

ESTUDO COMPARATIVO DAS DIETAS À BASE DE SOJA E
DEFICIENTE EM ZINCO SOBRE O CRESCIMENTO, ALTERA-
ÇÕES HISTOLÓGICAS (GLÂNDULAS SALIVARES E TESTÍ-
CULOS) E HEMATOLÓGICAS EM RATOS

LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI

Tese apresentada à Faculdade de Odon-
tologia de Piracicaba, da UNICAMP, pa-
ra a obtenção do grau de Mestre em
Ciências - Área de Fisiologia e Biofí-
sica do Sistema Estomatognático.

*Este exemplar foi devidamente
corrigido conforme resolução
CCDG 1036/83*

Luciano S., 10/12/92

PIRACICABA

1.992

Manoel J. R.

ESTUDO COMPARATIVO DAS DIETAS À BASE DE SOJA E
DEFICIENTE EM ZINCO SOBRE O CRESCIMENTO, ALTERA-
ÇÕES HISTOLÓGICAS (GLÂNDULAS SALIVARES E TESTÍ-
CULOS) E HEMATOLÓGICAS EM RATOS

LUIZ CARLOS MARQUES VANDERLEI

Tese apresentada à Faculdade de Odon-
tologia de Piracicaba, da UNICAMP, pa-
ra a obtenção do grau de Mestre em
Ciências - Área de Fisiologia e Biofí-
sica do Sistema Estomatognático.

Orientadora :

Dra. Maria Cecília F. de A. Veiga

FIRACICABA

1.992

DEDICATÓRIA

A meus pais
que sempre deram-me
apoio e ensinaram-me
a superar obstáculos

A minha esposa Derci, minhas
filhas Talita e Franciele e,
para aquele que está por vir,
pela compreensão e apoio que
deram-me durante todo esse
tempo.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Dra. MARIA CECÍLIA FERRAZ DE ARRUDA
VEIGA, pelo exemplo de dedicação, per-
severança e amizade sem os quais não
seria possível a concretização desse
meu ideal.

AGRADECIMENTOS

À Dra. AVANY CORRÊA SANTOS, pelo auxílio, paciência e amizade que ofereceu-me durante todo esse período.

À técnica MARIA DE LOURDES FERIN STOKER pelo inestimável auxílio na execução das análises químicas, sem as quais não seria possível a realização desse trabalho.

Aos professores do Curso de Fisiologia e Biofísica do Sistema Estomatognático : Dr. ALCIDES GUIMARÃES, Dr. CARLOS EDUARDO PINHEIRO, Dr. DÉCIO TEIXEIRA, Dr. MOUSTAFA MOHAMED EL GUIDY e Dr. JOÃO LEONEL JOSÉ, pelos conhecimentos transmitidos e pela amizade sincera com que me brindaram.

Ao professor Dr. NORAIR SALVIANO DOS REIS e a professora EDNA MARIA DE SOUZA pelo auxílio nas interpretações histológicas.

À bibliotecária MARIA JOSÉ TRISÓGLIO pelo auxílio na elaboração das referências bibliográficas.

Ao Dr. UBIRAJARA IORIVAL DINIZ pela programação e orientação estatística.

A Sra. SHIRLEY ROSANA SBRAVATTI MORETO que sempre mostrou-se pronta para auxiliar-me quando necessário.

Ao técnico CARLOS ALBERTO APARECIDO FELICIANO pela colaboração e ajuda dispensada.

A CAPES pelo apoio financeiro oferecido durante a realização desse trabalho.

Ao Departamento de Fisioterapia pelos afastamentos concedidos.

Aos alunos do Curso de Fisiologia e Biofísica do Sistema Estomatognático, pela amizade e auxílio oferecidos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização desse trabalho.

CONTEÚDO

LISTA DE ABREVIATURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1. O valor Nutricional da Soja	5
2.2. Deficiência de Zinco	15
3. PROPOSIÇÃO	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1. FORMULAÇÕES DAS DIETAS	29
4.1.1. Dieta Controle Padrão (DIETA A)	29
4.1.2. Dieta Deficiente em Zinco (DIETA B)	30
4.1.3. Dieta de Soja sem Complementação (DIETA C)	31
4.1.4. Dieta de Soja com Complementação (DIETA D)	32
4.1.5. Mistura Salina	32
4.1.6. Mistura Vitamínica	34
4.2. COLETA DO MATERIAL PARA ANÁLISE	35
4.3. ANÁLISES HEMATOLÓGICAS	36
4.4. ANÁLISES QUÍMICAS	36

4.4.1. Umidade	36
4.4.2. Proteína	37
4.4.3. Extrato Etéreo	37
4.4.4. Cinza	37
4.4.5. Fibra Bruta	37
4.4.6. Análise de Minerais	38
4.4.7. Análise do Ácido Fítico	38
4.5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO	38
5. RESULTADOS	40
5.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SOJA	40
5.2. ANÁLISE DE CRESCIMENTO	43
5.2.1. Peso Inicial dos Animais	43
5.2.2. Peso Final dos Animais	44
5.2.3. Curva de Crescimento	46
5.2.4. Consumo Diário de Ração	49
5.2.5. Coeficiente de Eficiência Alimentar	51
5.2.6. Razão de Eficiência Protéica	53
5.3. ANÁLISE HEMATOLÓGICA	55
5.3.1. Eritrometria	55
5.3.2. Hematócrito	57
5.3.3. Hemoglobina	60
5.3.4. Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média	62
5.4. ANÁLISE TESTICULAR	65
5.4.1. Medida Testicular	65

5.4.2. Peso Testicular	67
5.4.3. Análise Histológica	69
5.5. ANÁLISE DAS GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES	77
5.5.1. Peso das Glândulas Submandibulares	77
5.5.2. Análise Histológica	79
5.6. ANÁLISE DE ZINCO NO FÊMUR	84
6. DISCUSSÃO	86
6.1. Composição Química da Soja	86
6.2. Análise de Crescimento	89
6.3. Análise Hematológica	92
6.4. Análise Testicular	94
6.5. Análise das Glândulas Submandibulares	98
6.6. Análise de Zinco no Fêmur	99
7. CONCLUSÕES	105
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
9. APÊNDICE	

LISTA DE ABREVIATURAS

AOAC - Association of Official Analytical Chemists.

CEA - Coeficiente de Eficiência Alimentar.

CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

EDTA - Ácido Etilenodiaminotetraacético.

FAO - Organização de Agricultura e Alimentação.

GnRH - Hormônio Liberador dos Gonadotróficos.

HCG - Gonadotrofina Coriônica Humana.

NAS - National Academy Sciences.

NRC - National Research Council.

ONU - Organização das Nações Unidas.

PER - Razão de Eficiência Protéica.

