,140	258,234	377,969	88,611
Amido dextrinizado	132,000	132,000	132,000	132,000
Sacarose	100,000	100,000	100,000	100,000
Óleo de soja	70,000	51,625	70,000	42,437
Fibras (celulose)	50,005	50,005	50,005	50,005
Mix mineral ³	35,000	35,000	35,000	35,000
Mix vitaminas ³	10,000	10,000	10,000	10,000
L-cistina	3,000	3,000	3,000	3,000
Bitartarato de colina	2,500	2,500	2,500	2,500
T-butilhidroquinona	0,014	0,014	0,014	0,014

¹ 83% de proteína; ² 14,1% de proteína; ³ Reeves, Nielsen e Fahey, 1993.

A Tabela 2.2 apresenta a composição centesimal das dietas, a qual foi determinada através de análises químicas: umidade (Instituto Adolfo Lutz, 1985); cinzas e proteína (AOAC, 1997); lipídeos (Bligh e Dyer, 1959); fibra bruta (AOAC, 1995) e carboidratos por cálculo de diferença.

Tabela 2.2: Composição centesimal das dietas, em base seca (g/100g).

	Dietas			
	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
Umidade	7,8 ± 0,06 ^a	6,9 ± 0,09 ^b	7,6 ± 0,03 ^A	6,3 ± 0,06 ^B
Cinzas	2,7 ± 0,07 ^b	3,5 ± 0,07 ^a	2,9 ± 0,07 ^B	3,8 ± 0,09 ^A
Proteína	13,5 ± 0,09 ^a	13,9 ± 0,13 ^a	19,8 ± 0,15 ^A	20,4 ± 0,37 ^A
Lipídeos	7,6 ± 0,00 ^a	7,5 ± 0,00 ^b	6,6 ± 0,03 ^A	7,2 ± 0,12 ^A
Fibra Bruta	2,9 ± 0,18 ^a	3,2 ± 0,12 ^a	3,5 ± 0,23 ^A	3,9 ± 0,06 ^A
Carboidratos	65,5 ± 0,17 ^a	65,1 ± 0,09 ^b	59,6 ± 0,40 ^A	58,4 ± 0,61 ^A

Resultados expressos em média (± erro padrão). Linhas com letras diferentes diferem entre si.

2.2.3. Caracterização aminoacídica e conteúdos de fibras e amido resistente das farinhas crua e extrusada de amaranto.

A análise dos aminoácidos das farinhas foi realizada segundo a metodologia descrita por White, Hart e Fry (1986) e Hangen, Frost e Augustin (1989), com modificações. As proteínas das farinhas foram hidrolisadas com ácido clorídrico 6 N, durante 24 horas. Após hidrólise, foi adicionado às amostras fenilisotilcianato (PITC). Os aminoácidos foram separados por HPLC em fase reversa e detectados e quantificados por detector UV a

254nm. A quantificação foi feita por calibração interna multinível, utilizando ácido alfa-aminobutírico (AAAB) como padrão interno.

A determinação de fibra bruta foi segundo metodologia descrita pela AOAC (1995). Para tanto, foram pesados 1 g de amostra em tubo digestor, adicionado 150 mL de H₂SO₄ (1,25%) e digerindo por 30 minutos em ebulição. Após esse período, as amostras foram filtradas a vácuo usando tela malha 200 mesh, com o auxílio de água quente. Ao resíduo, foram acrescentados 150 mL de NaOH 1,25% e colocado sob fervura por 30 minutos para digestão. Em seguida procedeu-se à filtragem em quente em papel filtro previamente tarado, lavando o resíduo final com água quente. O papel de filtro foi recolhido e colocado em um cadinho para secagem a 150°C, por 3 horas. As amostras foram então resfriadas, pesadas e incineradas em mufla a 550°C por 2 horas, sendo novamente pesadas após resfriamento. O conteúdo de fibra bruta se dá a partir do cálculo de diferença de peso, com a subtração do teor de cinzas do resíduo.

Para a determinação da fibra alimentar foi utilizada metodologia descrita por Asp et al. (1983), a qual se baseia na determinação do peso do resíduo resultante da eliminação do amido e proteína solúveis, através de hidrólise enzimática.

Para a determinação de amido resistente foi utilizada metodologia descrita por Faisant et al. (1995).

2.2.5 Ensaio biológico

Este protocolo experimental foi previamente aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da UNICAMP (n° 1171-2). Os animais

foram selecionados aleatoriamente de forma que seis animais de cada grupo foram sacrificados quando os animais completaram 20 dias de consumo de dieta e o restante, 48 dias. Foram extraídos intestino delgado, intestino grosso e cecum, os quais foram lavados em soro fisiológico e secos em gaze. Após pesagem e aferição do tamanho dos intestinos, o cecum foi lavado externamente e embalado, com seu conteúdo interno, e armazenamento em nitrogênio a -20°C para posterior análise.

2.2.5 Protocolo Experimental

2.2.5.1 Consumo alimentar e ganho de peso

O controle do consumo alimentar foi feito durante os 48 dias de ensaio pesando diariamente os comedouros. O ganho de peso foi acompanhado através da pesagem dos animais, duas vezes por semana, de forma a minimizar a manipulação e estresse dos animais.

2.2.5.2 Lipídeos totais nas fezes

As fezes utilizadas para a determinação de lipídeos totais foram secas, conforme descrito acima. O teor de lipídeos totais foi determinado pela metodologia de Bligh e Dyer (1959).

2.2.5.3 Ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) do conteúdo cecal foram determinados conforme metodologia descrita por Guerrant, Lambert & Moss (1982) e Canale, Valente & Ciotti (1984). A identificação e quantificação dos AGCC foram realizadas através de cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE (cromatógrafo SHIMADZU CORPORATION, modelo Prominence, detector de arranjo de diodos (SPD-M20A) no comprimento de onda de 210nm, utilizando coluna Luna 5u C-18 (2) 100^a (250 x 4.6 mm Part nº 00G-4252-EO Serial nº 340220-31). O volume injetado de amostra foi de 20 µL, utilizando como fase móvel H₂SO₄ 2,5 mM em temperatura ambiente, com fluxo de 0,4 mL/min. Os ácidos orgânicos foram cromatograficamente identificados pela comparação dos tempos de retenção com os dos padrões e quantificados usando as áreas dos picos encontrados.

2.3 Análise Estatística

Foi utilizado programa SAS (Statistical Analysis System) para realização das análises estatísticas dos resultados obtidos, tendo sido aplicado o teste de variância bivariada (ANOVA) entre as médias e o teste de Tukey, quando as diferenças foram significantes. Foram consideradas diferenças significativas entre as médias utilizando o critério $p \leq 0,05$.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extrusão é um tratamento térmico amplamente utilizado pela indústria alimentícia, o qual resulta em produtos nutritivos, sendo considerado como um bom método para melhorar o rendimento nutricional de diversos grãos. Tendo em vista que o objetivo deste trabalho era o estudo da resposta de ratos Wistar ao consumo de um produto processado de amaranto, os parâmetros de temperatura e umidade utilizados foram os já definidos em estudo realizado por Ferreira e Arêas (2004).

Com base nos resultados de Ferreira e Arêas (2004), optou-se em manter a temperatura de extrusão (150°C), com o teor de umidade de 18% na tentativa de se obter um produto com teor protéico adequado para o ensaio biológico. Na Tabela 2.2 está apresentada a composição centesimal dos produtos obtidos com as condições aplicadas no presente estudo, assim como a comparação com a composição daqueles obtidos por Ferreira e Arêas (2004).

Tabela 2.3: Composição centesimal das farinhas de amaranto extrusado.

Farinha	Umidade	Cinzas	Proteínas	Lipídeos
	(g/100g)			
15% umidade extrusado ¹	7,9 ± 0,3	3,1 ± 0,2	15,1 ± 0,8	0,2 ± 0,0
24% umidade extrusado ¹	11,1 ± 0,1	2,7 ± 0,0	13,7 ± 0,9	0,2 ± 0,0
Farinha crua ¹	10,8 ± 0,0	2,8 ± 0,2	13,6 ± 0,8	7,8 ± 0,3
18% umidade extrusado ²	6,7 ± 0,2	2,7 ± 0,1	16,3 ± 0,2	6,5 ± 0,1
Farinha crua ²	6,0 ± 0,1	2,7 ± 0,1	15,9 ± 0,6	7,3 ± 0,3

¹ dados referentes ao *Amaranthus caudatus* L Ferreira e Arêas (2004); ² dados referentes ao *Amaranthus cruentus* BRS Alegria, do presente estudo. Os dados foram expressos em média (± desvio padrão), dos dados obtidos de análise em triplicata.

Os resultados obtidos neste estudo, porém, indicam que as condições aplicadas, temperatura de 150°C e umidade de 18 %, no tratamento térmico não desfavoreceram o rendimento protéico de forma significativa e nem perda na qualidade nutricional do alimento, principalmente de aminoácidos como a lisina susceptível à degradação, comprovado através da análise do perfil de aminoácidos das farinhas, (Figura 2.1).

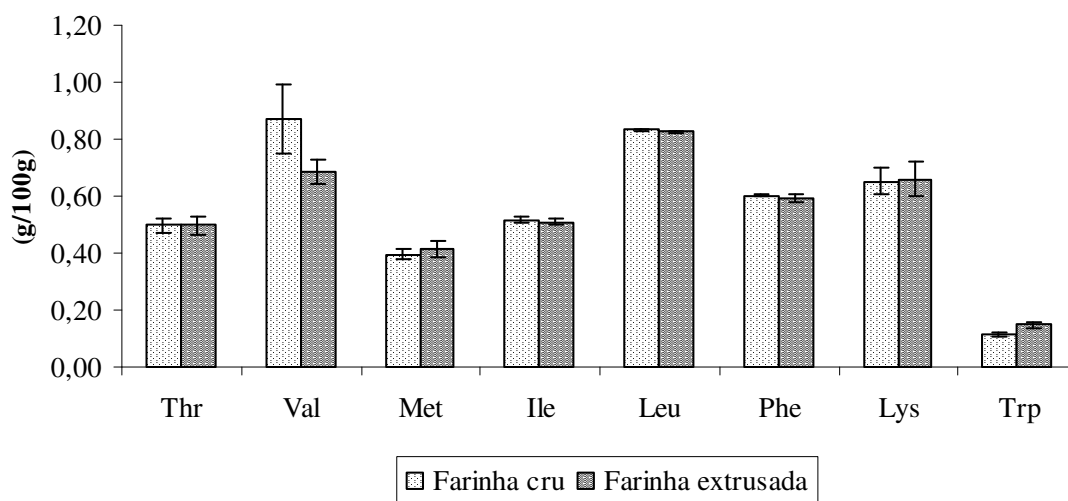


Figura 2.1: Perfil de aminoácidos indispensáveis na farinha de amaranto cru e extrusada a 150°C e 18% de umidade. Thr, Treonina; Val, Valina; Met, Metionina; Ile, Isoleucina; Leu, Leucina; Phe, Fenilalanina. Lys, Lisina, Trp, Triptofano. Cada valor representa a média ($\pm$ erro padrão) dos dados obtidos de análises em triplicata. Não foi encontrada diferença significativa (menor valor encontrado $p = 0,1963$ para o aminoácido valina) entre as farinhas.

Ao avaliar o conteúdo de fibra alimentar total, insolúvel e solúvel das farinhas crua e extrusada não foi observada diferença significativa (menor valor encontrado de $p = 0,0781$ para fibra alimentar insolúvel), conforme demonstrado na Figura 2.2. Os resultados obtidos revelam ainda que a farinha de amaranto apresenta teor de fibra alimentar superior ao das

farinhas habitualmente consumidas pela população como a de trigo (2,3%), mandioca (crua 6,4%; torrada 6,5%) e aveia em flocos (crua 9,1%), sendo superado apenas pela farinha de centeio, integral (15,5%) e de soja (20,2%), segundo dados da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (2006).

Estudo realizado por Tosi et al. (2001) partindo de grãos de *Amaranthus cruentus* com 14,2% de fibra alimentar (8,1% insolúvel; 6,1% solúvel), concluíram que a moagem dos grãos tem forte impacto sobre o conteúdo de fibras da farinha obtida, favorecendo a obtenção de produtos de excelente qualidade nutricional com nenhum ou pouco impacto ambiental, fazendo o uso apenas de meios físicos.

No presente estudo não foi observada diferença significativa ($p=0,2562$) no conteúdo de amido resistente na farinha que pudesse ser atribuído à extrusão, sugerindo não haver relação entre o conteúdo de amido resistente e o processo de retrogradação, o que pode levar à conclusão de que a resistência dos amidos do amaranto à ação das enzimas amilásicas seja uma característica nativa deste grão. Segundo Cai, Corke e Wu (2004) os grãos de amaranto da espécie *cruentus* apresentam em sua composição 48 a 63% de amido com apenas 22,1% de amilose em sua estrutura, enquanto que Qian e Kuhn (1999) tinham relatado 7,8% de amilose em flocos de amaranto *cruentus* comercializados na Bolívia e baixa tendência à retrogradação.

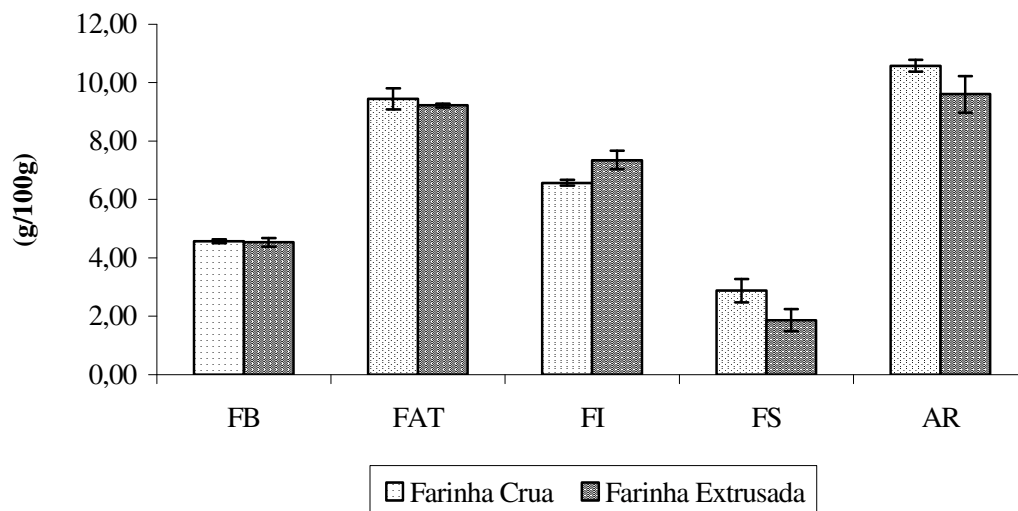


Figura 2.2: Conteúdo de fibra bruta, fibra alimentar total, insolúvel, solúvel e amido resistente na farinha de amaranto crua e extrusada. FB: Fibra Bruta, FAT: Fibra Alimentar Total; FI, Fibra Alimentar Insolúvel; FS, Fibra Alimentar Solúvel; AR, Amido Resistente. Cada valor representa a média ($\pm$ erro padrão) dos dados obtidos de análise em triplicata. Não foi encontrada diferença significativa (menor valor encontrado $p = 0,0781$ para fibra alimentar insolúvel) entre as farinhas.

Islas-Hernández et al. (2007), por sua vez, avaliaram as características do amido da farinha de milho e da farinha de milho formulada com 20% de farinha de amaranto, as quais foram utilizadas para a preparação de *tortillas* através de extrusão. Eles observaram maior conteúdo de amido resistente e de amido retrogradado, confirmando a observação anterior de que a resistência do amido possivelmente seja uma propriedade intrínseca do grão de amaranto. Embora se atribua à fração de amilopectina a propriedade de retardar a retrogradação da massa, os autores não foram além de demonstrar que a substituição de amilopectina do amaranto pela amilose do milho contribuiu para um menor grau de retrogradação do produto.

Com relação ao consumo das dietas, foi observada diferença significativa (menor valor encontrado $p = 0,0068$ entre AM12 x AIN18) no dia 18 entre os grupos AIN 12 x AM 12, AM 12 x AIN 18 e AM 18 x AIN 18. Tal diferença foi verificada novamente no dia 48 entre os grupos AIN 12 x AIN 18 e Am 12x AIN 18. Os resultados da Figura 2.3 apontam boa aceitação da dieta contendo o amaranto, sem saber-se se estaria relacionada à palatabilidade do produto extrudado ou se foi devido à inativação de fatores anti-nutricionais, assim como aumento da digestibilidade protéica e dos carboidratos (Mendonza, Bressani, 1987).