RESUMO

A soja é uma leguminosa de alto valor nutritivo e baixo custo cujo consumo, em função das suas qualidades nutricionais, vêm aumentando nos dias atuais. Entretanto constitui preocupação o fato de que a biodisponibilidade dos oligoelementos possa estar alterada nas dietas à base de soja. Portanto é possível que a participação da soja na alimentação humana e as modificações introduzidas pelos métodos de processamento possam induzir um consumo de zinco submarginal, produzindo como consequência a deficiência desse mineral.

O presente trabalho teve como objetivo comparar os efeitos de dietas à base de farinha de soja sem complementação e complementada com mistura mineral e vitamínica, com dieta padrão e dieta deficiente em zinco, em ratos, procurando determinar o crescimento, hematologia, nível de zinco no fêmur e alterações histológicas nos testículos e glândulas submandibulares desses animais.

Para tanto, foram utilizados 24 ratos recém desmamados que foram distribuídos em quatro grupos e submetidos às dietas A (controle padrão), B (deficiente em zinco), C (farinha de soja sem complementação) e D (farinha de soja complementada com mistura mineral e vitamínica) por um período de 69 dias durante o qual foi estudado o crescimento desses animais. Após esse período os animais foram sacrificados e o material necessário coletado. A análise hematológica foi realizada através do contador de células

NOVA CELLTRACK II, a análise de zinco no fêmur foi feita através de um espectrômetro de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente e, as análises histológicas dos testículos e glândulas submandibulares foram feitas através da técnica de rotina sendo as lâminas coradas com HE e tricrômio de Mallory.

Os resultados mostraram que os animais deficientes em zinco apresentaram drástica redução de crescimento, alterações hematológicas, caracterizada por aumento da concentração de hemoglobina e, alterações histológicas das glândulas submandibulares e dos testículos. Os animais alimentados com a farinha de soja complementada apresentaram uma redução na biodisponibilidade de zinco que não alterou o crescimento, o desenvolvimento testicular nem o quadro hematológico desses animais contudo, estes apresentaram uma hipertrofia das glândulas submandibulares que parece não estar relacionado à diminuição da biodisponibilidade deste mineral. Por outro lado, os animais alimentados com a farinha de soja sem complementação desenvolveram um quadro de deficiências envolvendo alterações no crescimento, no hematócrito, na concentração de hemoglobina e na histologia tanto de testículos quanto de glândulas submandibulares.

Os resultados sugerem, a princípio, que a soja em função de suas qualidades nutricionais, principalmente seu elevado teor protéico, deve ser utilizada como um complemento alimentar e não como fonte única de alimento, mesmo quando complementada com mistura mineral e vitamínica.

ABSTRACT

Soybean is a high nutrition contents and low-cost vegetable wich consumption, in function of its nutrition features, has been increasing nowadays. Though, it is a matter of preoccupation the fact that the bioavailability of the oligoelements might be altered in the diets with soybean as base. Thus, it is possible that que participation of soybean in human nutrition and the modifications introduced by the methods of processing might induce a submarginal consumption of zinc, producing as result the deficiency of this mineral.

The present paper had as main goal to compare the effects of soybean flour-based diets without complementation and complemented with a mineral and vitaminic blend, with a standard diet and a diet deficient in zinc, in rats, in order to determine the growth, hematology, level of zinc in femur and histologic changes in testicles and submandibular glands in these animals.

Therefore, 24 just weaned rats were used and distributed in four groups and submitted to the diets: A (standard control), B (deficient in zinc), C (soybean flour without complementation) and D (soybean flour complemented with a mineral and vitaminic blend) for a period of 69 days, as the growth of these animals was studied. After this period, the rats were sacrificed and the necessary material collected. The hematologic analisys was carried out through the cell counter

NOVA CELLTRACK 11, the analysis in the femur was done through an atomic emission spectrometer with plasma inductively coupled and the testicles and submandibular glands histologic analysis were carried out through a standard technique and the plates were coloured with HE and trichrome of Mallory.

The results show that the animals with deficiency in zinc had a high decrease in growth, hematologic changes characterized by increase in hemoglobine concentration, and histologic changes in submandibular glands and testicles. The animals fed with a complemented soybean flour showed a decrease in the bioavailability of zinc which didn't change the growth rate, the testicle development or the hematology of these animals. Nevertheless, these animals showed a hypertrophy of the submandibular glands which doesn't seem to be related to decrease of the bioavailability of this mineral. On other hand, the animals fed with a soybean flour without complementation developed several deficiencies involving changes in growth, in hematocrit, in concentration of hemoglobine and in histology either in testicles and submandibular glands.

The results suggest that the soybean, in function of its nutritional qualities, mainly its high protein contents, should be used as a food complement and not as a sole food source, even when complemented with mineral and vitaminic blend.

1 - INTRODUÇÃO

A soja é uma leguminosa de alto valor nutritivo e baixo custo. Segundo LAM-SÁNCHEZ (1978) e MARCOS FILHO et al. (1982) a soja é conhecida do homem por mais de 5.000 anos e originou-se no continente asiático, mais precisamente na região correspondente à China Antiga.

MARCOS FILHO et al. (1982) relataram que a mais antiga referência à soja consta da obra "Matéria Médica" de autoria do imperador SHEN NUNO escrita em 2.838 A.C., a qual relacionava as plantas mais importantes para os chineses onde incluía os cinco grãos sagrados (soja, arroz, trigo, cevada e milho), que eram essenciais à estabilidade da civilização chinesa. A soja até o século XVII permaneceu com a sua comercialização restrita aos países orientais, entre os quais destacava-se a China, Manchúria e Japão.

Segundo LAM-SÁNCHEZ (1978) a soja foi trazida para a América somente ao redor do século XIX sendo utilizada para produção de forragem.

ANDONYMUS (1981) e MARCOS FILHO et al. (1982) relataram que no Brasil, a soja foi introduzida em 1882, na Bahia, por Gustavo D'Utra e daí expandiu-se para outros estados do país como São Paulo, Rio Grande do Sul e Paraná.

ANDONYMUS (1981) relata que a soja no Brasil começou a ser cultivada em escala comercial a partir de 1940, sendo a mesma utilizada principalmente para a obtenção do óleo de soja.

Segundo ABDU (1980) a soja é uma leguminosa pertencente ao gênero *Glycine* sp, que possui aproximadamente 2.000 espécies. A posição taxonômica atual desta leguminosa pode ser vista no Quadro 1.

Quadro 1: Posição taxonômica da soja

Divisão	: Spermatophyta
Subdivisão	: Angiospermae
Classe	: Dicotyledoneae
Ordem	: Rosales
Família	: Leguminosae
Sub-família	: Papilionoideae (Faboideae)
Tribo	: Phaseolae
Gênero	: <i>Glycine</i>
Sub-gênero	: Soja
Espécie	: <i>Glycine max</i> (L.) Merrill

Fonte: MARCOS FILHO et al. (1982)

A soja pode ser utilizada na alimentação humana sob várias formas. Segundo ANDYNYUS (1981) em um processo de extração direta, ela fornece a farinha, o óleo, o farelo, o leite, a proteína texturizada e um tipo de café. Através da farinha podemos obter produtos panificáveis e pastificáveis como por exemplo pães, bolos, docinhos, tortas, pastéis, biscoitos e macarrões. Com o leite produz-se o queijo, a ricota, a manteiga, a maionese,

o iogurte e a nata. A proteína texturizada fornece a carne, a salsicha e o hambúrguer. A soja pode ser consumida ainda na forma de grão de soja descascado e torrado.

ANDONYMUS (1980) relata que o farelo de soja, além dos produtos utilizados na alimentação humana, produz ainda componentes para adesivos, laminados especiais, tiras de amianto e estruturas de tintas. No processo de refinação do óleo de soja sobra uma borra que pode ser utilizada para a produção de sabão.

Os principais produtos protéicos, derivados da soja, e suas aplicações são mostrados no Quadro 2.

Quadro 2: Produtos protéicos de soja e suas aplicações em alimentos

Produto	Aplicação
1. Farinha de Soja Desengordurada	Enriquecimento do pão (12%), biscoitos (10 a 15%), macarrão (10 a 20%), farinha de mandioca, farinha de milho, flocos de banana com soja, produtos desidratados para alimentação infantil, salsicha, misturas para sopas.
2. Farinha de Soja Integral	Semelhante às aplicações da desengordurada, a principal diferença é o menor teor de proteína e o maior teor de óleo.
3. Concentrado e Isolado Protéico	Aplicações semelhantes à farinha, possuem teor mais elevado de proteína, praticamente desprovidos de sabor e aroma próprio.
4. Proteína Texturizada de Soja	Para produtos cárneos e outros, onde a consistência e estrutura são importantes para aceitação do produto.
5. Leite de Soja	Consumo com ou sem aromatizante.
6. Soja Frita ou Torrada	Consumo semelhante ao amendoim torrado.
7. Soja preparada como feijão	Como feijão cozido ou feijoada.
8. Molho de Soja ("Shoyu")	Produto largamente empregado no oriente como condimento e molho.
9. Queijo Chinês ("Sufu")	Usado comumente entre os orientais.
10. Tempeh	Produto originário da Indonésia.

Fonte: COSTA et al. (1976).

2 - REVISTA DA LITERATURA

2.1 - O Valor Nutricional da Soja

O valor nutricional da soja é muito grande. Segundo AIDER (1963) a soja apresenta uma composição média de 40% de proteína, 16% de óleo, 4,6% de cinzas e 7,1% de açúcares.

KAWAMURA (1967) encontrou em suas análises químicas um total de 42% de proteína, 20% de matéria graxa, 35% de carboidrato total, 5,5% de fibra bruta e 5,0% de cinzas.

TRAVAGLINI et al. (1981) estudando o extrato de soja em pó, encontraram a seguinte composição química: 47,6% de proteína, 27,6% de matéria graxa, 6,6% de cinzas, 0,8% de fibra, 14,4% de carboidratos e 3,0% de umidade. As suas análises demonstraram que a soja é uma excelente fonte de sais minerais e de vitaminas (exceto vitaminas C, D e B₁₂) sendo a mesma deficiente em aminoácidos sulfurados (metionina e cistina).

Segundo CARRÃO-PANIZZZI (1987) a semente da soja apresenta em média, na sua composição, 40% de proteína, 20% de matéria graxa, 5,4% de cinzas, 2,3% de fibra e 32,3% de carboidratos. Em relação à composição dos aminoácidos essenciais, a proteína da soja apresenta um balanceamento bem próximo ao fixado pela Organização de Agricultura e Alimentação (FAO), órgão que está vinculado à ONU, embora sejam baixos os teores dos aminoácidos sulfurados, metionina e cistina, que são em média em torno de 1,3 g/16g N enquanto que, a FAO estabelece como padrão ideal um teor de metionina de 2,2 g/16g N e um teor de cistina de 4,2 g/16g N.

Como podemos observar sua composição química é muito variável e, segundo ADDER (1963) isso depende da variedade, estado e maturação da soja, condições de cultura e de clima, solo, adubação e muitos outros fatores.

A variação nos percentuais dos componentes químicos da soja pode ser melhor observada através do relato de TURATTI et al. (1979), que analisaram 25 espécies de soja produzidas no Brasil e encontraram valores entre 33 a 43,8% para proteínas e de 19,82 a 25,51% para matéria graxa.

Apesar de possuir um alto valor nutritivo, a soja possui determinadas substâncias, denominadas de fatores antinutricionais, que interferem na utilização de suas proteínas pelo organismo, entre as quais podemos citar os inibidores de enzimas digestivas, as fitohemaglutininas, os agentes bocígenos e o fitato.

LIENER (1977) relata que apesar da soja possuir esses fatores antinutricionais, apenas os inibidores das proteases produzem efeitos adversos significativos em animais.

Segundo RACKIS (1974) a farinha de soja crua (normal e desengordurada) inibe o crescimento, diminui o metabolismo energético e a absorção de gorduras, reduz a digestibilidade protéica, causa hipertrofia pancreática, estimula hiper e hiposecreção de enzimas pancreáticas e reduz a disponibilidade de aminoácidos, vitaminas e minerais. O autor relata ainda que quase todos esses efeitos estão interrelacionados e representam mais uma inabilidade dos animais em utilizar inteiramente os nutrientes essenciais do que uma resposta às substâncias tóxicas.

Esses fatores antinutricionais que estão presentes na soja crua podem ser reduzidos ou eliminados, melhorando dessa forma o seu valor nutritivo.

Segundo RACKIS (1974) a eliminação desses fatores antinutricionais pode ser obtida por aquecimento, estando a melhoria do valor nutritivo da soja, na dependência da temperatura e duração deste aquecimento bem como das condições de umidade sendo que, um máximo coeficiente de eficiência protéica (PER) foi alcançado quando 79% dos inibidores da tripsina foram destruídos, o que ocorreu com 10 a 15 minutos de fervura.

ANTUNES, SGARBIERI (1980) estudando os efeitos do processamento sobre o valor nutricional da soja concluíram que foram necessários 25, 15 e 7,5 minutos em água fervendo para destruição total do inibidor da tripsina em soja não macerada, soja macerada por 12 horas e soja descascada e macerada por 12 horas.