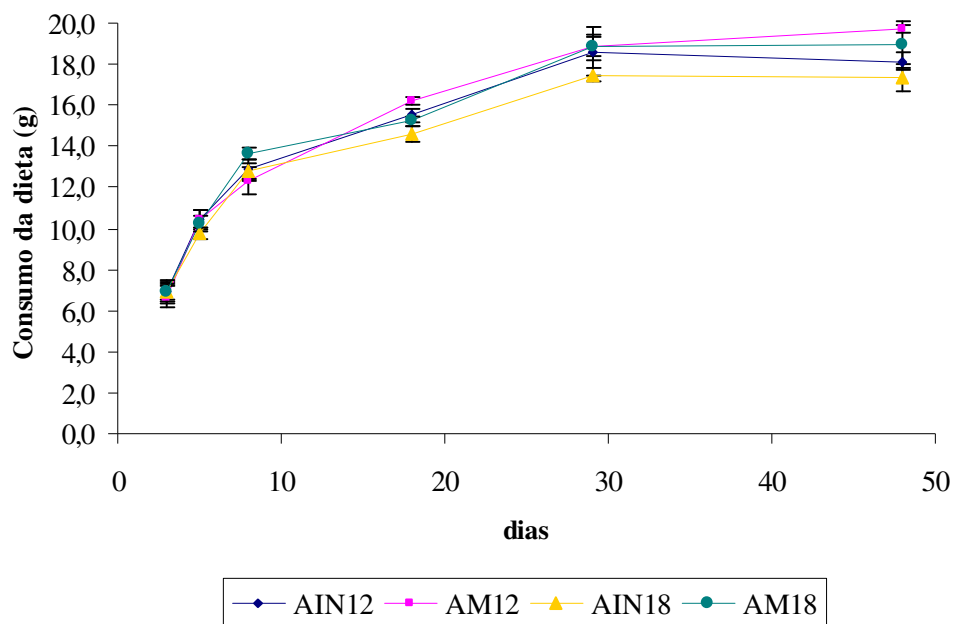


Figura 2.3: Consumo das dietas pelos grupos experimentais durante ensaio biológico. Cada valor representa a média ($\pm$ erro padrão) dos dados.

O consumo das dietas refletiu em um crescimento ascendente dos animais, apresentando diferença significativa no ganho de peso entre os grupos. Os resultados indicam que o conteúdo protéico oferecido nas dietas de 12 e 18% foi suficiente para assegurar bom ganho de peso; parâmetro este utilizado para avaliar o crescimento dos animais no presente estudo (na Tabela 2.3). Os dados indicam ainda que, apesar da American Institute of Nutrition (AIN-93G) estabelecer que o conteúdo protéico da dieta deva ser de 20%, o elevado valor biológico das fontes protéicas utilizadas, caseína e caseína + amaranto permitiu suprir as necessidades dos animais e favorecer crescimento adequado, mesmo quando oferecidas em uma quantidade inferior ao preconizado.

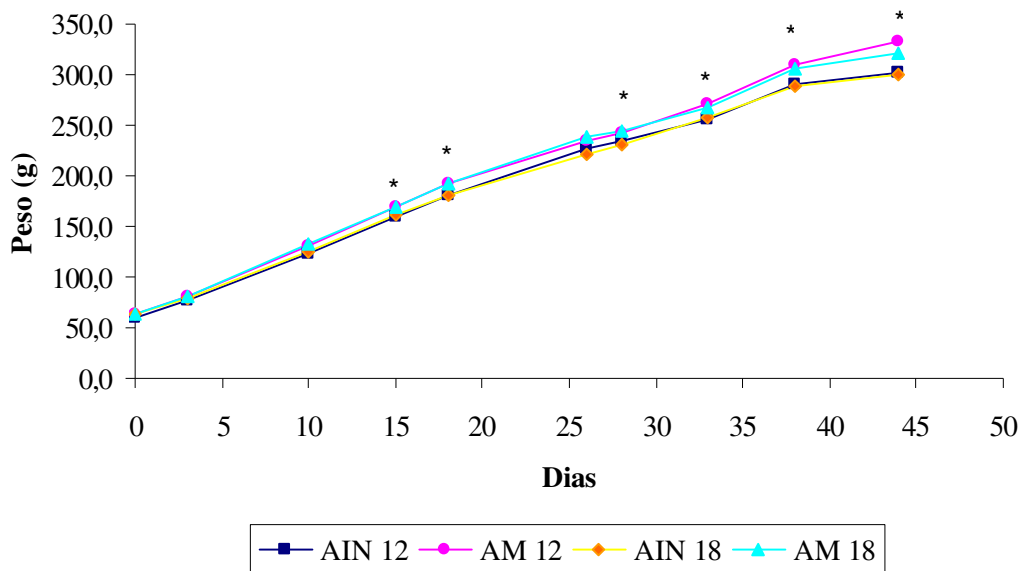


Figura 2.4: Ganho de peso dos animais durante ensaio biológico. Cada valor representa a média ($\pm$ erro padrão) dos dados. * Refere-se à diferença significativa: 15 dias AIN 12 x AM 18 $p = 0,0395$; 18 dias AIN 18 x AM 18 $p = 0,0440$; 28 dias AM 12 x AIN 18 $p = 0,0369$; 33 dias AM 12 x AIN 18 $p < 0,0001$; 38 dias AM 12 x AIN 18 $p = 0,0028$ e 44 dias AIN 12 x AM 12 $p = 0,0187$ e AM 12 x AIN 18 $p = 0,0093$.

Tabela 2.3: Peso corpóreo e ganho de peso dos animais, peso e tamanho dos intestinos após 48 dias de consumo das dietas.

Parâmetro	Grupos			
	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
Peso inicial (g)	54,8 ± 4,4	56,3 ± 6,4	56,1 ± 5,0	54,9 ± 6,1
Ganho de peso (g)	246,3 ± 23,3	277,2 ± 11,0	243,6 ± 16,0	266,8 ± 35,6
Intestino delgado (g)	5,3 ± 0,9	5,0 ± 0,8	4,9 ± 0,5	4,5 ± 0,6
Intestino delgado (g/100 g peso corpóreo)	1,7 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,6 ± 0,2	1,4 ± 0,1
Intestino delgado (cm)	124,7 ± 3,4	123,4 ± 2,2	120,2 ± 4,0	117,8 ± 8,4
Intestino grosso (g)	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,2
Intestino grosso (g/100 g peso corpóreo)	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,5 ± ,1	0,4 ± 0,1
Intestino grosso (cm)	20,5 ± 1,4	19,8 ± 2,3	21,2 ± 1,8	20,8 ± 2,3
Ceco (g)	0,4 ± 0,01	0,6 ± 0,10	0,5 ± 0,19	0,4 ± 0,09
Ceco (g/100 g peso corpóreo)	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0

Os valores estão expressos em média ($\pm$ desvio padrão) para seis ratos. Não foi encontrada diferença significativa (menor valor encontrado $p = 0,0855$ para ganho de peso) entre as médias.

Em relação ao peso dos órgãos e tamanho dos intestinos delgado e grosso, foi possível observar somente diferenças significativas ($p = 0,0216$) entre o peso do intestino grosso do grupo AIN 18 e AM 12.

Pode-se verificar na Figura 2.5 que houve maior excreção de lipídeos totais nos animais alimentados com as dietas contendo amaranto extrusado do que naqueles alimentados com a dieta padrão. Este achado foi considerado indício de que os resíduos do amaranto mostrem efeito hipolipidemiante no animal. Vale registrar a observação de que, apesar de conterem mais do que 100% a mais de gordura, o estado físico das fezes dos animais dos

grupos com amaranto não revelavam qualquer característica de esteatorréia, tal como derretimento espontâneo na hora da secagem.

Uma das possíveis explicações para o aumento dos lipídios fecais vem da associação que pode haver com a resistência à elevação dos níveis de lipídeos plasmáticos provocada em animais alimentados com o pseudocereal, como foi verificado por Czerwiński et al. (2004). Dessa forma, o aumento da excreção dos mesmos, seja pela ação das substâncias antioxidantes (Czerwiński et al., 2004), ou pelo tipo de fibras, proteínas presentes no alimento. Estudo de consumo de *Amaranthus cruentus* em humanos, realizado no Brasil, mostra que biscoito de amaranto integral é capaz de reduzir os níveis de lipídeos séricos em apenas duas semanas (Mohallen, 2006).

Maior excreção fecal de lipídeos foi observada entre os grupos alimentados com as dietas AM12 e AM18, as quais apresentavam em sua composição um acréscimo de fibras, tanto solúveis quanto insolúveis, tipicamente presentes no amaranto. Porém, mesmo tendo conhecimento de que a viscosidade das fibras solúveis seja um dos fatores que favorecem o aumento da excreção de lipídeos e a redução da reabsorção de colesterol, não seria possível responsabilizar totalmente esse fator pelos resultados obtidos, uma vez que na composição da farinha há outros nutrientes e substâncias bioativas que poderiam estar envolvidas no processo de excreção de lipídeos. Estudo realizado por Jacobs e Gallaher (2004) concluiu que houve evidências de que o consumo de grãos integrais reduz substancialmente os riscos para doenças aterosclerótica, cardiovascular e diabetes, sendo tal ação atribuída não somente as fibras, mas também aos fitoquímicos presentes no grão.

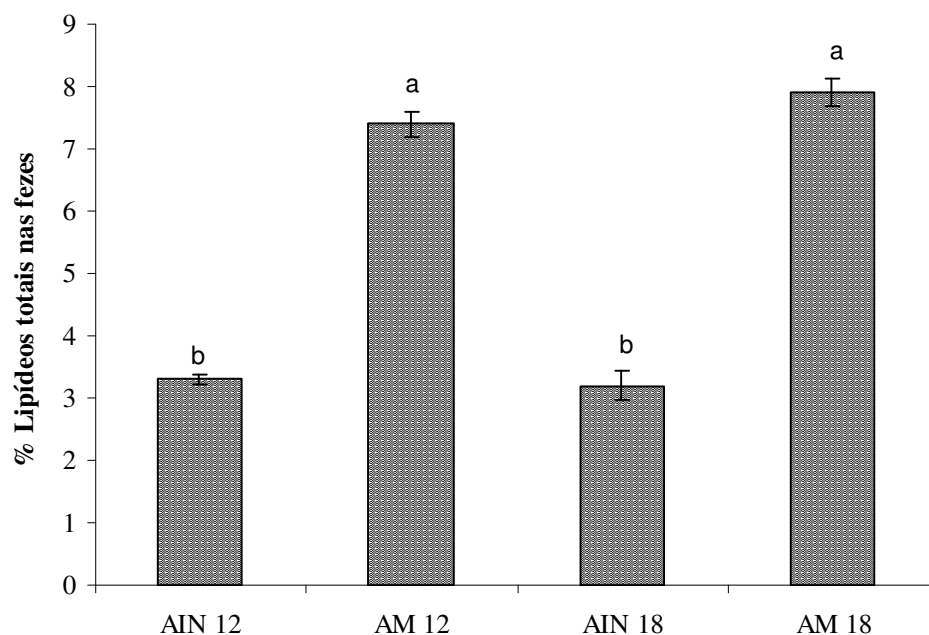


Figura 2.5: Conteúdo de lipídeos totais excretados nas fezes. Cada valor representa a média ($\pm$ erro padrão) dos dados obtidos de análise de seis animais. Colunas com letra diferente apresentaram diferença significativa.

Entretanto, sabe-se que a fermentação das fibras pelas bactérias do ceco e cólon produz os ácidos graxos de cadeia curta como os ácidos acético, propiônico e butírico. Estes ácidos graxos suprem de 50 a 75% da energia requerida pelos colonócitos, sendo o ácido butírico o primeiro a ser utilizado, seguido pelo acético e o propiônico. O ácido butírico participa também da regulação e diferenciação celular, além de estimular a imunogenicidade de células cancerosas (Drzikova et al., 2005; Nugent, 2005; Wong et al., 2006).

Maior produção de ácido butírico pode ser observada nos grupos alimentados com as dietas suplementadas com amaranto, não tendo sido observada diferença significativa na produção de ácido acético e propiônico. As dietas suplementadas com amaranto, quando

comparadas com as dietas AIN12 e AIN18, apresentaram o ácido butírico como principal produto final da sua fermentação, fato atribuído à presença de fibra solúvel e amido resistente em sua composição (Salgado e Livera, 2006). Desta forma há a possibilidade de que a ação hipocolesterolemiantes do amaranto seja devido, ao menos parcialmente, ao seu conteúdo de fibras e amido resistente.

Sabe-se ainda que os ácidos graxos de cadeia curta estimulam as células enterocromafin a liberar (5-HT), a qual regula o trânsito intestinal através dos receptores de 5-HT₃. A 5-hidroxitriptamina é transportada pelo sistema vagal eferente, estimulando a liberação da acetilcolina no plexo mesentérico colônico e resultando na contração muscular do cólon proximal (Fukumoto et al., 2003). Melhora no trânsito intestinal foi observada por Mohallen (2006) em estudo preliminar, realizado com humanos, os quais relataram aumento do número semanal de evacuações, após consumo diário de alguns biscoitos de amaranto, durante duas semanas.

Mohallen (2006), relata ainda em seu estudo diminuição na ingestão de alimentos após oito horas depois do consumo de alguns biscoitos de amaranto. Tendo em vista os resultados obtidos no presente estudo, a sensação de saciedade relatada pelos indivíduos do estudo de Mohallen (2006), pode estar relacionada com a maior produção de ácidos graxos de cadeia curta. A liberação do peptídeo YY é estimulada por ácidos graxos de cadeia curta, assim como aminoácidos, havendo indícios de que este peptídeo esteja envolvido nos processos de sinalização da saciedade (Gee e Johnson, 2005; Roux e Bloom, 2005; Ferrier et al., 2000; Cuche, Cuber e Malbert, 2000; Cherbut et al., 1998; Liljeberg e Björck, 1996). Em estudo realizado com humanos eutróficos e obesos Batterham et al. (2003), observaram maior consumo energético entre os obesos, assim como menores níveis séricos de peptídeo

YY, o que confirma a hipótese de que uma deficiência nos níveis séricos do peptídeo YY pode estar envolvido na patogênese da obesidade.

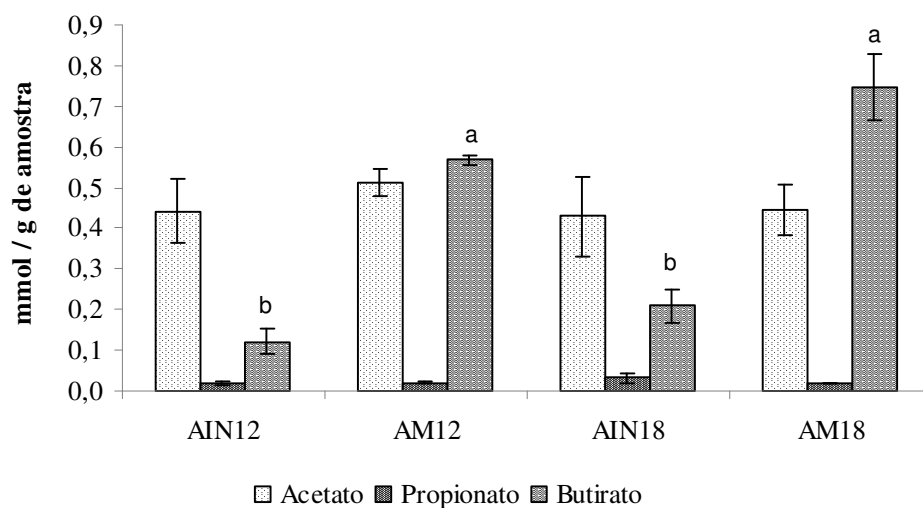


Figura 2.6: Conteúdo de ácidos graxos de cadeia curta no cecum dos animais. Cada valor representa a média ($\pm$ erro padrão) dos dados obtidos de análise de três animais. Colunas com letras diferentes apresentaram diferença significativa (menor valor de $p = 0,0068$).