DEL VALLE (1961) relata que a qualidade protéica da soja inicialmente aumenta durante o tratamento térmico, devido à inativação dos fatores antinutricionais, até atingir um máximo, para depois diminuir gradativamente, devido à destruição e/ou inativação de aminoácidos essenciais como por exemplo a cistina e a lisina.

ERDMAN Jr., FORBES (1981) relataram que para consumo humano ou animal a soja deve receber um tratamento térmico adequado, que reduz a presença de substâncias antinutricionais, otimiza a digestibilidade da proteína e melhora a palatabilidade. Entretanto, durante o processamento da soja a biodisponibilidade dos minerais, principalmente do zinco, pode ser reduzida

pela formação do complexo proteína-ácido fítico-mineral que ocorre principalmente em pH de 7 a 8.

LIENER (1981) concluiu em sua revisão que a qualidade nutricional dos produtos de soja não é determinada somente pela quantidade e disponibilidade dos aminoácidos que compõem a sua proteína, mas também é marcadamente afetada pelas condições de processamento que são empregados em sua manufatura.

Como podemos observar a soja quando bem processada, é uma leguminosa de alto valor nutritivo e muitos autores como RACKIS (1974), OLIVEIRA (1976), LAM-SÁNCHEZ (1978) e CARRÃO-PANIZZII (1987) acreditam que ela possa solucionar os problemas de nutrição existentes no mundo.

OLIVEIRA, SANTOS (1981) mostraram que sob estresse nutricional, como ocorre na má nutrição infantil, a soja e seus derivados constituem importantes auxiliares para a sua recuperação. Os autores chegaram a essa conclusão comparando os resultados obtidos através de estudos clínicos, mudança de peso, dados bioquímicos e estudos de balanço nitrogenado de quatro crianças subnutridas, que foram alimentadas com leite de soja, com um grupo similar de crianças que foram alimentadas com leite de vaca. Outros produtos derivados da soja foram também testados pelos autores com resultados similares.

Segundo TORUM, VITERI, YOUNG (1981) e COOK, MORCK, LYNCH (1961), os produtos desengordurados derivados da soja têm o potencial de aumentar as concentrações protéicas e calóricas, importantes para as crianças nos países em desenvolvimento, bem como para as pessoas idosas.

CEDRAZ, LOCKWOOD (1983) estudando o uso de soja em pó (30% de proteína) como um suplemento na alimentação infantil, em crianças de 02 a 24 meses que tiveram o leite materno suspenso, observaram que estas apresentaram um bom estado nutricional.

ERDMAN Jr., FORDYCE (1989) relataram que a contribuição da proteína da soja para a nutrição humana tem sido aumentada em função do perfil nutricional positivo de suas proteínas, o seu baixo custo, alta disponibilidade, excelentes propriedades nutricionais nos sistemas alimentares e contínua inovação no desenvolvimento dos seus produtos.

Além de seu valor nutricional, a soja tem sido utilizada também como auxiliar em processos terapêuticos. CARRÃO-PANIZZII (1987) relata que a soja é recomendada para os casos de hipertensão, por possuir um baixo teor de sódio e um alto teor de sais de potássio que facilita a perda de água e favorece o emagrecimento. As suas fibras facilitam o trabalho digestivo prevenindo a prisão de ventre, enquanto que o seu elevado teor protéico auxilia na terapia dos processos infecciosos.

Outra importante função terapêutica da soja parece estar relacionada à diminuição do colesterol e triglicérides. CARROLL et al. (1978) encontraram uma redução significativa no nível sérico de colesterol em mulheres submetidas à alimentação a base de proteína de soja.

WOLFE et al. (1981) comparando um grupo de indivíduos portadores de hipercolesterolemia alimentados com proteína animal, produtos de leite e vegetais, cuja dieta apresentava baixo nível de colesterol, com outro onde a proteína animal e do leite

foram substituídas pelas proteínas da carne de soja e leite de soja; observaram que tanto o nível de colesterol quanto o de triglicérides séricos foram significativamente menores nas dietas cuja fonte protéica proveio da soja.

Outros autores como SHOREY et al. (1981) e GRUNDY, ABRAMS (1983) não obtiveram efeitos hipocolesterolêmicos com a proteína de soja.

No Brasil a aceitação da soja como fonte de alimentação tem sido problemática. CARRÃO-PANIZZI (1987) relata que contribuem para isso o sabor desagradável da leguminosa, sua excessiva identificação com receitas exóticas e a crença popular de que ela faz mal à saúde, causando raquitismo ou provocando má digestão.

Entretanto, apesar da qualidade nutricional da soja, é de certa forma preocupante o fato de que a biodisponibilidade dos oligoelementos possa estar alterada nas dietas à base de soja, principalmente o zinco, o ferro e o cobre.

A soja contém quantidades apreciáveis de zinco, porém a biodisponibilidade desse elemento é baixa e, segundo ORERLEAS, PRASAD (1969), o fitato (hexa fosfato de mioinositol) associado com proteínas vegetais, é um dos principais fatores responsáveis pela baixa biodisponibilidade de zinco nas leguminosas.

O'DELL, SAVAGE (1960) encontraram em suas experiências uma menor disponibilidade de zinco no isolado protéico de soja, quando comparado a caseína. Os autores ao produzirem o complexo caseína-ácido fítico com a mesma quantidade de ácido fítico encontrada no isolado protéico de soja, observaram que o zinco tornou-se menos disponível do que na caseína sem o ácido fítico. Is-

so mostra claramente que o ácido fítico é um dos elementos que reduz a biodisponibilidade de zinco.

HADDAIAH, KURNICK, REID (1964) estudando a tendência dos metais em formar complexos com o ácido fítico, observaram que na taxa de pH fisiológico o zinco é o metal que forma o complexo mais estável com o ácido fítico. Os autores continuando os seus estudos, adicionaram fitato de sódio (0,25%) à dieta de pintinhos com baixos níveis de zinco (10 ppm) e verificaram uma diminuição na taxa de crescimento, a qual foi atribuída a ligação do ácido fítico com o zinco, tornando-o menos disponível para o crescimento.

O'DELL, BURPO, SAVAGE (1972) estudando a resposta de crescimento de pintinhos e ratos, avaliou a disponibilidade biológica de zinco em cereais selecionados e produtos animais. Utilizando-se de fontes protéicas provenientes da soja e caseína-gelatina, os autores observaram que, em geral, o zinco é menos disponível nos produtos vegetais do que nos produtos animais, e que os ratos utilizaram menos zinco das sementes do que os pintinhos.

A presença de cálcio em dietas que contém ácido fítico possui a capacidade de reduzir ainda mais a biodisponibilidade desse mineral, como foi observado por FORBES (1964) que verificou uma diminuição da absorção de zinco em dietas à base de proteína da soja com o aumento do nível de cálcio enquanto que, a absorção foi normal quando albumina era utilizada como fonte protéica.

LIKUSKI, FORBES (1965) utilizando crescimento e balanço mineral em ratos, estudaram os efeitos de dietas de cálcio e ácido fítico sobre a utilização do zinco e concluíram que, o aumento

do cálcio em dietas sem ácido fítico não diminuiu a quantidade de zinco absorvido da dieta, porém quando o nível de cálcio foi aumentado de 0.4 para 1.2% em dietas que continham ácido fítico a quantidade de zinco absorvido diminuiu.

BYRD, MATRONE (1965) e OBERLEAS, MUHRER, O'DELL (1966) relataram em seus trabalhos que o cálcio, zinco e o fitato interagem para formar um complexo insolúvel o qual reduz a absorção do zinco em maior grau do que o fitato somente.

ANONYMUS (1979) revisando trabalhos realizados observou que o cálcio aumenta o efeito do fitato sobre a biodisponibilidade do zinco e, relata que o processamento industrial da proteína da soja tem pouco efeito sobre os níveis de zinco e de fitato.

O'DELL (1979) relata que a biodisponibilidade do zinco depende da presença de agentes quelantes e da concentração de cálcio na dieta porém, é importante considerar as razões molares fitato/zinco e cálcio/fitato para avaliar sua biodisponibilidade.

DAVIES, OLPIN (1979) observaram em ratos, que variando-se a razão molar fitato/zinco da dieta de 0:1 a 40:1, a mesma poderia ser utilizada como um indicador da biodisponibilidade de zinco de dietas ricas em fitato sendo que, uma significativa redução do crescimento, da concentração de zinco plasmático e queda de pêlos nesses animais, ocorreram quando as razões foram de 15:1, 10:1 e 15:1 respectivamente.

MORRIS, ELLIS (1980b) estudaram em ratos a biodisponibilidade de zinco em diferentes razões molares de fitato/zinco e observaram que em dietas contendo 10 a 12 ppm de zinco, o crescimento não foi afetado quando a razão molar fitato/zinco era 12 se

o nível de cálcio na dieta fosse de 0,75%, quando o nível de cálcio foi aumentado para 1,75% a razão molar fitato/zinco para a manutenção do crescimento foi de 6.

KUMAR, KAPOOR (1983) analisando 32 amostras de cereais e legumes, observaram que a quantidade de ácido fítico dos cereais variava de 0,50 a 1,13 g/100 g e dos legumes de 0,34 a 1,11 g/100 g com uma razão molar fitato/zinco variando nos cereais de 24,0 a 38,6 e nos legumes de 11,4 a 27,7. Os autores reforçaram a idéia de que a razão molar fitato/zinco é importante do ponto de vista nutricional, e pode ser utilizada seguramente como um indicador para prever a biodisponibilidade do zinco em dietas sem realizar a bioanálise.

A melhoria da biodisponibilidade dos minerais da soja pode ser obtida pela redução da quantidade de ácido fítico da mesma, que pode ser feito através de vários métodos.

REINHOLD (1971), ERDMAN Jr. (1979) e MORRIS, ELLIS (1980a) relataram que o ácido fítico pode ser removido através da ação da enzima fitase, aumentando a biodisponibilidade dos minerais da soja.

ELLIS, MORRIS (1981) produziram uma redução do fitato da soja através da utilização da enzima fitase, e observaram que a razão molar fitato/zinco reduziu de 33 para 13 e que essa soja melhorou a biodisponibilidade de zinco em ratos.

REDDY, SATHE, SALUNKHE (1982) realizando um trabalho de revisão sobre o ácido fítico concluíram que muitos métodos de processamento, tais como encharcamento, cozimento, germinação, fermentação, autoclave, preparação de conserva, trituração e

filtração por membrana podem reduzir ou eliminar quantidades apreciáveis de ácido fítico dos cereais e legumes. Os autores observaram ainda que o ácido fítico serve como o principal reservatório de fósforo em sementes maduras e grãos, e que em cereais e legumes o conteúdo do ácido fítico varia de 0,14 a 2,05%.

Por outro lado, apesar de todas as evidências, alguns trabalhos não encontraram redução da biodisponibilidade de minerais como consequência do fitato ou de dietas à base de soja.

YOUNG, JANGHORBANI (1981) alimentando homens jovens com dietas contendo isolado protéico de soja (SUFRU-620) observaram que a biodisponibilidade de zinco não foi afetada e que a disponibilidade de ferro dessas dietas era alta.

GRAF, EATON (1984) estudando "in vitro" os efeitos da interação química entre fitato e Fe^{3+} , Zn^{2+} e Ca^{2+} , concluíram que os cátions di e trivalentes estudados formam complexos solúveis com fitato em razão alta de fitato/metálo, independente do pH e, que o ácido fítico não tem efeito substancial sobre a absorção de Ca^{2+} e Fe^{3+} . Segundo os autores esses resultados podem sugerir reavaliação dos supostos efeitos adversos das dietas contendo fitato sobre a biodisponibilidade dos complexos metalofitatos.

CHURELLA, VIVIAN (1989) utilizando isolado protéico de soja com fitato e isolado protéico de soja com 86% do fitato removido, com concentrações variáveis de cálcio e fósforo, observaram que, os ratos alimentados com as dietas contendo fitato não tiveram a biodisponibilidade de minerais afetada quando comparados com os animais alimentados com as dietas onde o fitato estava

reduzido, com concentrações de cálcio e fósforo similares.

Como podemos observar apesar de alguns trabalhos controversos, a presença do ácido fítico parece diminuir a biodisponibilidade do zinco, portanto é possível que a presença de soja, que contém altas quantidades de ácido fítico, na alimentação humana e as modificações introduzidas pelos métodos de processamento possam tornar o consumo do zinco submarginal, produzindo como consequência a deficiência do mesmo.

2.2 - Deficiência de Zinco

O zinco é um dos principais minerais existentes na crosta terrestre, embora a sua distribuição e concentração não sejam homogêneas. Como elemento inorgânico, o zinco não é destruído, permanecendo em um ciclo na natureza ou seja: solo - planta - animais - solo ou oceano.

O zinco possui uma importância fundamental para a nutrição humana, pelas suas mais variadas funções no organismo.

WADA, KING (1983) relataram que um dos principais papéis biológicos do zinco, é a sua participação como componente de várias metaloenzimas e como um cofator para regulação da atividade de enzimas zinco-dependentes. Os autores relataram ainda que o zinco está envolvido com o metabolismo dos ácidos nucleicos e com a síntese protéica pois, é um dos constituintes da DNA polimerase e da RNA polimerase e participa na regulação da ação das enzimas timidinaquinase e ribonuclease.