Efeito semelhante foi observado em estudo realizado com ratos alimentados com dietas elaboradas com amido resistente de duas espécies de feijão, no qual foi observada maior produção de ácidos graxos de cadeia curta, assim como maior excreção de colesterol e ácidos biliares fecais (Han et al., 2003).

A maior produção de ácidos graxos de cadeia curta favorece a diminuição do pH do ceco e cólon, o que, por sua vez diminui a solubilidade dos ácidos biliares livres, assim como o potencial carcinogênico dos ácidos biliares secundários. O aumento da acidez do

cólon pode inibir a ação da enzima 7α -desidroxilase, a qual degrada os ácidos biliares primários à ácidos biliares secundários (Thornton, 1981).

2.5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, podemos concluir que as condições adotadas de umidade e temperatura para a extrusão e cocção não promoveram perda apreciável de aminoácidos.

O amaranto apresentou-se como um alimento promissor, o qual, além de fornecer proteínas de alto valor biológico e isentas de gliadinas, oferece aporte de fibras compatível com o de alimentos largamente utilizados na indústria alimentícia.

O estudo confirmou o efeito hipocolesterolemizante do amaranto já relatado em ratos mantidos em dietas hiperlipídicas e permitiu concluir que efeito benéfico análogo pode ser obtido também em animais recebendo dietas normolipídicas.

O consumo do amaranto favoreceu a excreção fecal de lipídeos no rato, regulando desta forma seus níveis séricos. Tal efeito não pode ser atribuído exclusivamente às fibras do grão, uma vez que não podemos excluir a participação de quaisquer outros componentes, tais como as demais substâncias bioativas.

REFERÊNCIAS

1. Amaya-Farfan, J., Marcílio, R., Spehar, C.R. Deveria o Brasil investir em novos grãos para a sua alimentação? A proposta do amaranto (*Amaranthus sp.*). **Segurança Alimentar e Nutricional**. Campinas, v.12, n.1, p. 47-56, jan/dez, 2005.
2. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of Analysis**, 15th ed. AOAC International, Arlington, Virginia, USA (1995).
3. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of Analysis**, 16th ed. AOAC International, Arlington, Virginia, USA (1997).
4. Asp, N.G.; Johansson, C.G.; Hallmer, H.; Siljeström, M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. Washington, v.31, n.3 , p. 476-482, may 1983.
5. Batterham, R.L.; Cohen, M.A.; Ellis, S.M.; Roux, C.W.L.; Withers, D.J.; Frost, G.S.; Ghatei, M.A.; Bloom, S.R. Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY₃₋₃₆. **The New England Journal of Medicine**. Waltham, v.349, n.10, p. 941-948, sep. 2003.
6. Bligh, E. G.; Dyer, W. J. A rapid method of total liped extration and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. Ottawa, v.37, p.911-917, 1959.
7. Cai, Y.Z.; Corke, H; Wu, H.X. Amaranth. In: Wrigley, C.; Corke, H.; Walker, C. **Encyclopedia of Grain Science**. Oxford: Elsevier Academic Press, 2004, v.1, p.1-10.
8. Canale, A.; Valente, M.E.; Ciotti, A. Determination of volatile carboxylic-acids (C1-C5i) and lactic-acid in aqueous acid-extracts of silage by high-performance liquid-chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. W. Sussex, v.35, n.11, p.1178-1182, nov. 1984.
9. Cherbut, C.; Ferrier, L.; Rozé, C.; Anini, Y.; Blottière, H.; Lecannu, G.; Galmiche, J-P. Short-chain fatty acids modify colonic motility through nerves and polypeptide YY release in the rat. **American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology**. Bethesda, v.275, n.6, p. G1415-G1422, dec. 1998.
10. Cuhe, G.; Cuber, J.C.; Malbert, C.H. Ileal short-chain fatty acids inhibit gastric motility by a humoral pathway. **American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology**. Bethesda, v.279, n.5, p.G925-G930, nov. 2000.

11. Czerwiński, J.; Bartnikowska, E.; Leontowicz, H.; Lange, E.; Leontowicz, M.; Katrich, E.; Trakhtenberg, S.; Gorinstein, S. Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. **Journal of Nutritional Biochemistry**. Lexington. v.15, n.10, p.622-629, oct. 2004.
12. Drzikova, B.; Dongowski, G.; Gebhardt, E.; Habel, A. The composition of dietary fibre-rich extrudates from oat affects bile acid binding and fermentation in vitro. **Food Chemistry**. Oxford, v.90, n.1-2, p.181-192, march/april 2005.
13. Faisant, N.; Planchot, V.; Kozłowski, F.; Pacouret, M.P.; Colonna, P.; Champ, M. Resistant starch determination adapted to products containing high level of resistant starch. **Sciences des Aliments**. France, v.15, n.1, p. 83-89, 1995.
14. Ferreira, T.A.P.C.; Arêas, J.A.G. Protein biological value of extruded, raw and toasted amaranth grain. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiás, v.34, n.1, p.53-59, 2004.
15. Ferrier, L.; Segain, J-P; Pacaud, P.; Cherbut, C.; Loirand, G.; Galmiche, J-P.; Blottière, H.M. Pathways and receptors involved in peptide YY induced contraction of a rat proximal colonic muscle *in vitro*. **Gut**. London, v.46, n.3, p. 370-375, mar. 2000.
16. Fukumoto M.; Tatewaki, M.; Yamada, T.; Fujimiya, M.; Mantyh, C.; Voss, M.; Eubanks, S.; Harris, M.; Pappas, T.N.; Takanhashi, T. Short chain fatty acids stimulate colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. Bethesda, v.284, n.5, p. R1269-1276, may 2003.
17. Gee, J.M.; Johnson, I.T. Dietary lactitol fermentation increases circulating peptide YY and glucagons-like peptide-1 in rats and humans. **Nutrition**. New York, v.21, n.10, p. 1036-1043, oct. 2005.
18. Gorinstein, S.; Pawelzik, E.; Delgado-Licon, E.; Haruenkit, R.; Weisz, M.; Traktenberg, S. et al. Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. New York, v.82, n.8, p.886-891, jun. 2002.
19. Guerrant, G.O.; Lambert, M.A.; Moss, C.W. Analysis of short-chain acids from anaerobic-bacteria by high-performance liquid-chromatography. **Journal of Clinical Microbiology**. Washington, v.16, n.2, p.355-360, 1982.
20. Guy, R. **Extrusion cooking: Technologies and applications**. Woodhead Publishing Limited: Inglaterra, 2001.
21. Guzmán-Maldonado, S.H., Paredes-López, O. Functional products of plants indigenous to Latin America: amaranth, quinoa, common beans, and botanicals. In: Mazza, G. **Functional Foods: Biochemical & Processing Aspects**. Pennsylvania: Technomic Publishing Co, 1998.

22. Han, K.H.; Fukushima, M.; Kato, T.; Kojima, M.; Ohba, K.; Shimada, K.; Sekikawa, M.; Nakano, M. Enzyme-resistant fractions of beans lowered serum cholesterol and increased sterol excretions and hepatic mRNA levels in rats. **Lipids**. Berlin, v.38, n.9, p.919-924, sept. 2003.
23. Hangen, S.R.; Frost, B.; Augustin, J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid-chromatography of amino-acids in food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**. Gaithersburg, v.72, n.6, p.912-916, nov/dec.1989.
24. Islas-Hernández, J.J.; Rendón-Villalobos, J.R.; Agama-Acevedo, E.; Tovar, J.; Bello-Pérez, L.A. Chemical composition and *in vitro* starch digestibility of corn tortillas with added amaranth flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. New York, v.87, n.12, p.2348-2352, sep. 2007.
25. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.ed. São Paulo; 1985.
26. Jacobs, D.R.; Gallaher, D.D. Whole grain intake and cardiovascular disease: a review. **Current Atherosclerosis Reports**. Philadelphia, v.6, n.6, p.415-423, nov. 2004.
27. Liljeberg, H. G. M.; Björck, I. M. E. Delayed gastric emptying rate as a potential mechanism for lowered glycemia after eating sourdough bread: studies in humans and rats using test products with added organic acids or an organic salt. **American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda, v.64, n.6, p. 886-893, dec. 1996.
28. Marcílio, R.; Amaya-Farfan, J.; Ciacco, C.F.; Spehar, C.R. Fracionamento do grão de *Amaranthus cruentus* brasileiro por moagem e suas características composicionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.23, n.3, p.511-516, sep/dec 2003.
29. Matias, A.C.G. **Avaliação de efeitos fisiológicos da fração fibra alimentar dos grãos de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) e linhaça (*Linum usitatissimum* L.)**. 2007. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
30. Mendonza, C.; Bressani, R. Nutritional and functional characteristics of extrusion-cooked amaranth flour. **Cereal Chemistry**. St. Paul, v.64, n.4, p.218-222, 1987.
31. Menezes, E.W.; Lajolo, F.M. Marcadores *in vivo* e *in vitro* para avaliação de carboidratos. In: Lajolo, F.M.; Menezes, E.W. **Carboidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos**. São Paulo Editora da Universidade de São Paulo, 2006.
32. Mercier, C.; Cantarelli, C. **Pasta and extrusion cooked foods: some technological and nutritional aspects**. London, UK: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. 199p.

33. Mohallen, D. **Impacto do consumo de cookies de amaranto (*Amaranthus cruentus* BRS-Alegria) e cookies de aveia, em horários estratégicos, no apetite de pessoas eutróficas e com sobrepeso.** Trabalho de Conclusão de Curso, 2006. Faculdade de Nutrição, Universidade de Vila Velha, ES, Brasil.
34. Nugent, A.P. Health properties of resistant starch. **British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin.** London, v.30, n.1, p.27-54, march 2005.
35. Qian, J.; Kuhn, M. Characterization of *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* starch. **Starch/Stärke.** Weinheim, v.51, n.4, p.116-120, apr. 1999.
36. Qureshi, A.A.; Lehmann, J.W.; Peterson, D.M. Amaranth and its oil inhibit cholesterol biosynthesis in 6-week-old female chickens. **The Journal of Nutrition.** Bethesda, v.126, n.8, p.1972-1978, aug.1996.
37. Reeves, P.G.; Nielsen, F.H.; Fahey, G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of Nutrition.** Bethesda, v.123, n.11, p.1939-1951, nov. 1993.
38. Roux, C.W.L.; Bloom, S.R. Peptide YY, appetite and food intake. **Proceedings of the Nutrition Society.** Cambridge, v.64, n.2, p. 213-216, may 2005.
39. Ruijschop, R.M.A.J.; Boelrijk, A.E.M.; Giffel, M.C. Satiety effects of a dairy beverage fermentes with propionic acid bacteria. **International Dairy Journal.** England, doi:10.1016/j.idairyj.2008.01.004, 2008.
40. Salgado, S.M.; Livera, A.V.S.; Guerra, N.B.; Schüller, A.R.P.; Araújo, A.L.L. Resposta fisiológica *in vitro* do amido do feijão Macassar (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Brazilian Journal of Food Technology.** Campinas, v.9, n.4, p.297-303, out/dez. 2006.
41. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos / NEPA – UNICAMP.** Versão II. 2.ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006, 113p.
42. Thornton, J.R. High colonic pH promotes colorectal cancer. **Lancet.** v. 317, n. 8229., p. 1081-1083, may 1981.
43. Tosi, E.A.; Ré, E.; Lucero, H.; Masciarelli, R. Dietary fiber obtained from amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain by differential milling. **Food Chemistry.** Oxford, v.73, n.4, p. 441-443, jun. 2001.
44. White, J.A.; Hart, R.J.; Kry, J.C. An evaluation of the Waters pico-tag system for the amino acid analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry.** New York, v.8, n.4, p.170-177, oct/dec.1986.

45. Wong, J.M.W.; Souza, R.; Kendall, C.W.C.; Emam, A.; Jenkins, D.J.A. Colonic Health: Fermentation and Short Chain Fatty Acids. **Journal of Clinical Gastroenterology**. Philadelphia, v.40, n.3, p.235-243, march 2006.

Capítulo 3

CAPÍTULO 3

***EFEITO DO CONSUMO DO AMARANTO BRASILEIRO
BRS ALEGRIA EXTRUSADO NOS NÍVEIS
LIPÍDICOS PLASMÁTICOS DE RATOS WISTAR***

Cinthia Baú Betim

RESUMO

O Amaranteiro granífero é um pseudocereal, desconhecido do consumidor brasileiro, ao qual se atribuem características excepcionais nutricionais e de saúde, sendo que tanto folhas como sementes são consumidas como alimento em países das Américas, Ásia, Europa e África. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil lipídico, crescimento e consumo de dieta (AIN-93G; 12 e 18% de proteína) de ratos alimentados com farinha integral extrusada de amaranto brasileiro (cv. BRS Alegria), contendo 4,2 e 6,3% proteína de amaranto, respectivamente, durante 48 dias. Os resultados obtidos confirmam a função hipocolesterolemiantes nas frações total e LDL, ao passo que as diferenças entre as dietas quanto aos níveis séricos de triacilgliceróis e insulina, assim como o consumo de dieta e ganho de peso dos animais não foram significativas. Com relação aos demais parâmetros, tanto o peso quanto o conteúdo de lipídeos totais e colesterol hepáticos não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Os resultados mostraram

também que, para uma dieta normolipídica, o rato não responde ao consumo de amaranto suplementar, como meio de diminuir os triacilgliceróis séricos, embora haja redução do colesterol sérico total e fração LDL. Sugerem os resultados, no entanto, que o consumo do amaranto poderia trazer efeitos amenizadores no tratamento de dislipidemias, assim como ser um alimento de valor profilático para o controle de tal doença. Esta fonte protéica vegetal de elevado valor biológico, contendo ácidos graxos insaturados e fibras, pode ainda ser considerada como opção para a promoção da segurança alimentar e sustentabilidade em regiões brasileiras de escassas chuvas, devido à sua resistência ao estresse hídrico.

Palavras-chave: extrusão, *amaranthus cruentus*, dislipidemias.

3.1 INTRODUÇÃO

O amaranto é um alimento milenar com excelentes características nutricionais, fácil adaptabilidade às adversidades como clima seco e quente, assim como solo com grandes quantidades de sal, ácido ou álcali (Karasch, 2000). Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas sobre este alimento, fonte de proteína vegetal de alto valor biológico, com conteúdo protéico que gira em torno de 14 – 18%, sendo rica em lisina, aminoácido limitante nos cereais (Guzmán-Maldonado e Paredes-López, 1998), além de possuir teores mais elevados de triptofano e metionina + cistina do que as leguminosas (Amaya-Farfan, Marcílio, Spehar, 2005).

O efeito hipocolesterolemizante da proteína do amaranto foi observado por Mendonça (2005), que verificou a redução dos níveis plasmáticos do colesterol total, frações LDL e VLDL colesterol, assim como de triacilgliceróis, em estudo realizado com hamsters alimentados com isolado protéico de amaranto. Berger et al. (2003), também observaram redução nos níveis de colesterol total em hamsters, alimentados com a farinha de amaranto, assim como Plate e Arêas (2002), que já haviam observado tal redução em coelhos alimentados com o amaranto extrusado.

A fração lipídica do amaranto corresponde a um valor entre 6 e 10%, sendo estes em sua maioria insaturados (76%), com alto teor de ácido linoléico (Lyon e Becker, 1987), além de ser fonte de esqualeno, responsável por reduzir a atividade da enzima β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) redutase, a qual regula a síntese *de novo* de colesterol (Shin et al, 2004). Estudos comprovam que o consumo das proteínas e lipídios do amaranto reduz os níveis plasmáticos do colesterol total, frações colesterol-VLDL e LDL, assim como triacilgliceróis em animais experimentais como hamsters, ratos e galinhas (Mendonça, 2006;

Berger et al., 2003; Czerwiński et al., 2004; Shin et al., 2004; Grajeta, 1999; Qureshi, Lehmann e Peterson, 1996). Concentração elevada de colesterol sérico, particularmente na forma LDL colesterol está associada com grande risco de doenças cardio-cerebrovasculares, as quais são uma das principais causas de morte no mundo ocidental, demonstrando que estudos e intervenções nessa área são extremamente importantes para a redução das taxas de morbidade e mortalidade.