Segundo HANBIDGE, CASEY, KREBS (1987) as primeiras in-

dicações da função do zinco em animais superiores vieram através dos trabalhos de BIRCKNER em 1919, porém somente após o trabalho publicado por TODD et al. em 1934, que mostrou o desenvolvimento da ração animal carente em zinco, é que iniciaram-se os estudos sobre os efeitos da deficiência desse mineral no crescimento e desenvolvimento de ratos.

FORIES et al. (1967) relataram que o zinco é importante no processo de cicatrização pois, após administrarem sulfato de zinco a jovens aviadores que possuíam ferimentos observaram que estes cicatrizavam mais rapidamente do que no grupo controle.

LUECKE, OLMAN, BALTZER (1968) estudando ratos deficientes em zinco, observaram que os mesmos apresentavam severo retardo de crescimento, alopecia, lesões paraqueratósicas na língua e no esôfago e inibição da espermatogênese.

SWENERTON, HURLEY (1968) produziram deficiência severa de zinco, em ratos, através de uma dieta purificada com proteína a base de soja tratada com EDTA, e observaram que os animais apresentavam extremo retardo de crescimento, pêlos imperfeitos ou alopecia, lesões nos cantos da boca e pés escamosos. Com a progressão da deficiência esses sintomas tornavam-se mais severos, e no auge da deficiência os animais estavam extremamente fracos e possuem lesões dermais e edema ao redor dos olhos, boca e pés e uma postura anormal semelhante à de um canguru. O exame histológico do epitélio esofageal mostrou hiperplasia e hiperqueratinização e os testículos mostraram atrofia e interrupção da espermatogênese. Os autores verificaram ainda que não ocorreram diferenças nas atividades das enzimas hepáticas, fosfoquinase piridoxal,

desidrogenase glutâmica e desidrogenase láctica quando esses animais foram comparados aos seus controles. Essas alterações foram revertidas com a suplementação de zinco.

OSERLEAS, PRASAD (1969) relataram que a redução de crescimento foi a primeira manifestação encontrada na deficiência de zinco.

HALSTED, SMITH Jr., IRWIN (1974) em trabalho de revisão, relatam que os sinais e sintomas da deficiência de zinco nos animais incluem: dermatite, emagrecimento, alopecia, lesão ocular, atrofia testicular, retardo do crescimento, anorexia e malformação congênita enquanto que no homem os aspectos clínicos da deficiência incluem severa anemia ferropriva, hepato-esplenomegalia, baixa estatura, hipogonadismo, epífises abertas, história frequente de geofagia e pele grossa com hiperpigmentação.

PRASAD (1983 e 1991) relata em seus trabalhos que a deficiência nutricional do zinco tem se tornado óbvia no mundo todo e que esta pode estar relacionada a uma série de fatores, como o aumento do consumo de proteínas vegetais, malabsorção, doenças renais crônicas, idade avançada, gravidez, lactação e alcoolismo.

A deficiência de zinco em seres humanos começou a ser evidenciada a partir do relato de PRASAD, HALSTED, NADIMI (1961) que estudando um grupo de 11 homens adultos iranianos observaram um quadro clínico que incluía severa anemia ferropriva, hepato-esplenomegalia, baixa estatura, geofagia, hipogonadismo e alterações na fosfatase alcalina. Suas dietas consistiam quase exclusivamente de pão feito de farinha de trigo sendo que o con-

sumo de proteínas de origem animal era quase inexistente.

Segundo esses autores, o hipogonadismo, a baixa estatura e as alterações na fosfatase alcalina provavelmente ocorriam devido à deficiência de zinco.

FRASAD et al. (1963) encontraram no Egito pacientes com sinais similares aos observados nas vilas iranianas, e cujas dietas consistiam principalmente de pão e leguminosa sendo o consumo de proteína animal baixo. Os autores observaram que esses pacientes apresentavam deficiência de zinco.

SANDSTEAD (1973) observando trabalhos com a população norte americana, verificou a ocorrência de três sinais que indicam a presença de deficiência de zinco (redução de crescimento, hipogeusia e diminuição do processo de cicatrização), o que sugere que uma grande parte da população dos Estados Unidos pode ter um consumo marginal de zinco entre elas crianças, mulheres grávidas e pessoas pertencentes a famílias de baixa renda.

HAMBIDGE et al. (1976) avaliaram o estado nutricional do zinco em 74 crianças pré-escolares de baixa renda, que possuíam um baixo percentual de crescimento e que estavam envolvidas no programa Denver Head Start. Os autores observaram que nessas crianças a concentração média de zinco no cabelo e no plasma, era menor do que a concentração apresentada por outras crianças de idade similar mas com renda familiar média.

No Brasil algumas pesquisas avaliando o estado nutricional da população também foram realizadas. SHRIMPTON et al. (1983) estudando trabalhadores de baixa renda, na cidade de Manaus, observaram que estes ingeriam apenas 54,7% das recomenda-

ções americanas diárias de zinco. Segundo os autores, a ingestão de zinco foi mais alta nos trabalhadores nascidos em Manaus, que possuíam um melhor nível de escolaridade e uma renda familiar mais alta.

DONANGELO, AZEVEDO (1984) avaliando o teor de zinco no soro de 103 crianças brasileiras de 3 meses a 6 anos de idade, pertencentes a famílias de baixa renda, observaram uma significativa diminuição do zinco sérico proporcional ao grau de desnutrição.

Dentre as alterações provocadas pela deficiência de zinco no organismo, as mais importantes se referem aos distúrbios produzidos no sistema reprodutor.

FOLLIS, DAY, MCCOLLUM (1941) estudando os aspectos histopatológicos da deficiência de zinco em ratos, foram os primeiros a observarem a ocorrência de atrofia dos túbulos seminíferos.

HACAPINLAC, PEARSON, DARBY (1966) observaram que os testículos de ratos zinco-deficientes eram menores, quando comparados aos dos animais normais e, histologicamente, esses testículos apresentavam atrofia dos túbulos seminíferos, diminuição do número de células do epitélio germinal, presença de células gigantes no lúmen e uma significativa redução no número de espermatozoides. Os mesmos autores estudando os aspectos hematológicos desses animais, observaram elevação nos valores do hematócrito ao final do experimento que foi acompanhado por aumento na quantidade de células vermelhas e na concentração de hemoglobina, leucopenia e uma diferença na porcentagem de linfócitos e células polimorfonucleares em relação aos animais do grupo controle. Foi

observado ainda uma redução no número absoluto dos linfócitos circulantes, com elevação levemente ocasional no número de células polimorfonucleares.