O amaranto ainda se destaca por seu conteúdo de amido, fibras dietéticas, vitaminas e minerais. Seu conteúdo de ácido ascórbico varia de 3,0 – 7,1 mg/100g, dependem da espécie, sendo este um antioxidante alimentar hidrossolúvel que pode estar envolvido na redução dos danos causados pelos radicais livres à célula, prevenindo assim a aterosclerose, entre outras doenças (Jabob, 1999; Li, 2007). Apresenta ainda 0,19 – 0,32 mg/100g de riboflavina, teor este superior ao encontrado em outros grãos de cereais, antioxidante este que pode inibir processos de peroxidação lipídica e câncer (Combs, 2002; Powers, 2002; Rivlin, 2001).

A extrusão de farinhas de grãos é um processo termoplástico, no qual o atrito e o trabalho mecânico são combinados ao calor, promovendo a gelatinização do amido e a desnaturação protéica, sendo um processo versátil e relativamente de baixo custo (Mercier e Cantarelli, 1986). A extrusão geralmente promove o aumento da digestibilidade do alimento, favorecendo o aproveitamento biológico e inativação de fatores antinutricionais (Asp e Björck, 1998).

O objetivo do presente estudo foi avaliar alterações no perfil lipídico, secreção de insulina, glicemia plasmática, conteúdo hepático de lipídeos, monitorando o crescimento de ratos alimentados com dieta suplementada com amaranto (*Amaranthus cruentus*, cv. BRS Alegria) extrusado.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.3 Farinha de Amaranto Extrusada

Foram utilizados grãos de amaranto da espécie *cruentus* (BRS-Alegria), provenientes da Embrapa Cerrados (Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, Planaltina, DF, Brasil), os quais foram submetidos a moagem em moinho de facas (Marconi MA580) para obtenção da farinha. Procedeu-se à extrusão, realizada em escala laboratorial em extrusor monorosca Brabender (Duisburg – Alemanha, modelo GNF 1014/2), sob as seguintes condições: 18% de umidade, taxa de compressão 3:1; temperatura na 1ª zona de aquecimento, 60°-65°C; 2ª zona, 125°C e 3ª zona, 150°C. Após a extrusão o material foi moído novamente e acondicionado em embalagem plástica com armazenamento em refrigerador a 4°C.

3.3 Animais e Dietas

Foram utilizados 48 ratos machos da linhagem Wistar, com 21 dias de vida, provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica – CEMIB da Universidade Estadual de Campinas. Os animais foram divididos em 4 grupos (n=12), os quais permaneceram em condições ambientais controladas, em gaiolas individuais de crescimento, com temperatura de 21 ± 2°C e umidade relativa de 50 a 60%, com ciclo claro/escuro de 12 horas e com fornecimento de água e dieta *ad libitum*.

As dietas foram elaboradas segundo definição do *American Institute of Nutrition* (AIN 93-G), contendo 12 e 18% de proteínas, tendo sido acrescentada à dieta do grupo experimental a

farinha de amaranto extrusada, de forma a suprir 35% do conteúdo protéico, durante os 48 dias de ensaio. As dietas foram elaboradas de forma a serem isoenergéticas e isocalóricas, seguindo as recomendações da dieta padrão do *American Institute of Nutrition*, apresentando diferença somente quanto ao conteúdo protéico.

Tabela 3.1: Composição das dietas (g/kg de dieta)

Ingredientes	Grupos			
	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
Caseína ¹	146,341	95,122	219,512	142,683
Amaranto ²	-	262,500	-	393,750
Amido	451,140	258,234	377,969	88,611
Amido dextrinizado	132,000	132,000	132,000	132,000
Sacarose	100,000	100,000	100,000	100,000
Óleo de soja	70,000	51,625	70,000	42,437
Fibras	50,005	50,005	50,005	50,005
Mix mineral ³	35,000	35,000	35,000	35,000
Mix vitaminas ³	10,000	10,000	10,000	10,000
L-cistina	3,000	3,000	3,000	3,000
Bitartarato de colina	2,500	2,500	2,500	2,500
T-butilhidroquinona	0,014	0,014	0,014	0,014

¹ 83% de proteína; ² 14,1% de proteína; ³ Reeves, Nielsen e Fahey, 1993.

A Tabela 3.2 apresenta a composição centesimal das dietas, a qual foi determinada através de análises químicas: umidade (Instituto Adolfo Lutz, 1985); cinzas e proteína (AOAC, 1997); lipídeos (Bligh e Dyer, 1959); fibra bruta (AOAC, 1995) e carboidratos por cálculo de diferença.

Tabela 3.2: Composição centesimal das dietas, em base seca (g/100g).

	Dietas			
	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
Umidade	7,8 ± 0,06 ^a	6,9 ± 0,09 ^b	7,6 ± 0,03 ^A	6,3 ± 0,06 ^B
Cinzas	2,7 ± 0,07 ^b	3,5 ± 0,07 ^a	2,9 ± 0,07 ^B	3,8 ± 0,09 ^A
Proteína	13,5 ± 0,09 ^a	13,9 ± 0,13 ^a	19,8 ± 0,15 ^A	20,4 ± 0,37 ^A
Lipídeos	7,6 ± 0,00 ^a	7,5 ± 0,00 ^b	6,6 ± 0,03 ^A	7,2 ± 0,12 ^A
Fibra Bruta	2,9 ± 0,18 ^a	3,2 ± 0,12 ^a	3,5 ± 0,23 ^A	3,9 ± 0,06 ^A
Carboidratos	65,5 ± 0,17 ^a	65,1 ± 0,09 ^b	59,6 ± 0,40 ^A	58,4 ± 0,61 ^A

Resultados expressos em média (± erro padrão). Linhas com letras diferentes diferem entre si.

3.3 Ensaio Biológico

Este protocolo experimental foi previamente aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da UNICAMP (nº 1171-2). Após 21 dias de alimentação, seis animais de cada grupo foram submetidos a jejum de 12 horas, anestesiados com cloridrato de quetamina (80mg/kg de peso) e sedados com cloridrato de xilazina (8mg/kg de peso) para punção cardíaca e retirada dos órgãos. O restante dos animais continuou recebendo a dieta até serem completados 48 dias de consumo, então os mesmo foram colocados em jejum de 12 horas, anestesiados e sedados conforme descrito acima, para coleta de sangue por punção cardíaca e retirada dos órgãos.

Foram extraídos fígado, rins, baço, intestino delgado, intestino grosso e ceco, os quais foram lavados em soro fisiológico (0,9% de NaCl) e secos em gaze. O sangue foi coletado em tubos Vacuette®, contendo em seu interior EDTA, mantidos em gelo até centrifugação. Após a

centrifugação foi feita a separação do soro o qual foi armazenamento em nitrogênio a -20°C para análise posterior.

3.3 Protocolo Experimental

3.2.4.1 Consumo alimentar e ganho de peso

O controle do consumo alimentar foi feito durante os 48 dias de ensaio pesando diariamente os comedouros. O ganho de peso foi acompanhado através da pesagem dos animais, duas vezes por semana, de forma a minimizar a manipulação e o estresse dos animais. O valor nutritivo global e o valor biológico da proteína foram determinados aplicando-se o teste do PER (*Protein Efficiency Ratio*), da AOAC. O coeficiente de conversão alimentar (CA) foi determinada dividindo-se a quantidade de ração consumida durante o período experimental, pelo ganho de peso ao final do experimento.

3.2.4.2 Lipídios séricos

As determinações dos lipídeos séricos foram realizadas através de métodos enzimáticos colorimétricos, utilizando para a quantificação de triacilgliceróis o kit comercial Laborlab (n° 02700), segundo metodologia descrita por Fossati (1982) e McGowan et al. (1983). Para colesterol total e colesterol-HDL foram utilizados kits comerciais Bioclin K053 e K015 (Allain et al., 1974; Trinder, 1969; Henry, 1996; Carl e Edward, 1994). Para a quantificação de colesterol-

VLDL e colesterol-LDL, foi utilizada a equação de Friedewald's, a qual estima os valores através do seguinte cálculo:

$$ColesterolVLDL = \frac{Triacilgliceróis}{5}$$

$$Colesterol-LDL = Colesterol\ total - (HDL + VLDL)$$

3.2.4.3 Glicose sérica

A concentração de glicose sérica foi determinada através de método enzimático glicose oxidase-peroxidase conforme descrito por Trinder (1969) e Henry, Cannon e Winkelman (1974), utilizando kit comercial Laborlab (n°02200), conforme descrição do fabricante.

3.2.4.4 Insulina sérica

Para a determinação de insulina sérica foi utilizada metodologia por radioimunoensaio segundo metodologia descrita por Filiputti (2006). Foram transferidos para tubos 0,1mL de soro (em duplicata), os quais receberam 0,2mL de solução contendo anticorpo anti-insulina (1:200) e insulina marcada com ^{125}I (traçador) em tampão fosfato pH 7,4, acrescido de NaCl a 0,9% e solução aquosa de albumina a 0,5%. Em seguida, foram preparados os seguintes controles:

- a. 3 tubos denominados *totais* que receberam somente 0,2mL do tampão fosfato contendo insulina marcada ^{125}I para quantificação da radiação máxima,

- b. 3 tubos denominados *ligação não-específica* contendo 0,2mL do tampão fosfato com insulina marcada ^{125}I e 0,1mL de tampão fosfato, para determinação de possíveis interferentes no ensaio pelos componentes do tampão,
- c. 3 tubos denominados referência contendo 0,2mL de solução tampão fosfato com insulina marcada ^{125}I e anticorpo anti-insulina e 0,1mL de tampão fosfato, constituindo assim o zero de insulina da curva padrão.

Em seguida, foi preparada em triplicata, uma série de tubos contendo 0,1mL de insulina padrão nas seguintes concentrações: 0,02; 0,039; 0,078; 0,16; 0,31; 0,63; 1,25; 2,5 e 5,0 ng/mL para a montagem da curva padrão. Cada tubo recebeu 0,2mL de solução tampão fosfato, contendo insulina marcada ^{125}I e anticorpo anti-insulina. Os tubos das amostras, controle e padrão após serem preparados, foram agitados em vortex e estocados a 4°C, durante 48 horas para incubação.

Após esse período, com exceção dos *totais* para análise de radiação máxima, os tubos receberam 0,2mL de uma solução contendo 2,5% de carvão (Norit A), 0,5% de albumina e 0,25% de Dextran T70. Os tubos foram deixados em repouso durante 20 minutos e em seguida centrifugados durante 20 minutos (1462 g) a 4°C. O sobrenadante foi então descartado e a radioatividade contida em cada tubo avaliada em contador de radiação gama. Os três tubos elaborados para análise de radiação máxima não tiveram o sobrenadante descartado, sendo a radiação dos mesmos avaliada diretamente. Com base nos valores que foram obtidos nos tubos contendo insulina conhecida, elaborou-se uma curva padrão que foi utilizada para o cálculo dos valores desconhecidos das amostras. Os resultados foram expressos em ng/mL de insulina secretada durante o experimento *in vivo*.

3.2.4.5 Proteínas totais e albumina séricas

Define-se a proteína total como sendo a soma da albumina e globulina sérica. Para a quantificação de proteína total sérica, foi utilizado o método de biureto, método colorimétrico, no qual os íons de cobre presentes no reativo em meio alcalino reagem com as ligações peptídicas das proteínas, formando um complexo de cor violeta, proporcional ao teor de proteínas. Já para a concentração de albumina sérica, foi utilizado método colorimétrico através da reação com verde de bromo cresol. Para as duas análises foi utilizado o kit comercial Laborlab (n°03800) segundo metodologia descrita por Doumas, Watson e Biggs (1971) e Henry, Sobel e Berkman (1957).

3.2.4.6 Gordura hepática

Colesterol total hepático foi quantificado através de técnica por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE, segundo metodologia descrita por Bragagnolo e Rodriguez-Amaya (1997), com algumas modificações. O conteúdo de lipídeos totais no fígado foi determinado através da metodologia de Bligh e Dyer (1959).

3.3 Análise Estatística

Foi utilizado programa SAS para realização das análises estatísticas dos resultados obtidos, tendo sido aplicado o teste de variância (ANOVA) entre as médias e, quando necessário, o teste de Tukey para obter os valores de probabilidade. As diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No final do ensaio, foi observada diferença significativa no consumo das dietas entre os grupos, demonstrando que, de modo geral, a aceitação da dieta suplementada com a farinha de amaranto extrusado foi aceita pelos animais dos grupos experimentais de forma quase idêntica à dieta padrão. Diferenças foram notadas no consumo médio ao longo do ensaio, no dia 18 e 48, a diferença se mostrou significativamente superior (10%) para o grupo AM12, em relação ao AIN18 (Figura 3.1). Os fatores apontados como responsáveis pelo maior consumo da dieta AM18, mesmo em termos absolutos, são vários e dependem, entre outros, do teor de fibras, digestibilidade de nutrientes, presença de substâncias antinutricionais na dieta, não podendo ser atribuída diretamente ao aumento da palatibilidade e inativação de fatores antinutricionais, como sugerido em trabalho anterior de Mendoza e Bressani (1987). Em estudo preliminar desenvolvido com humanos se relata uma diminuição na ingestão de alimentos provocada oito horas depois do consumo de alguns biscoitos de amaranto (Mohallen, 2006).

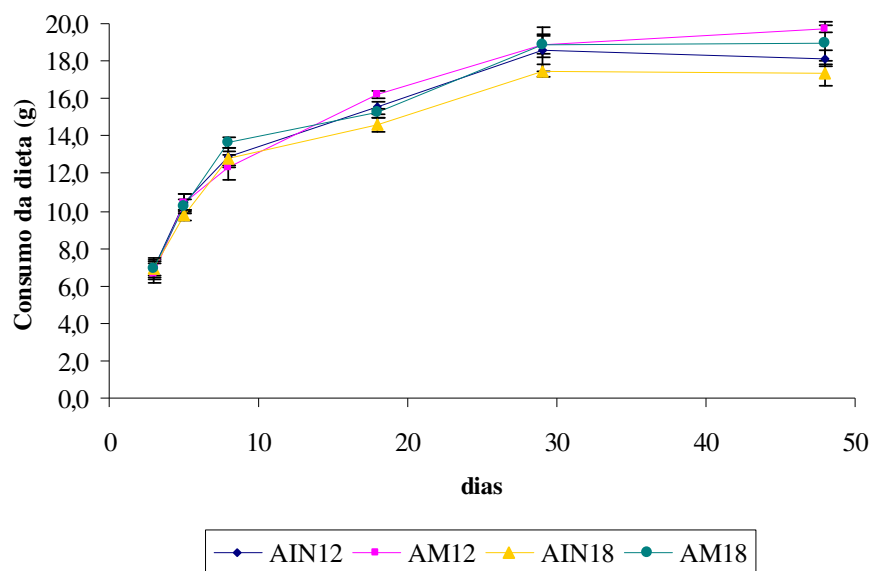


Figura 3.1: Consumo das dietas pelos grupos experimentais durante ensaio biológico. Cada valor representa a média ($\pm$ erro padrão) das amostras.

Tendo em vista que a quantidade de dieta consumida está relacionada ao ganho de peso do animal e, independente do nível de proteína, diferença significativa foi observada entre os ganhos de peso dos dois tipos de dieta (AM e AIN). Podemos concluir que o consumo do amaranto não trouxe prejuízo ao crescimento do rato, dado este confirmado pela eficiência de conversão alimentar (CA) não tendo sido observada diferença significativa entre os grupos. Já quanto ao teor de proteína na dieta, os dois teores protéicos (12% e 18%) utilizados nas dietas, mostraram-se concordantes com os valores de PER relatado por Sgarbieri (1987) de 3,32 para dieta com 12% de caseína e 2,73 para dieta com 18% de caseína. O aumento de 12 para 18% resultou em diminuição no valor de PER, independente do tipo de dieta (Tabela 3.3).

Tabela 3.3: Peso corpóreo e ganho de peso dos animais, peso do fígado, rins, baço e conteúdo de colesterol no fígado após 48 dias de consumo das dietas.

	Grupos			
	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
Peso inicial (g)	54,8 ± 4,4 ^a	56,3 ± 6,4 ^a	56,1 ± 5,0 ^a	54,9 ± 6,1 ^a
Peso final (g)	302,0 ± 23,6 ^b	332,6 ± 8,7 ^a	299,2 ± 17,5 ^b	320,7 ± 39,3 ^{ab}
PER	3,7 ± 0,4 ^b	4,2 ± 0,1 ^a	2,6 ± 0,3 ^b	2,7 ± 0,4 ^b
CA	2,3 ± 0,2 ^a	2,0 ± 0,1 ^b	2,2 ± 0,2 ^a	2,1 ± 0,4 ^{ab}
Fígado (g)	8,7 ± 0,8 ^b	10,4 ± 0,5 ^a	8,8 ± 1,9 ^{ab}	9,5 ± 1,7 ^{ab}
Fígado (g/100g peso corpóreo)	2,9 ± 0,2 ^b	3,1 ± 0,2 ^a	2,9 ± 0,5 ^{ab}	3,0 ± 0,2 ^{ab}
Lipídeos totais hepático (%)	18,0 ± 1,8 ^a	15,2 ± 1,7 ^a	17,8 ± 2,9 ^a	15,7 ± 2,7 ^a
Colesterol hepático (mg/g)	4,3 ± 0,1 ^a	5,8 ± 0,1 ^a	3,4 ± 0,0 ^a	3,9 ± 0,1 ^a
Rins (g)	2,1 ± 0,3 ^a	2,0 ± 0,2 ^a	1,9 ± 0,2 ^a	2,1 ± 0,3 ^a
Rins (g/100g peso corpóreo)	0,7 ± 0,1 ^a	0,6 ± 0,1 ^a	0,7 ± 0,1 ^a	0,6 ± 0,1 ^a
Baço (g)	0,7 ± 0,1 ^a	0,7 ± 0,0 ^a	0,7 ± 0,1 ^a	0,7 ± 0,2 ^a
Baço (g/100g peso corpóreo)	0,3 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,0 ^a

PER: Coeficiente de Eficiência Protéica, CA: Conversão Alimentar. Os valores estão expressos em média (± desvio padrão) para seis ratos. Linhas com a mesma letra não apresentaram diferença significativa (menor valor encontrado para colesterol hepático $p = 0,0685$) entre as médias.

Com relação ao peso do fígado dos animais, não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$), assim como com relação ao conteúdo de lipídeos totais e colesterol entre os grupos (Tabela 3.3). Há concordância com o fato de que o peso total concordou com o fato de não haver acúmulo de lipídeos nos hepatócitos, portanto não havendo comprometimento das funções metabólicas.

Efetiva redução dos níveis séricos de colesterol total e fração LDL foi observada, no presente estudo, nos grupos alimentados com dieta elaborada com amaranto extrusado, após 20 dias de consumo, permanecendo até o final dos 48 dias.

Não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos com relação aos níveis séricos de triacilgliceróis, HDL-colesterol, VLDL-colesterol. Resultados semelhantes foram observados por Matias (2007), ao alimentar ratos com dieta hipercolesterolêmica com amaranto

durante 28 dias e, no qual houve diminuição dos níveis séricos de colesterol total e fração LDL. Tais resultados demonstram que o efeito hipocolesterolemizante do amaranto pode ser observado na presença ou ausência de hipercolesterolemia, indicando que o amaranto tem um valor profilático ou preventivo, independente da condição do consumidor.

Estudo anterior realizado por Martinez-Flores et al. (2004), observaram redução nos níveis séricos e hepáticos de colesterol ao alimentar hamsters com dieta suplementada com amido resistente e/ou fibras de aveia. Czerwiński et al. (2004) não observaram diferença significativa nos níveis lipídicos séricos de ratos alimentados entre dietas suplementadas com aveia ou amaranto da espécie *hypochondriacus*, indicando que o consumo do amaranto é tão efetivo quanto o da aveia, alimento este amplamente inserido nos hábitos alimentares de países ocidentais.

Tabela 3.4: Parâmetros séricos após 48 dias de consumo das dietas.

	Grupos			
	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
Triacilgliceróis (mg/dL)	42,0 ± 28,8 ^a	74,9 ± 18,4 ^a	77,8 ± 30,4 ^a	77,4 ± 2,3 ^a
HDL-colesterol (mg/dL)	37,0 ± 6,4 ^a	33,0 ± 10,3 ^a	29,3 ± 2,5 ^a	25,9 ± 5,6 ^a
VLDL-colesterol (mg/dL)	8,4 ± 5,8 ^a	15,0 ± 3,7 ^a	15,6 ± 6,1 ^a	15,5 ± 0,5 ^a
Glicose (mg/dL)	139,8 ± 32,0 ^a	189,9 ± 32,33 ^a	178,7 ± 49,1 ^a	163,7 ± 38,3 ^a
Insulina (ng/mL)	0,8 ± 0,4 ^a	1,6 ± 0,9 ^a	1,2 ± 0,8 ^a	1,1 ± 0,4 ^a
Proteínas totais (g/dL)	7,3 ± 0,8 ^a	7,0 ± 1,1 ^a	7,1 ± 0,8 ^a	6,6 ± 1,2 ^a
Albumina sérica (g/dL)	4,7 ± 0,4 ^a	4,3 ± 0,4 ^a	4,9 ± 0,6 ^a	3,7 ± 0,2 ^b

Os valores estão expressos em média (± desvio padrão) para seis ratos. Linhas com letras diferentes apresentaram diferença significativa (menor valor encontrado de $p = 0,013$) entre as médias.

Esse efeito possivelmente está relacionado ao conteúdo de fibras e amido resistente, presente nos grãos de amaranto. No presente estudo foi utilizada para a elaboração das dietas farinha de amaranto extrusado com $7,35\% \pm 0,56$ de fibra insolúvel, $187\% \pm 0,66$ de fibra solúvel e $10,50\% \pm 0,60$ de amido resistente, em sua composição. Estudos revelam que o consumo de fibras como a pectina, goma guar, β -glucana e celulose favorecem um aumento da excreção de ácidos biliares, impedindo a reabsorção dos sais biliares; ao se ligarem aos ácidos biliares, as fibras retardam ou impedem a absorção de lipídeos (Márquez, 1999).

O amido resistente tem sido reconhecido pelos seus efeitos fisiológicos, como, por exemplo, a redução dos índices de glicemia e a diminuição do colesterol (Tovar et al., 2006). Sua fermentação dá origem há ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que favorecem uma diminuição do pH intestinal, diminuição de patógenos da microflora colônica, diminuição na solubilidade dos ácidos biliares, aumento na absorção de minerais e redução na absorção de amônia (Wong et al., 2006). O ácido propiônico, um dos ácidos graxos formados, é utilizado como substrato na gliconeogênese hepática. Estudos em animais sugerem que o propionato inibe a síntese de colesterol por inibir as enzimas 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintase e 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (Wong et al., 2006).

Guerra-Matias e Arêas (2005) ao avaliar a resposta insulínica e glicêmica de mulheres que consumiram amaranto extrusado, concluíram que o mesmo apresenta alto índice glicêmico, devido à rápida digestão, comparado à referência de pão branco, tendo, portanto, alta capacidade em estimular a liberação de insulina, o que foi comprovado após avaliação das curvas de resposta glicêmica e insulínica séricas. No presente estudo, não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos com relação aos níveis séricos de glicose e insulina indicando que os

animais mantiveram o controle glicêmico e insulínico após o consumo das dietas contendo o amaranto extrusado.

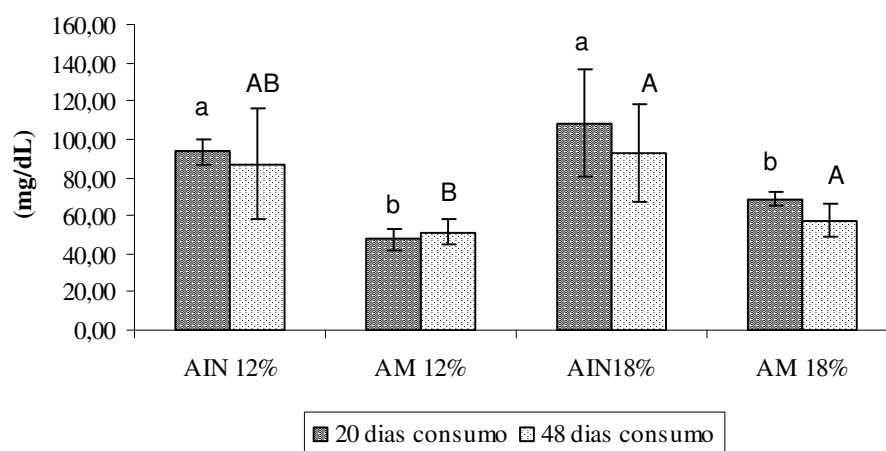


Figura 3.2: Concentrações séricas de colesterol total após 20 e 48 dias de consumo das dietas. Cada valor representa a média ($\pm$ erro padrão) dos dados obtidos de análise de três animais. Colunas com letra diferente apresentaram diferença significativa ($p=0,0004$).

Estudos anteriores sugerem que alimentos ricos em fibra alimentar contêm compostos bioativos, como os polifenóis, fitosteróis e carotenóides, associados às paredes celulares através de ligações químicas ou interações físicas. Além do já conhecido efeito modulador da digestão e absorção conferido pelas fibras, os polifenóis podem formar complexos com os carboidratos, reduzindo a sua absorção e, conseqüentemente, melhorando a resposta glicêmica pós-prandial (Jiratanan e Lui, 2004; Lajolo et al., 2001).

Segundo Berger et al. (2003), hamsters alimentados com dietas contendo flakes e óleo de amaranto não apresentaram redução significativa nos níveis séricos de colesterol total após duas ou quatro semanas de consumo das dietas. Plate e Arêas (2002) obtiveram os mesmos resultados alimentando coelhos com dieta com amaranto extrusado e óleo de amaranto. Porém Shin et al. (2004) e Grajeta (1999), alimentando ratos com esqualeno isolado do amaranto e farinha de amaranto, respectivamente, observaram redução significativa nos níveis séricos de colesterol total. Estudo realizado com hamsters alimentados com dieta elaborada com proteína isolada de amaranto também demonstrou que há redução significativa nos níveis séricos de colesterol (Mendonça, 2005).

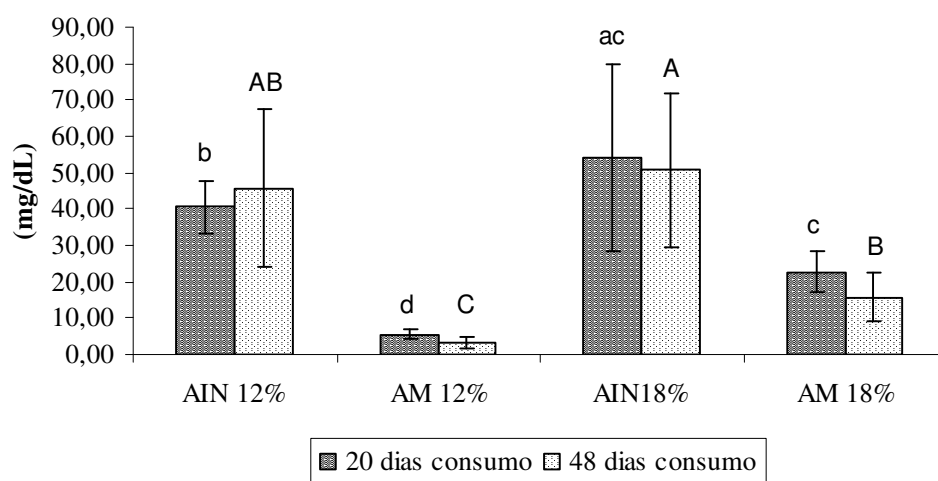


Figura 3.3: Concentrações séricas de LDL-colesterol total após 20 e 48 dias de consumo das dietas. Cada valor representa a média ($\pm$ erro padrão) dos dados obtidos de análise de três animais. Colunas com a letra diferente apresentaram diferença significativa ($p < 0,0001$).

O efeito hipocolesterolemizante observado nos grupos alimentados com a dieta contendo amaranto poderia ainda ser explicado pela substituição parcial da caseína. Existem evidências de que a substituição da caseína por proteína de soja, tanto para animais quanto para humanos, reduz os níveis séricos de colesterol total e fração LDL (Carroll e Kurowska, 1995; Terpstra, Holmes e Nicolosi, 1991). Outro fator a ser avaliado seria o conteúdo de metionina, já que estudos anteriores observaram influência deste aminoácido na redução dos níveis séricos de colesterol total em coelhos e ratos alimentados com proteína da soja, possivelmente devido à maior excreção de esteróis fecais, aumento da conversão hepática de colesterol em ácidos biliares e ativação da enzima colesterol-7 α -hidroxilase (Bagchi, Ray e Datta, 1963; Morita et al., 1997). Segundo Plate e Arêas (2002) o amaranto extrusado apresenta valor da razão metionina/lisina semelhante à da soja, o que poderia favorecer uma redução da secreção de HDL-colesterol. Entretanto, o observado foi uma redução significativa ($p = 0,0035$) dos níveis séricos de colesterol total, provavelmente devido à redução nos níveis de LDL-colesterol, não tendo sido observada diferença significativa nos valores do HDL-colesterol.

Coelhos alimentados com amaranto extrusado não apresentaram redução significativa nos níveis séricos de HDL-colesterol, tendo sido observada sim, uma redução nos níveis séricos de colesterol total e da fração LDL (Plate e Arêas, 2002). Vale ressaltar que no coelho, somente de 10-15% do colesterol sérico é transportado sob a forma de HDL-colesterol (Brattsand, 1976), demonstrando a efetividade do amaranto na redução dos níveis séricos de colesterol total e LDL.

No rato, animal utilizado no presente estudo, mais de 50% do colesterol sérico é transportado pelas partículas HDL (Brattsand, 1976) e estas não foram afetadas pela dieta experimental consumida no presente estudo, embora efetiva redução nos níveis séricos de

colesterol total e da fração LDL-colesterol tenha sido observada, confirmando mais uma vez a ação hipocolesterolemiantes do amaranto.

3.5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo confirmam a função hipocolesterolemiantes do amaranto, desta vez, em animais não hipercolesterolêmicos e consumindo dietas normolipídicas e sem colesterol adicionado. Esta propriedade foi verificada quando seu consumo foi sob forma integral, e não na forma de frações, como relatado em estudos anteriores, constatando-se redução significativa nos níveis séricos de colesterol total e fração LDL.

Conclui-se que a técnica de extrusão da farinha do grão integral pode ser aplicada como meio de tratamento térmico e preservação, sem haver diminuição do conteúdo de seus componentes principais, assim como das suas propriedades biológicas e hipocolesterolemiantes.

As taxas de crescimento dos animais, os valores de PER e as concentrações das proteínas séricas confirmam o potencial do amaranto como fonte protéica.

REFERÊNCIAS

1. Allain, C.C.; Poon, L.S.; Chan, C.S.G.; Richmond, W.; Fu, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**. Washington, v.20, n.4, p. 470-475, 1974, apr.
2. Amaya-Farfan, J., Marcílio, R., Spehar, C.R. Deveria o Brasil investir em novos grãos para a sua alimentação? A proposta do amaranto (*Amaranthus sp.*). **Segurança Alimentar e Nutricional**. Campinas, v.12, n.1, p. 47-56, jan/dez, 2005.
3. Asp, N. G., Björck, I. **Nutritional properties of extruded foods**. In: Mercier, C., Linko, P., Harper, J.M. **Extrusion Cooking**. USA: American Association of Cereal Chemists, 1998, p. 399-434.
4. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of Analysis**, 15th ed. AOAC International, Arlington, Virginia, USA (1995).
5. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of Analysis**, 16th ed. AOAC International, Arlington, Virginia, USA (1997).
5. Bagchi, K.; Ray, R.; Datta, T. The influence of dietary protein and methionine on serum cholesterol level. **American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda v.13, n.4, p.232-237, out. 1963.
6. Berger, A.; Monnard, I.; Dionisi, F.; Gumy, D.; Hayes, K.C.; Lambelet, P. Cholesterol-lowering properties of amaranth flakes, crude and refined oils in hamsters. **Food Chemistry**. Orlando. v.81, n.1, p.119-124, may. 2003.
7. Bligh, E. G., Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. Ottawa, v.37, p.911-917, 1959.
8. Bragagnolo, N.; Rodriguez-Amaya, D. Otimização da determinação de colesterol por CLAE e teores de colesterol, lipídeos e ácidos graxos em camarão rosa (*Penaeus brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.17, n.3, p.275-280, sept/dec 1997.
9. Brattsand, R. Distribution of cholesterol and triglycerides among lipoprotein fractions in fat-fed rabbits at different levels of serum cholesterol. **Atherosclerosis**. Malmö, v. 23, n.1 , p. 97-110, jan/feb. 1976.
10. Carl, A.B.; Edward, R.M.D.A. **Tietz Textbook of Clinical Chemistry**. 2nd Ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994, 1002-1081p.
11. Carrol, K.K., Kurowska, E.M. Soy consumption and cholesterol reductions: review of animal and human studies. **The Journal of Nutrition**. Bethesda, v. 125, n.3, p. 594S-597S, mar. 1995.