HACAPINLAC et al. (1968) relataram mudanças histológicas nos testículos de ratos zinco-deficientes que incluíam, túbulos seminíferos atrofiados com espermatócitos e espermátides precoces e células epiteliais germinativas imaturas.

BARNEY, ORGEBIN-CRIST, HACAPINLAC (1968) estudando ratos zinco-deficientes (0,5 ppm), observaram um decréscimo no número de espermátides com muitos túbulos seminíferos imaturos em comparação com os ratos controles. Segundo os autores, nos ratos zinco-deficientes a transformação de espermátides em espermatozóides estava inibida, e parecia estar relacionada à uma mudança histológica precoce nas fases da espermatogênese.

DIAMOND, SWENERTON, HURLEY (1971) estudando o desenvolvimento e a reversibilidade das lesões testiculares e esofágicas em ratos zinco-deficientes, observaram que após 7 dias da retirada de zinco tanto os testículos quanto o esôfago mostraram lesões características da deficiência de zinco. Os testículos apresentavam túbulos seminíferos com calibres reduzidos e um pequeno número de células germinativas maduras com aumento no tamanho do lúmen, e o esôfago apresentava hiperplasia epitelial, hiperqueratose e paraqueratose.

Os autores observaram ainda que a reposição de zinco resultou em reversão parcial da lesão após seis dias e desaparecimento total desta após quinze dias de tratamento, e concluíram que a mucosa esofágica e os túbulos testiculares parecem ser al-

tamente sensíveis ao conteúdo de zinco das dietas, iniciando a resposta à sua deficiência ou a sua correção dentro de uma semana. Segundo os autores o peso absoluto dos testículos foi expressivamente menor nos ratos zinco-deficientes quando comparado com o seu controle, ao final do 21º dia de experimento.

ABEÁSI et al. (1980) estudando a restrição do consumo de zinco sobre a função testicular em cinco homens voluntários, com idade média de 57 anos, observaram o aparecimento de oligospermia em quatro dos cinco homens que coincidiu com o declínio da função das células de Leydig e que foi revertida após a suplementação de zinco em doses fisiológicas. Os autores relataram ainda que o tamanho testicular e o nível sérico de testosterona durante o experimento foram considerados normais.

BROOK et al. (1980) estudaram os efeitos da terapia por zinco sobre a função sexual e o estado endócrino de homens portadores de insuficiência renal crônica, que estavam sob diálise. Utilizando cloridrato de zinco durante a diálise, aumentaram em 17% o nível sérico de zinco e, observaram que essa administração não teve efeito significativo sob qualquer aspecto da função sexual e que o nível de testosterona e o nível de estimulação dos gonadotrópicos também permaneceram inalterados.

CASTRO-MAGANA et al. (1981) estudando garotos com retardo constitucional no crescimento e estatura familiar baixa, observaram uma interrelação linear entre o zinco e o nível de testosterona circulante. Os autores verificaram que a administração de metiltestosterona elevou a concentração de zinco no soro e cabelo dos garotos e que o aumento da produção endógena ou uma

suplementação exógena de testosterona, estava associado com aumento no nível de zinco.

MASON, BURNS, SMITH Jr. (1982) estudaram as mudanças histológicas nos testículos de ratos zinco-deficientes no período pré e pós-puberal e observaram que, após 26 dias, a deficiência de zinco produziu uma imaturidade global nos testículos e vários graus de degeneração do epitélio germinal sendo que, após um período de 30 a 41 dias de reposição do zinco o testículo, o epidídimo e a quantidade de esperma voltaram ao normal.

Dando prosseguimento a esse experimento, os mesmos autores alimentaram dez ratos com uma dieta contendo 4 ppm de zinco por 90 dias e após hemicastração os testículos mostraram mudanças degenerativas. Esses ratos, após esse período, foram alimentados com dieta contendo 100 ppm de zinco, sendo que a cada 15 dias dois desses animais foram sacrificados. Os autores observaram que não ocorreu reversão completa das mudanças degenerativas, durante o período de reposição de zinco, e que somente quatro dos dez animais apresentaram regeneração parcial e concluíram, que no período pré-puberal uma deficiência de zinco marginal resulta em mudanças degenerativas, mas que são reparadas pela reposição do zinco. Em contraste, as mudanças degenerativas dos testículos dos ratos zinco-deficientes no período pós-puberal, não são reversíveis com a reposição do zinco.

PRASAD (1983) em seu trabalho de revisão relata que no homem, a deficiência de zinco promove um decréscimo na quantidade de esperma e no nível sérico de testosterona que está relacionado à falência testicular, e que a suplementação do zinco nas dietas

reverte este processo.

MCDLAIN, DAVALER, VANTHIEL (1984) avaliaram o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal de ratos zinco-deficientes, e observaram um decréscimo sensível do nível de testosterona desses animais. Por outro lado, a reserva hipofisária estava intacta, o que levou os autores à suposição de que o hipogonadismo dos ratos zinco-deficientes resulta principalmente da falência das células de Leydig.

SPRENGER et al. (1984) estudando os efeitos terapêuticos do zinco sobre a disfunção sexual de pacientes submetidos à diálise, observaram que não ocorreu melhora após terapia com zinco.

HIDIROGLU, KNIPFEL (1984) realizaram uma revisão sobre os efeitos do zinco no sistema reprodutor e relataram que, durante a deficiência de zinco, o atraso no desenvolvimento testicular envolve, atrofia do epitélio tubular, redução no DNA e RNA, redução de proteínas e redução da quantidade de zinco do testículo, epidídimo e região dorsolateral da próstata.

Em resumo HANBIDGE, CASEY, KREBS (1987) relataram que a deficiência de zinco produziu efeitos adversos na espermatogênese e no desenvolvimento dos órgãos sexuais primários e secundários nos machos e, em todas as fases do processo de reprodução das fêmeas desde o estro até o parto e lactação.

AFGAR (1985) em seu trabalho de revisão sobre os efeitos do zinco sobre o sistema reprodutor concluiu que, apesar de muitos estudos já terem sido realizados, ainda não está claro qual a extensão da deficiência de zinco sobre o sistema reprodu-

tor humano.

A deficiência de zinco também está relacionada ao sistema estomatognático, o qual somente a bem pouco tempo têm sido estudado. CHAUDHRY, MEYER (1979) estudaram os efeitos da deficiência de zinco sobre as glândulas submandibulares de ratos e observaram que a quantidade de proteína, fosfatase ácida e a protease ácida não tiveram a sua atividade afetada na glândula submandibular, o mesmo ocorrendo com a desidrogenase láctica, mas encontraram uma redução de 59,4% na fosfatase alcalina e danos nas células mioepiteliais, que são a fonte de origem desta enzima. O peso médio das glândulas submandibulares dos ratos zinco-deficientes foi de 195,5 mg contra 246,1 mg do grupo controle.