12. Combs, G.F.J. Vitaminas. In: Mahan, L.K.; Escott-Stump, S. **Krause: Alimentos, Nutrição & Dietoterapia**. 10.ed. São Paulo: Roca, 2002. 65-105 p.
13. Czerwiński, J.; Bartnikowska, E.; Leontowicz, H.; Lange, E.; Leontowicz, M.; Katrich, E.; Trakhtenberg, S.; Gorinstein, S. Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. **Journal of Nutritional Biochemistry**. Lexington. v.15, n.10, p.622-629, oct. 2004.
14. Dumas, B.T.; Watson, W. A.; Biggs, H.G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol Green. **Clinica Chimica Acta**. Netherlands, v.31, n.1, p. 87-96, jan. 1971
15. Filiputti, E. **Regulação da secreção de insulina em ilhotas de Langherhans de ratos submetidos à restrição protéica e suplementados com leucina**. 2006. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular na área de Fisiologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
16. Fossati, P.; Prencipe, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. **Clinical Chemistry**. Washington, v.28, n.10, p.2077-2080, oct.1982.
17. Grajeta, H. Effect of amaranth and oat bran on blood serum and liver lipids in rats depending on the kind of dietary fats. **Nahrung**. Weinheim, v.43, n.2, p. 114-117, mar. 1999.
18. Guerra-Matias, A.C.; Arêas, J.A.G. Glycemic and insulinemic responses in women consuming extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L). **Nutrition Research**. West Lafayette. v. 25, n.9 , p. 815-822, sep. 2005.
19. Guzmán-Maldonado, S.H., Paredes-López, O. Functional products of plants indigenous to Latin America: amaranth, quinoa, common beans, and botanicals. In: Mazza, G. **Functional Foods: Biochemical & Processing Aspects**. Pennsylvania: Technomic Publishing Co, 1998.
20. Henry, J.B. **Clinical diagnosis and management by laboratory methods**. 19th Ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996, 1556p.
21. Henry, R.J.; Cannon, D.C.; Winkelman, J. **Clinical chemistry principles and techniques**. 2nd Ed. New York: Harper and Row Publishers Inc., 1974, 1288p.
22. Henry, R.J.; Sobel, C.; Berkman, S. Interferences with biuret methods for serum proteins: use of benedict's qualitative glucose reagent as a biuret reagent. **Analytical Chemistry**. Washington, v.29, n.10, p. 1491-1495, oct. 1957.
23. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.ed. São Paulo; 1985.

24. Jacobs, D.R.; Gallaher, D.D. Whole grain intake and cardiovascular disease: a review. **Current Atherosclerosis Reports**. Philadelphia, v.6, n.6, p.415-423, nov. 2004.
25. Jiratanan, T.; Liu, R.H. Antioxidant activity of processed table beets (*Beta vulgaris* var, *conditiva*) and green beans (*Phaseolus vulgaris* L). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.52, n.9, p.2659-2670, may. 2004.
26. Karasch, M. Amaranth. In: Kiple, K.F., Ornelas, K.C. **The Cambridge World History of Food**. New York: Cambridge University Press, 2000, v.1. p. 75-81.
27. Li, Y.; Schellhorn, H.E. New Developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. **The Journal of Nutrition**. Bethesda. v.137, n.10, p.2171–2184, oct. 2007.
28. Lyon, C.K., Becker, R. Extraction and refining of oil from amaranth seed. **Journal of the American Oil Chemist's Society**. Champaign, v.64, n.2, p.233-236, fev. 1987.
29. Márquez, L.R. **A fibra terapêutica**. São Paulo: Americana de Publicações, 1999. 132p.
30. Martinez-Flores, H.E. ; Chang, Y.K. ; Martinez-Bustos, F. ; Sgarbieri, V. Effect of high fiber products on blood lipid and lipoproteins in hamsters. **Nutrition Research**. West Lafayette, v.24, n.1 , p.85-93, jan. 2004.
31. Matias, A.C.G. **Avaliação de efeitos fisiológicos da fração fibra alimentar dos grãos de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) e linhaça (*Linum usitatissimum* L.)**. 2007. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
32. McGowan, M.W.; Artiss, J.D.; Strandbergh, D.R.; Zak, B. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. **Clinical Chemistry**. Washington, v.29, n.3, p.538-542, mar. 1983.
33. Mendonça, S. **Efeito hipocolesterolemizante da proteína de amaranto (*Amaranthus cruentus* BRS-Alegria) em hamsters**. 2005. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
34. Mendoza, C., Bressani, R. Nutritonal and functional characteristics of extrusion cooked amaranth flour. **Cereal Chemistry**. Saint Paul, v.64, n.4, p.218-222, 1987.
35. Mercier, C.; Cantarelli, C. **Pasta and extrusion cooked foods: some technological and nutritional aspects**. London, UK: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. 199p.
36. Mohallen, D. **Impacto do consumo de cookies de amaranto (*Amaranthus cruentus* BRS-Alegria) e cookies de aveia, em horários estratégicos, no apetite de pessoas eutróficas e com sobrepeso**. Trabalho de Conclusão de Curso, 2006. Faculdade de Nutrição, Universidade de Vila Velha, ES, Brasil.

37. Morita, T.; Oh-Hashi, A.; Takei, K.; Ikai, M.; Kasaoka, S.; Kiriya, S. Cholesterol-lowering effects of soybean, potato and rice proteins depend on their low methionine contents in rats fed a cholesterol-free purified diet. **The Journal of Nutrition**. Bethesda, v. 127, n.3, p. 470-477, march 1997.
38. Plate, A.Y.A., Arêas, J.A.G. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. **Food Chemistry**. Oxford, v.76, n.1, p.1-6, jan. 2002.
39. Powers, H.J. Riboflavin (vitamin B-2) and health. **American Journal of Clinical Nutrition**. Houston. v.77, n.6, p.1352-1360, jun. 2003.
40. Qureshi, A.A.; Lehmann, J.W.; Peterson, D.M. Amaranth and its oil inhibit cholesterol biosynthesis in 6-week-old female chickens. **The Journal of Nutrition**. Bethesda, v.126, n.8, p.1972-1978, aug. 1996.
41. Rivlin, R.S. Riboflavin. In: Bowman, B.A.; Russell, R.M. **Present knowledge in nutrition**. 8° ed. Washington, DC: International Life Sciences Institute, 2001. 191-198 p.
42. Reeves, P.G.; Nielsen, F.H.; Fahey, G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of Nutrition**. Bethesda, v.123, n.11, p.1939-1951, nov. 1993.
43. Sgarbieri, V.C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento**. Campinas: editora da Unicamp – Almed, 1987, p.387.
44. Shin, D.H.; Heo, H.J.; Lee, Y.J.; Kim, H.K. Amaranth squalene reduces serum and liver lipid levels in rat fed a cholesterol diet. **British Journal of Biomedical Science**. London, v.61, n.1, p.11-14, march 2004.
45. Terpstra, A.H.M., Holmes, J.C., Nicolosi, R.J. The hypercholesterolemic effect of dietary soybean protein vs. Casein in hamsters fed cholesterol-free or cholesterol-enriched semipurified diets. **The Journal of Nutrition**. Bethesda, v. 121, n.7, p. 944-947, jul. 1991.
46. Tovar, J. et al. Almidón Resistente: caracterización y análisis: In: Lajolo, F.M.; Menezes, E.W. **Carboidratos en Alimentos Regionales Iberoamericanos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2006. 63-88 p.
47. Trinder, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Annals of Clinical Biochemistry**. London, v.6, p.24-27, 1969.
48. Wong, J.M.W.; Souza, R.; Kendall, C.W.C.; Emam, A.; Jenkins, D.J.A. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. **Journal of Clinical Gastroenterology**. Philadelphia, v.40, n.3, p.235-243. march 2006.

Conclusão Geral

CONCLUSÃO GERAL

O tratamento térmico por extrusão aplicado à farinha de amaranto não promoveu perdas protéicas, podendo ser uma alternativa para a indústria alimentícia para a implementação e produção de alimentos a base de amaranto, que além de rico em proteínas de alto valor biológico, fornece também grande aporte de fibras, do tipo insolúvel principalmente, que conferem características altamente desejáveis para o consumidor atual, assim como para a indústria de alimentos.

O consumo do amaranto favoreceu redução significativa dos níveis séricos de colesterol total e LDL-colesterol. Assim como maior excreção fecal de lipídeos e formação de ácidos graxos de cadeia curta.

Este estudo comprova a ação hipocolesterolemiantes do amaranto, desta vez, utilizando a farinha do grão integral, e não das suas frações.

Os achados revelam também que o efeito hipocolesterolemiantes observado em outros estudos para ratos, coelhos e hamsters submetidos a condições hipercolesterolemiantes são passíveis de ocorrer em animais alimentados com dietas normolipídicas.

A disponibilização deste alimento vegetal de elevado valor biológico e com propriedades potencialmente benéficas à saúde deveria ser estudada como opção para a promoção da segurança alimentar.

Anexo



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

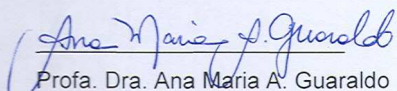
CERTIFICADO

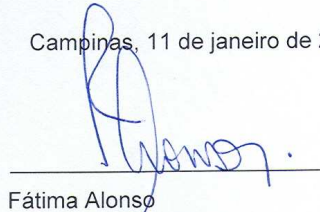
Certificamos que o Protocolo nº 1171-2, sobre "Avaliação das alterações metabólicas decorrentes do consumo de Amarantho extrusado em ratos Wistar", sob a responsabilidade de Prof. Dr. Jaime Amaya Farfán / Cinthia Baú Betim, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em 11 de janeiro de 2007.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 1171-2, entitled "Evaluation of the decurrent metabolic alterations of the consumption of the extruded Amaranth in Wistar rats", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on January 11, 2007.

Campinas, 11 de janeiro de 2007.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guarnido
Presidente


Fátima Alonso
Secretária Executiva

CEEA/IB - Unicamp
Caixa Postal 6109
13083-970 Campinas, SP - Brasil

Telefone: (19) 3521-6359
Telefax: (19) 3521-6356
E-mail: comisib@unicamp.br
<http://www.ib.unicamp.br/institucional/ceea/index.htm>

Análise Estatística - SAS
Composição Centesimal das Dietas

Resultado Análise Umidade

Amostra	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
	%			
Rep1	7,9	6,9	7,5	6,2
Rep2	7,8	6,8	7,6	6,4
Rep3	7,7	7,1	7,6	6,3
Média	7,8	6,9	7,6	6,3
Erro padrão	0,06	0,09	0,03	0,06
Valor p	0,0203		0,0004	

Resultado Análise Cinzas

Amostra	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
	%			
Rep1	2,6	3,6	2,8	3,6
Rep2	2,6	3,4	3,0	3,9
Rep3	2,8	3,4	2,8	3,8
Média	2,7	3,5	2,9	3,8
Erro padrão	0,07	0,07	0,07	0,09
Valor p	0,0202		0,0041	

Resultado Análise Proteínas

Amostra	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
	%			
Rep1	13,4	14,0	19,6	19,7
Rep2	13,7	14,0	19,8	20,9
Rep3	13,5	13,6	20,1	20,7
Média	13,5	13,9	19,8	20,4
Erro padrão	0,09	0,13	0,15	0,37
Valor p	0,1487		0,1732	

Análise Estatística - SAS
Composição Centesimal das Dietas

Resultado Análise Lipídeos

Amostra	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
	%			
Rep1	7,6	7,5	6,6	7,1
Rep2	7,6	7,5	6,6	7,4
Rep3	7,6	7,5	6,7	7,0
Média	7,6	7,5	6,6	7,2
Erro padrão	0,00	0,00	0,03	0,12
Valor p	<0,0001		0,0669	

Resultado Análise Fibra Bruta

Amostra	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
	%			
Rep1	3,2	3,0	3,1	3,9
Rep2	3,0	3,4	3,9	4,0
Rep3	2,6	3,2	3,6	3,8
Média	2,9	3,2	3,5	3,9
Erro padrão	0,18	0,12	0,23	0,06
Valor p	0,3828		0,2354	

Resultado Análise Carboidratos

Amostra	AIN 12	AM 12	AIN 18	AM 18
	%			
Rep1	65,3	65,0	60,4	59,5
Rep2	65,3	64,9	59,1	57,4
Rep3	65,8	65,2	59,3	58,4
Média	65,5	65,1	59,6	58,4
Erro padrão	0,17	0,09	0,40	0,61
Valor p	0,0407		0,0530	

Aminograma Farinhas de Amaranto Crua (FC) e Extrusada (FE)

Método: HPLC

Resultados em g/100g de amostra

ID	ASP	GLU	SER	GLI	HIS	ARG	ALA	PRO	TIR	CIS
FC1	1,204	2,475	0,868	1,120	0,342	1,426	0,549	0,581	0,526	0,207
FC2	1,027	2,112	0,777	1,068	0,336	1,268	0,562	0,583	0,498	0,176
FC3	1,061	2,149	0,792	1,096	0,330	1,281	0,561	0,583	0,482	0,180
Média	1,097	2,245	0,812	1,095	0,336	1,325	0,557	0,583	0,502	0,188
STD	0,094	0,200	0,049	0,026	0,006	0,088	0,007	0,001	0,022	0,017
C.V.	8,560	8,899	5,998	2,378	1,746	6,629	1,294	0,233	4,393	8,985
FE1	1,216	2,431	0,869	1,111	0,315	1,386	0,543	0,579	0,503	0,228
FE2	1,148	2,374	0,847	1,161	0,343	1,396	0,569	0,625	0,488	0,201
FE3	1,148	2,377	0,853	1,176	0,369	1,445	0,595	0,659	0,494	0,244
Média	1,171	2,394	0,856	1,149	0,342	1,409	0,569	0,621	0,495	0,224
STD	0,039	0,032	0,011	0,034	0,027	0,031	0,026	0,040	0,008	0,022
C.V.	3,366	1,348	1,327	2,954	7,895	2,229	4,597	6,449	1,558	9,688

ASP: Asparagina, GLU: Glutamato, SER: Serina, GLI: Glicina, HIS: Histidina, ARG: Arginina, ALA: Alanina, PRO: Prolina, TIR: Tirosina, CIS: Cisteína. STD: Desvio padrão; C.V.: Coeficiente de variação.

Aminograma Farinhas de Amaranto Crua (FC) e Extrusada (FE)

Método: HPLC

Resultados em g/100g de amostra

ID	TRE	VAL	MET	ILEU	LEU	FEN	LIS
FC1	0,551	0,634	0,360	0,536	0,827	0,601	0,559
FC2	0,474	0,983	0,417	0,512	0,839	0,596	0,683
FC3	0,471	0,996	0,410	0,503	0,837	0,606	0,714
Média	0,499	0,871	0,395	0,517	0,834	0,601	0,652
STD	0,045	0,205	0,031	0,017	0,006	0,005	0,082
C.V.	9,096	23,575	7,809	3,264	0,741	0,899	12,583
FE1	0,551	0,634	0,360	0,531	0,826	0,617	0,581
FE2	0,504	0,665	0,430	0,511	0,831	0,591	0,774
FE3	0,442	0,774	0,454	0,489	0,816	0,571	0,629
Média	0,499	0,691	0,415	0,510	0,824	0,593	0,661
STD	0,054	0,074	0,049	0,021	0,008	0,023	0,100
C.V.	10,911	10,666	11,803	4,137	0,929	3,899	15,168

TER: Treonina, VAL: Valina, MET: Metionina, ILE: Isoleucina, LEU: Leucina, FEN: Fenilalanina, LIS: Lisina.
STD: Desvio padrão; C.V.: Coeficiente de variação.

Análise Estatística - SAS

Aminograma das Farinhas Crua (FC) e Extrusada (FE)

Aminoácido Treonina

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	0,5510	0,4744	0,4706	0,4987	0,0260	0,9698
FE	0,5510	0,5000	0,4400	0,4970	0,0321	

Aminoácido Valina

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	0,6340	0,9833	0,9957	0,8710	0,1186	0,2190
FE	0,6340	0,6650	0,7740	0,6880	0,0417	

Aminoácido Metionina

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	0,3600	0,4166	0,4097	0,3954	0,0178	0,6121
FE	0,3600	0,4300	0,4540	0,4133	0,0273	

Aminoácido Isoleucina

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	0,5360	0,5121	0,5034	0,5172	0,0097	0,6789
FE	0,5310	0,5110	0,4890	0,5103	0,0118	

Aminoácido Leucina

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	0,8270	0,8386	0,8365	0,8340	0,0036	0,1317
FE	0,8260	0,8310	0,8160	0,8253	0,0029	

Análise Estatística - SAS

Aminograma das Farinhas Crua (FC) e Extrusada (FE)

Aminoácido Fenilalanina

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	0,6010	0,5955	0,6063	0,6010	0,0031	0,5715
FE	0,6170	0,5910	0,5710	0,5923	0,0136	

Aminoácido Lisina

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	0,5590	0,6830	0,7141	0,6520	0,0474	0,9159
FE	0,5810	0,7740	0,6290	0,6603	0,0566	

Aminoácido Triptofano

	FC	FE
Rep1	0,118	0,094
Rep2	0,116	0,140
Rep3	0,107	0,078
Rep4	0,098	0,110
Rep5	0,119	0,088
Rep6	0,160	0,162
Rep7	0,083	0,116
Rep8	0,098	0,145
Média	0,114	0,149
Erro Padrão	0,003	0,007
Valor de p	0,6996	

Análise Estatística - SAS
Análise das Farinhas Crua (FC) e Extrusada (FE)

Fibra Bruta (%)

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	4,5	4,5	4,7	4,6	0,07	<i>0,8600</i>
FE	4,3	4,8	4,5	4,5	0,15	

Fibra Alimentar Total (%)

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	8,8	10,1	9,5	9,5	0,36	<i>0,5745</i>
FE	9,1	9,2	9,3	9,2	0,06	

Fibra Insolúvel (%)

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	6,7	6,6	6,4	6,6	0,09	<i>0,0782</i>
FE	7,9	7,3	6,8	7,3	0,32	

Fibra Solúvel (%)

Amostra	Rep1	Rep2	Rep3	Média	Erro Padrão	Valor de p
FC	2,1	3,5	3,1	2,9	0,42	<i>0,0781</i>
FE	1,2	1,9	2,5	1,9	0,38	

Amido Resistente (%)

	FC	FE
Rep1	10,6	9,3
Rep2	10,9	8,1
Rep3	10,0	9,9
Rep4	10,8	11,1
Média	10,6	9,6
Erro Padrão	0,20	0,62
Valor de p	<i>0,2562</i>	

Análise Estatística - SAS
Consumo das Dietas

Registro consumo médio/diário após 03 dias ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	7,9	4,5	8,6	8,0
2	6,4	6,0	5,9	8,3
3	2,8	7,3	5,5	7,3
4	5,0	6,6	5,7	6,3
5	7,8	3,8	7,7	6,6
6	7,3	8,8	6,2	9,3
7	6,8	7,9	8,5	8,7
8	7,7	6,8	8,2	3,2
9	8,0	7,4	8,1	7,9
10	7,0	8,1	4,6	5,9
11	8,6	8,7	7,8	8,2
12	7,4	4,0	6,1	3,5
Média	6,9	6,7	6,9	6,9
Desvio padrão	1,59	1,75	1,38	1,95

$p = 0,9702$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,9674	0,7499	0,9558
AM12	0,9674		0,7230	0,9696
AIN18	0,7499	0,7230		0,6432
AM18	0,9558	0,9696	0,6432	

Análise Estatística - SAS
Consumo das Dietas

Registro consumo médio/diário após 05 dias ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	11,4	8,2	9,8	11,2
2	10,0	11,2	9,5	11,4
3	6,7	10,7	9,7	9,7
4	9,3	10,2	8,3	10,2
5	11,4	8,5	10,1	9,2
6	10,4	11,5	8,5	11,3
7	9,8	12,1	11,0	11,3
8	11,0	10,3	11,5	7,8
9	12,1	11,7	10,2	10,9
10	9,1	11,1	9,0	10,1
11	11,9	11,9	10,6	11,7
12	12,0	7,8	9,2	8,4
Média	10,4	10,4	9,8	10,3
Desvio padrão	1,57	1,51	0,96	1,26

$p = 0,5747$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,1911	0,9908	0,7915
AM12	0,1911		0,1966	0,3499
AIN18	0,9908	0,1966		0,6703
AM18	0,7915	0,3499	0,6703	

Análise Estatística - SAS
Consumo das Dietas

Registro consumo médio/diário após 08 dias ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	12,4	11,5	15,2	14,2
2	13,7	12,7	12,6	12,4
3	10,3	13,2	11,6	13,1
4	11,2	11,4	10,8	14,4
5	9,6	11,4	14,7	13,4
6	13,7	13,5	11,8	14,1
7	11,3	6,6	13,4	14,0
8	13,3	13,3	12,7	11,4
9	14,9	15,1	12,2	14,9
10	13,9	13,8	12,9	13,9
11	14,2	14,6	12,6	14,9
12	15,8	10,7	13,3	13,5
Média	12,9	12,3	12,8	13,7
Desvio padrão	1,90	2,26	1,25	1,02

$p = 0,2522$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,9528	0,4324	0,1903
AM12	0,9528		0,5655	0,0958
AIN18	0,4324	0,5655		0,0768
AM18	0,1903	0,0958	0,0768	

Análise Estatística - SAS
Consumo das Dietas

Registro consumo médio/diário após 18 dias ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	15,7	15,3	16,5	14,0
2	16,3	15,4	14,9	15,6
3	13,7	16,5	13,4	13,9
4	14,4	16,9	11,9	15,9
5	16,4	15,0	15,7	15,0
6	16,8	15,9	15,6	14,5
7	14,3	17,3	15,4	14,8
8	14,9	16,0	13,7	14,3
9	16,7	16,3	14,7	17,0
10	14,8	16,6	14,8	15,9
11	16,3	17,6	14,9	15,6
12	15,7	15,7	13,3	16,1
Média	15,5	16,2	14,6	15,2
Desvio padrão	1,05	0,81	1,27	0,97

$p = 0,0042$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0176	0,1463	0,4111
AM12	0,0176		0,0068	0,2340
AIN18	0,1463	0,0068		0,0110
AM18	0,4111	0,2340	0,0110	

Análise Estatística - SAS
Consumo das Dietas

Registro consumo médio/diário após 29 dias ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	20,0	20,4	17,8	17,2
2	19,6	20,0	17,5	18,9
3	21,9	19,2	16,9	20,6
4	17,3	16,5	16,8	19,5
5	19,4	17,6	18,8	18,7
6	13,5	19,4	17,0	18,4
Média	18,6	18,8	17,4	18,9
Desvio padrão	2,92	1,50	0,75	1,13

$p = 0,4572$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,3604	0,8579	0,8242
AM12	0,3604		0,0997	0,0860
AIN18	0,8579	0,0997		0,9721
AM18	0,8242	0,0860	0,9721	

Registro consumo médio/diário após 48 dias ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	17,7	18,4	19,4	16,6
2	18,2	14,3	20,3	19,3
3	17,9	16,9	20,0	20,4
4	16,5	18,4	20,2	16,4
5	19,0	18,4	19,0	17,6
6	19,4	17,9	19,4	23,5
Média	18,1	17,4	19,7	19,0
Desvio padrão	1,03	1,62	0,52	2,71

$p = 0,1379$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,4069	0,0396	0,3773
AM12	0,4069		0,0349	0,3190
AIN18	0,0396	0,0349		0,5389
AM18	0,3773	0,3190	0,5389	

Análise Estatística - SAS
Ganho de Peso dos Animais

Peso de chegada (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	58,5	51,3	54,2	56,3
2	54,4	55,2	50,2	60,7
3	47,3	51,4	49,7	50,8
4	48,6	56,8	60,4	50,2
5	58,7	57,3	54,1	50,0
6	57,4	67,2	56,9	61,4
7	49,9	52,2	57,4	56,2
8	55,5	49,0	66,5	50,4
9	52,2	56,0	57,4	55,0
10	57,6	61,3	49,0	49,2
11	56,0	68,1	57,8	68,7
12	61,0	49,2	59,7	49,9
Média	54,8	56,3	56,1	54,9
Desvio padrão	4,36	6,43	5,05	6,11

$p = 0,4934$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,4875	0,4864	0,9473
AM12	0,4875		0,9569	0,4117
AIN18	0,4864	0,9569		0,6153
AM18	0,9473	0,4117	0,6153	

Análise Estatística - SAS
Ganho de Peso dos Animais

Peso início do ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	64,9	56,3	67,0	59,6
2	61,2	61,5	69,7	56,7
3	47,1	60,9	62,4	55,3
4	52,7	64,7	59,0	65,7
5	62,5	53,9	56,6	60,9
6	61,8	74,8	74,9	63,5
7	55,2	62,0	66,6	66,0
8	64,4	56,6	53,9	73,5
9	60,6	64,2	65,0	67,1
10	62,4	70,1	56,8	53,3
11	61,7	78,3	78,0	64,8
12	69,6	53,4	53,7	66,7
Média	60,3	63,1	63,6	62,8
Desvio padrão	6,01	7,96	8,00	5,79

$p = 0,8056$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,4017	0,3051	0,2665
AM12	0,4017		0,7549	0,9223
AIN18	0,3051	0,7549		0,7773
AM18	0,2665	0,9223	0,7773	

Análise Estatística - SAS
Ganho de Peso dos Animais

Peso após 03 dias de ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	81,0	71,3	77,1	86,0
2	76,4	80,0	73,9	91,6
3	58,0	81,1	69,4	78,9
4	68,6	81,0	79,6	70,6
5	79,9	70,3	79,2	75,0
6	78,0	91,8	79,6	94,8
7	69,6	81,1	83,5	86,6
8	81,3	73,7	90,6	69,2
9	80,6	83,1	84,4	82,7
10	78,0	89,6	68,6	73,7
11	83,2	98,5	82,2	98,5
12	88,7	66,8	82,9	66,9
Média	76,9	80,7	79,3	81,2
Desvio padrão	8,09	9,36	6,32	10,48

$p = 0,8809$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,3505	0,3129	0,2909
AM12	0,3505		0,6932	0,8371
AIN18	0,3129	0,6932		0,6049
AM18	0,2909	0,8371	0,6049	

Análise Estatística - SAS
Ganho de Peso dos Animais

Peso após 10 dias de ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	129,0	119,0	120,3	142,0
2	116,7	128,9	119,1	138,7
3	102,9	134,3	113,5	128,8
4	113,6	132,5	121,4	120,2
5	126,1	118,8	124,9	127,9
6	127,2	138,9	126,3	150,7
7	111,6	137,0	130,8	135,4
8	125,0	124,7	137,6	119,5
9	136,3	137,4	134,6	134,9
10	124,9	143,1	118,3	118,8
11	132,7	151,1	130,0	152,8
12	134,4	111,1	127,2	113,9
Média	123,4	131,4	125,3	132,0
Desvio padrão	10,15	11,42	7,15	12,69

$p = 0,0805$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,1127	0,4530	0,0735
AM12	0,1127		0,1419	0,8760
AIN18	0,4530	0,1419		0,1335
AM18	0,0735	0,8760	0,1335	

Análise Estatística - SAS
Ganho de Peso dos Animais

Peso após 15 dias de ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	164,4	163,2	157,9	178,8
2	166,0	168,0	153,8	178,9
3	139,1	169,1	150,6	163,2
4	152,0	180,2	152,8	149,0
5	160,1	158,0	162,1	164,8
6	167,4	170,9	171,2	193,3
7	139,7	166,6	169,2	168,5
8	158,5	161,0	168,7	163,0
9	175,1	173,3	170,5	175,8
10	158,3	182,2	160,1	156,6
11	171,5	191,5	164,8	194,5
12	173,5	150,7	162,9	155,1
Média	160,5	169,6	162,1	170,1
Desvio padrão	11,94	11,22	7,16	14,46

$p = 0,0179$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0807	0,6443	0,0395
AM12	0,0807		0,0856	0,9009
AIN18	0,6443	0,0856		0,0606
AM18	0,0395	0,9009	0,0606	

Análise Estatística - SAS
Ganho de Peso dos Animais

Peso após 18 dias de ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	182,8	183,3	179,5	197,4
2	187,8	190,5	170,9	197,3
3	179,1	206,2	172,4	180,0
4	185,1	177,8	178,8	181,5
5	157,8	191,2	192,0	211,2
6	172,8	191,2	187,8	195,2
7	198,0	203,6	182,6	173,6
8	174,8	213,4	179,2	212,6
9	190,6	172,6	181,7	177,1
Média	181,0	192,2	180,5	191,8
Desvio padrão	11,70	13,47	6,66	14,47

$p = 0,0836$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,1183	0,9382	0,2242
AM12	0,1183		0,0592	0,9405
AIN18	0,9382	0,0592		0,0440
AM18	0,2242	0,9405	0,0440	

Análise Estatística - SAS
Ganho de Peso dos Animais

Peso após 26 dias de ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	232,1	235,9	218,4	223,8
2	223,7	239,9	214,8	255,5
3	230,0	244,4	211,3	250,1
4	198,1	236,2	222,4	218,5
5	254,3	231,5	238,9	258,6
6	219,4	216,4	222,8	223,8
Média	226,3	234,1	221,4	238,4
Desvio padrão	18,34	9,67	9,63	18,22

$p = 0,2072$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,3950	0,4982	0,0967
AM12	0,3950		0,1201	0,5554
AIN18	0,4982	0,1201		0,0847
AM18	0,0967	0,5554	0,0847	

Peso após 28 dias de ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	239,9	243,1	229,9	230,3
2	227,4	247,8	220,8	241,1
3	236,4	233,6	225,5	263,2
4	209,9	248,1	231,8	226,7
5	265,1	248,7	246,9	269,6
6	227,6	229,8	228,6	238,1
Média	234,4	241,9	230,6	244,8
Desvio padrão	18,29	8,20	8,87	17,61

$p = 0,1390$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,3833	0,5371	0,0918
AM12	0,3833		0,0369	0,7295
AIN18	0,5371	0,0369		0,0781
AM18	0,0918	0,7295	0,0781	

Análise Estatística - SAS
Ganho de Peso dos Animais

Peso após 33 dias de ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	245,9	276,4	261,4	226,7
2	248,3	276,0	247,7	268,6
3	265,9	261,8	247,9	293,3
4	229,6	275,1	256,8	249,6
5	290,5	274,8	277,0	296,0
6	251,9	261,1	251,5	272,7
Média	255,4	270,9	257,1	267,8
Desvio padrão	20,79	7,32	11,13	26,42

$p = 0,5338$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,2228	0,8177	0,1342
AM12	0,2228		<0,0001	0,8967
AIN18	0,8177	<0,0001		0,3866
AM18	0,1342	0,8967	0,3866	

Peso após 38 dias de ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	290,2	319,0	298,8	259,0
2	283,9	321,1	285,6	305,9
3	303,8	296,5	280,9	341,4
4	262,0	309,7	291,2	273,6
5	321,7	316,4	308,0	335,5
6	282,2	295,5	268,8	313,5
Média	290,6	309,7	288,9	304,8
Desvio padrão	20,37	11,29	13,76	32,95

$p = 0,2113$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0942	0,8303	0,2133
AM12	0,0942		0,0028	0,7727
AIN18	0,8303	0,0028		0,3508
AM18	0,2133	0,7727	0,3508	

Análise Estatística - SAS
Ganho de Peso dos Animais

Peso após 44 dias de ensaio (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	305,7	344,4	315,8	272,1
2	302,1	336,2	267,8	324,8
3	303,5	330,3	301,0	360,6
4	267,2	330,1	305,5	273,2
5	340,4	336,1	312,6	354,5
6	293,2	318,3	292,7	339,0
Média	302,0	332,6	299,2	320,7
Desvio padrão	23,58	8,72	17,47	39,25

$p = 0,0797$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0187	0,8157	0,2129
AM12	0,0187		0,0093	0,5331
AIN18	0,8157	0,0093		0,3046
AM18	0,2129	0,5331	0,3046	

Análise Estatística - SAS
Consumo das Dietas

PER - Protein Efficiency Ratio

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	3,56	4,41	2,76	2,20
2	3,48	4,00	2,22	2,80
3	3,22	4,32	2,95	2,92
4	3,53	4,27	2,64	2,08
5	4,08	4,25	2,51	2,88
6	4,29	4,20	2,44	3,05
Média	3,69	4,24	2,59	2,66
Desvio padrão	0,40	0,14	0,25	0,41

<i>p = <0,0001</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,5092	0,0051	0,0024
AM12	0,5092		<0,0001	0,0005
AIN18	0,0051	<0,0001		0,7681
AM18	0,0024	0,0005	0,7681	

Coefficiente de Eficiência Alimentar

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	2,34	1,89	2,01	2,52
2	2,40	2,08	2,50	1,98
3	2,59	1,93	1,89	1,90
4	2,36	1,95	2,11	2,67
5	2,04	1,96	2,21	1,93
6	1,94	1,98	2,28	1,82
Média	2,28	1,97	2,17	2,14
Desvio padrão	0,24	0,06	0,22	0,36

<i>p = 0,2316</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0301	0,5092	0,3922
AM12	0,0301		0,0267	0,8831
AIN18	0,5092	0,0267		0,3346
AM18	0,3922	0,8831	0,3346	

Análise Estatística - SAS
Peso dos Órgãos Final do Ensaio

Intestino Delgado (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	5,69	6,10	5,53	3,73
2	3,94	5,40	4,90	3,86
3	5,90	5,07	4,64	5,05
4	5,88	4,29	4,81	4,53
5	4,39	3,77	5,21	4,89
6	5,75	5,35	4,02	4,84
Média	5,3	5,0	4,9	4,5
Desvio padrão	0,86	0,84	0,52	0,56

$p = 0,3662$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,5729	0,4173	0,0833
AM12	0,5729		0,7304	0,3653
AIN18	0,4173	0,7304		0,3767
AM18	0,0833	0,3653	0,3867	

Intestino Grosso (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	1,23	1,33	1,40	1,31
2	1,32	1,13	1,31	0,93
3	1,26	1,18	1,42	1,58
4	1,31	1,04	1,14	1,24
5	1,05	1,23	1,27	1,20
6	1,36	1,25	1,62	1,48
Média	1,3	1,2	1,4	1,3
Desvio padrão	0,11	0,10	0,16	0,23

$p = 0,2262$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,4188	0,1761	0,7387
AM12	0,4188		0,0216	0,3274
AIN18	0,1761	0,0216		0,4114
AM18	0,7387	0,3274	0,4114	

Análise Estatística - SAS
Peso dos Orgãos Final do Ensaio

Ceco com conteúdo fecal (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	1,71	2,48	1,93	1,28
2	1,63	1,16	3,38	1,76
3	1,69	2,17	3,20	2,21
4	1,65	5,08	1,87	2,50
5	2,79	1,65	1,14	1,84
6	1,89	1,83	1,47	5,01
Média	1,89	2,40	2,17	2,43
Desvio padrão	0,45	1,39	0,92	1,33

$p = 0,8466$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,4739	0,6191	0,3944
AM12	0,4739		0,7701	0,9631
AIN18	0,6191	0,7701		0,7361
AM18	0,3944	0,9631	0,7361	

Análise Estatística - SAS

Tamanho dos Órgãos Final do Ensaio

Intestino Delgado (cm)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	127,0	122,0	124,0	103,0
2	125,0	123,4	115,0	113,0
3	119,0	127,0	123,0	125,0
4	128,0	122,0	117,0	123,0
5	122,5	124,0	124,0	123,0
6	126,5	122,0	118,0	120,0
Média	124,7	123,4	120,2	117,8
Desvio padrão	3,37	1,96	3,97	8,40

<i>p = 0,1415</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,5837	0,1410	0,1693
AM12	0,5837		0,0859	0,1351
AIN18	0,1410	0,0859		0,5761
AM18	0,1693	0,1351	0,5761	

Intestino Grosso (cm)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	21,0	22,0	24,0	23,0
2	21,0	19,8	20,0	21,0
3	22,0	22,0	20,0	19,0
4	21,0	18,0	20,0	24,0
5	18,0	20,0	20,0	18,0
6	20,0	17,0	23,0	20,0
Média	20,5	19,8	21,2	20,8
Desvio padrão	1,38	2,04	1,83	2,32

<i>p = 0,6177</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,4460	0,5007	0,7089
AM12	0,4460		0,2722	0,4761
AIN18	0,5007	0,2722		0,7575
AM18	0,7089	0,4761	0,7575	

Análise Estatística - SAS
Excreção Fecal

Lipídeos Totais (%)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	3,1	7,1	3,3	8,3
2	3,3	7,8	3,6	7,7
3	3,4	7,3	2,8	7,6
Média	3,3	7,4	3,2	7,9
Desvio padrão	0,15	0,36	0,40	0,38

$p = < 0,0001$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0020	0,9175	0,0044
AM12	0,0020		0,0024	0,3487
AIN18	0,9175	0,0024		0,0034
AM18	0,0044	0,3487	0,0034	

Ácidos Graxos de Cadeia Curta
Ácido Acético (mmol/g de amostra)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	0,3028	0,4701	0,5699	0,5029
2	0,4436	0,4858	0,2401	0,5136
3	0,5779	0,5805	0,4756	0,3192
Média	0,4414	0,5121	0,4285	0,4452
Desvio padrão	0,14	0,06	0,17	0,11

$p = 0,8816$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,2903	0,9365	0,9802
AM12	0,2903		0,4922	0,5625
AIN18	0,9365	0,4922		0,9101
AM18	0,9802	0,5625	0,9101	

Análise Estatística - SAS
Excreção Fecal

Ácidos Graxos de Cadeia Curta
Ácido Butírico (mmol/g de amostra)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	0,0994	0,5487	0,2816	0,6004
2	0,1814	0,5619	0,2083	0,8837
3	0,0840	0,5928	0,1400	0,7607
Média	0,1216	0,5678	0,2099	0,7483
Desvio padrão	0,05	0,02	0,07	0,14

<i>p = 0,0003</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0068	0,2050	0,0100
AM12	0,0068		0,0217	0,1475
AIN18	0,2050	0,0217		0,0399
AM18	0,0100	0,1475	0,0399	

Ácidos Graxos de Cadeia Curta
Ácido Propiônico (mmol/g de amostra)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	0,0145	0,0304	0,0577	0,0177
2	0,0300	0,0152	0,0185	0,0191
3	0,0101	0,0186	0,0230	0,0191
Média	0,0182	0,0214	0,0331	0,0186
Desvio padrão	0,01	0,01	0,02	0,00

<i>p = 0,4769</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,7605	0,4457	0,9502
AM12	0,7605		0,2742	0,6334
AIN18	0,4457	0,2742		0,3761
AM18	0,9502	0,6334	0,3761	

Análise Estatística - SAS

Peso do Fígado Final do Ensaio

Fígado (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	8,63	9,91	12,09	7,65
2	7,40	11,30	6,45	7,79
3	9,56	10,42	7,87	9,88
4	8,83	10,64	8,00	9,80
5	8,22	10,00	9,65	9,90
6	9,40	9,96	8,68	12,14
Média	8,7	10,4	8,8	9,5
Desvio padrão	0,80	0,54	1,93	1,66

<i>p = 0,2640</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0172	0,8889	0,1618
AM12	0,0172		0,1656	0,3358
AIN18	0,8889	0,1656		0,5394
AM18	0,1618	0,3358	0,5394	

Análise Estatística - SAS
Análises Hepáticas Final do Ensaio

Lipídeos Totais Fígado (%)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	18,30	16	14,10	17,90
2	20,40	14,5	15,00	16,50
3	16,60	18,2	21,20	18,20
4	16,70	13,6	20,90	16,60
Média	18,0	15,6	17,8	17,3
Desvio padrão	1,78	2,01	3,77	0,88

<i>p = 0,5342</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,9450	0,2152	0,5869
AM12	0,9450		0,3399	0,8092
AIN18	0,2152	0,3399		0,0705
AM18	0,5869	0,8092	0,0705	

Colesterol Hepático (g/100g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	0,50	0,45	0,37	0,38
2	0,34	0,62	0,35	0,44
3	0,44	0,68	0,30	0,34
Média	0,4	0,6	0,3	0,4
Desvio padrão	0,08	0,12	0,04	0,05

<i>p = 0,0663</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,2709	0,2154	0,6265
AM12	0,2709		0,1089	0,1289
AIN18	0,2154	0,1089		0,1835
AM18	0,6265	0,1289	0,1835	

Análise Estatística - SAS
Peso dos Órgãos Final do Ensaio

Rins (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	2,00	1,97	2,29	1,77
2	1,96	1,95	1,83	1,80
3	2,11	1,92	1,74	2,10
4	1,75	2,06	1,88	2,15
5	2,30	1,84	1,86	1,99
6	2,60	2,37	2,01	2,49
Média	2,1	2,0	1,9	2,1
Desvio padrão	0,30	0,19	0,19	0,26

$p = 0,4525$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,3806	0,2447	0,5264
AM12	0,3806		0,4199	0,6555
AIN18	0,2447	0,4199		0,4673
AM18	0,5264	0,6555	0,4673	

Baço (g)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	0,74	0,74	0,83	0,51
2	0,70	0,70	0,68	0,52
3	0,85	0,85	0,86	0,84
4	0,70	0,70	0,65	0,79
5	0,69	0,69	0,60	0,86
6	0,76	0,76	0,71	0,77
Média	0,7	0,7	0,7	0,7
Desvio padrão	0,06	0,06	0,10	0,16

$p = 0,9475$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,7866	0,5062	0,7075
AM12	0,7866		0,5560	0,6216
AIN18	0,5062	0,5560		0,9408
AM18	0,7075	0,6216	0,9408	

Análise Estatística - SAS
Análises Séricas

Triacilgliceróis (mg/dL)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	72,013	82,838	72,798	77,110
2	39,192	88,074	110,472	79,775
3	14,660	53,835	50,274	75,229
Média	41,955	74,916	77,848	77,371
Desvio padrão	28,78	18,44	30,42	2,28

<i>p = 0,1243</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,2198	0,1020	0,1607
AM12	0,2198		0,7952	0,9793
AIN18	0,1020	0,7952		0,8202
AM18	0,1607	0,9793	0,8202	

HDL - Colesterol (mg/dL)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	43,681	35,992	27,514	22,104
2	36,325	41,407	28,109	32,284
3	30,980	21,560	32,132	23,326
Média	36,995	32,986	29,252	25,905
Desvio padrão	6,38	10,26	2,51	5,56

<i>p = 0,2711</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,2619	0,4731	0,1737
AM12	0,2619		0,6593	0,4799
AIN18	0,4731	0,6593		0,2660
AM18	0,1737	0,4799	0,2660	

Análise Estatística - SAS
Análises Séricas

VLDL - Colesterol (mg/dL)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	14,403	16,568	14,560	15,422
2	7,838	17,615	22,094	15,955
3	2,932	10,767	10,055	15,046
Média	8,391	15,570	14,983	15,474
Desvio padrão	5,76	6,08	3,69	0,46

<i>p = 0,1243</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,2198	0,1020	0,1607
AM12	0,2198		0,7952	0,9793
AIN18	0,1020	0,7952		0,8202
AM18	0,1607	0,9793	0,8202	

Análise Estatística - SAS
Análises Séricas

Glicose (mg/dL)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	133,859	134,521	219,761	154,104
2	111,094	170,098	194,443	205,867
3	174,300	231,539	155,567	131,052
Média	139,751	189,924	178,719	163,674
Desvio padrão	32,01	32,33	49,08	38,31

<i>p = 0,5687</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,1790	0,2827	0,6095
AM12	0,1790		0,8338	0,7597
AIN18	0,2827	0,8338		0,3597
AM18	0,6095	0,7597	0,3597	

Insulina (ng/mL)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	1,13	0,95	2,53	0,98
2	0,65	1,85	0,65	0,88
3	0,63	1,31	1,08	0,64
4	0,36	3,20	0,92	1,79
5	1,35	0,76	1,82	0,87
6	0,57	1,31	0,38	1,47
Média	0,78	1,56	1,23	1,11
Desvio padrão	0,38	0,88	0,80	0,43

<i>p = 0,3170</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,1036	0,1722	0,3165
AM12	0,1036		0,5976	0,7802
AIN18	0,1722	0,5976		0,1480
AM18	0,3165	0,7802	0,1480	

Análise Estatística - SAS
Análises Séricas

Proteínas Totais (g/dL)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	7,257	7,547	7,980	8,016
2	5,674	5,369	6,780	7,811
3	7,564	6,150	7,943	5,246
4	7,683	6,662	6,390	6,670
5	8,008	7,734	6,307	4,456
6	7,654	8,016	7,384	5,469
Média	7,307	6,913	7,131	6,278
Desvio padrão	0,84	1,03	0,75	1,45

$p = 0,6760$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,7176	0,3623	0,3823
AM12	0,7176		0,7854	0,4200
AIN18	0,3623	0,7854		0,6412
AM18	0,3823	0,4200	0,6412	

Albumina (g/dL)

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	4,197	4,558	4,988	3,664
2	4,692	4,834	4,930	3,404
3	5,237	3,878	5,289	4,036
4	4,904	4,086	5,338	3,773
5	4,278	4,035	3,777	3,589
6	5,166	4,137	4,794	3,517
Média	4,746	4,255	4,853	3,664
Desvio padrão	0,44	0,36	0,57	0,22

$p = 0,0004$	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,6147	0,1389	0,0013
AM12	0,6147		0,0736	0,0022
AIN18	0,1389	0,0736		0,0437
AM18	0,0013	0,0022	0,0437	

Análise Estatística - SAS
Análises Séricas

Colesterol Total (mg/dL)
20 dias de consumo dietas

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	90,507	43,747	119,486	64,883
2	106,495	40,437	148,180	75,444
3	83,155	58,590	123,198	64,771
Média	93,386	47,591	130,288	68,366
Desvio padrão	11,93	9,67	15,61	6,13

<i>p = 0,0004</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0115	0,0622	0,0208
AM12	0,0115		0,0236	0,0078
AIN18	0,0622	0,0236		0,1300
AM18	0,0208	0,0078	0,1300	

Colesterol Total (mg/dL)
48 dias de consumo dietas

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	136,546	53,901	118,202	60,406
2	86,867	61,251	123,340	70,290
3	87,509	38,243	112,848	40,786
Média	103,641	51,132	118,130	57,161
Desvio padrão	28,50	11,75	5,25	15,02

<i>p = 0,0035</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0866	0,4777	0,1139
AM12	0,0866		0,0033	0,0087
AIN18	0,4777	0,0033		0,0858
AM18	0,1139	0,0087	0,0858	

Análise Estatística - SAS
Análises Séricas

LDL - Colesterol (mg/dL)
20 dias de consumo dietas

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	34,281	5,090	67,606	14,433
2	54,416	3,463	84,987	33,215
3	32,693	8,128	73,817	20,341
Média	40,463	5,560	75,470	22,663
Desvio padrão	12,11	2,37	8,81	9,60

<i>p = <0,0001</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0503	0,0081	0,0231
AM12	0,0503		0,0070	<0,0001
AIN18	0,0081	0,0070		0,1155
AM18	0,0231	<0,0001	0,1155	

LDL - Colesterol (mg/dL)
48 dias de consumo dietas

Animal	AIN12	AM12	AIN18	AM18
1	78,462	1,341	76,128	22,880
2	42,704	2,229	73,137	22,051
3	53,597	5,916	70,661	26,704
Média	58,254	3,162	73,309	23,878
Desvio padrão	18,33	2,43	2,74	2,48

<i>p = 0,0012</i>	AIN12	AM12	AIN18	AM18
AIN12		0,0390	0,2543	0,2307
AM12	0,0390		0,0017	<0,0001
AIN18	0,2543	0,0017		<0,0001
AM18	0,2307	<0,0001	<0,0001	