ALVARES, JOHNSON (1961) foram os primeiros autores a estudarem os efeitos da deficiência de zinco sobre as glândulas parótidas de ratos. Esses animais foram alimentados com uma dieta contendo 0,4 a 0,8 ppm de zinco por um período que variou de 35 a 42 dias, e suas glândulas apresentaram um número de células comparável ao seu controle mas com um decréscimo na massa celular e na quantidade de proteína. Os autores concluíram que a deficiência de zinco e sua associação com a redução no consumo alimentar diminuíram o crescimento da glândula parótida e a síntese protéica da mesma, o que foi um fator que contribuiu para aumentar a susceptibilidade dos animais zinco-deficientes à cárie.

MILES (1982) e RUSSELL, COX, SOLOMONS (1983) em trabalhos de revisão relataram que a deficiência de zinco diminui a acuidade do paladar em seres humanos e animais.

JOHNSON , ALVARES (1984) estudaram os efeitos da deficiência de zinco sobre as proteínas salivares da glândula parótida de ratos, e verificaram uma significativa redução das proteínas ácidas ricas em prolina e uma redução na atividade secretória sendo que, os aspectos morfológicos mostraram grânulos secretórios distintos nos ácinos dessas glândulas. Os autores concluíram que, as alterações observadas na composição das proteínas salivares e a diminuição da taxa do fluxo podem, em parte, serem responsáveis pelo aumento da susceptibilidade desses animais às cáries dentárias.

Fodemos observar pelos trabalhos anteriores que a deficiência de zinco produz sérias alterações no organismo humano. O NAS-NRC (1974) sugeriu que misturas à base de cereais complementadas com soja devem ser balanceadas com zinco.

ANDONYMUS (1979) observou que a soja vem sendo consumida em grandes quantidades, e alertou a comunidade científica sobre as complicações relativas ao estado nutricional que poderiam surgir, quando substitui-se uma fonte protéica por outra, sem uma avaliação cuidadosa.

HARLAND, OBERLEAS (1987) relataram que o aumento do vegetarianismo e a recomendação para aumentar o consumo de dietas de fibra, para prover benefícios à saúde, tem intensificado a necessidade de estudos sobre o fitato visando a redução dos seus efeitos deletéricos sobre a população.

HAMBRIDGE, CASEY, KREBS (1987) relataram que mais pesquisas devem ser feitas para quantificar os efeitos das dietas e também de outros fatores associados, a fim de delinear as neces-

idades nutricionais do zinco em diferentes circunstâncias. Essas pesquisas são importantíssimas para prevenir a deficiência desse mineral no organismo.

3 - PROPOSIÇÃO

Com o objetivo de se comparar os efeitos de dietas à base de soja sem complementação e complementada com mistura salina e vitamínica, com dieta padrão e dieta deficiente em zinco, em ratos, procurou-se neste trabalho :

1 - Determinar a curva de crescimento dos animais submetidos à essas dietas.

2 - Verificar, através da análise histológica e controle de peso, se essas dietas produzem alterações nas glândulas salivares submandibulares e nos testículos dos animais estudados.

3 - Determinar a concentração de zinco no fêmur desses mesmos animais.

4 - Verificar se essas dietas afetam a eritrometria, o hematócrito e a concentração de hemoglobina.

4 - MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados para o presente trabalho 24 ratos machos, da linhagem wistar (*rattus norvegicus*, var. albinos, rodentia, mammalia), recém desmamados, pesando em média 57,55 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas.

Os animais foram distribuídos em gaiolas de aço inox, individuais, localizadas em laboratório mantido à temperatura de 26 à 26,5 C, com 10 horas de iluminação e 14 horas de obscuridade. Esses animais foram distribuídos em 4 grupos de 6 animais, e submetidos às seguintes dietas:

Dieta A - Dieta Controle Padrão

Dieta B - Dieta Deficiente em Zinco

Dieta C - Dieta de Soja sem Complementação

Dieta D - Dieta de Soja com Complementação

Os comedouros utilizados foram de aço inox e os bebedouros de vidro com bicos de vidro e/ou aço inox. Foi oferecido aos animais 15 gramas de dieta por dia e água deionizada "ad. libitum".

O controle dos animais foi realizado 5 vezes por semana no período da manhã. Os animais e os comedouros eram pesados e a dieta correspondente era completada, com exceção da dieta deficiente em zinco (dieta B), cujas sobras eram descartadas sendo substituída novamente por dieta, previamente pesada e acondicionada em sacos plásticos.

4.1 - FORMULAÇÕES DAS DIETAS

Para a elaboração das dietas de soja foi utilizada a variedade IAC-8 fornecida pelo Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queirós" - ESALQ/USP.

4.1.1 - Dieta Controle Padrão (Dieta A)

A dieta controle foi composta de 15% de teor protéico proveniente da albumina, e constou de:

01- Albumina	15%
02- óleo de Milho	5%
03- Fibra	5%
04- Mistura Salina	3,5%
05- Mistura Vitamínica	1,0%
06- D.L. Metionina	0,3%
07- Cloreto de Colina	0,15%
08- Biotina	0,0002%
09- Mistura de Zinco	0,06%
10- Maizena para completar	100%

A mistura de zinco foi baseada nos relatos de STUART (1987), segundo o qual uma mistura de 0,024 gramas de óxido de zinco adicionado à 0,975 gramas de sacarose produz uma mistura que quando adicionada 1,0 grama desta mistura em 1 Kg de dieta,

produz uma quantidade de zinco na dieta de 20 ug por grama de dieta.

4.1.2 - Dieta Deficiente em Zinco (Dieta B)

A dieta deficiente em zinco foi composta de 15% de proteína proveniente da caseína lavada com EDTA, e constou de:

01- Caseína lavada	15%
02- óleo de Milho	5%
03- Celulose Microcristalizada	5%
04- Mistura Salina	3,5%
05- Mistura Vitamínica	1,0%
06- D.L. Metionina	0,3%
07- Cloreto de Colina	0,15%
08- Maizena para completar	100%

A caseína foi lavada 2 vezes consecutivas com EDTA através do seguinte processo: A caseína foi adicionada a uma solução aquosa de EDTA a 1%, na proporção de 1 kg para 3 litros, foi agitada constantemente por 15 minutos e, posteriormente, foi filtrada. Após a filtração a mesma foi adicionada à água deionizada, para 1 kg de caseína foi adicionado 2 litros de água deionizada, e agitada constantemente, por 15 minutos, sofrendo após a agitação nova filtração.

Essa caseína foi novamente adicionada à solução aquosa de EDTA a 1%, agora na proporção de 2 litros de EDTA para 1 Kg de

caseína, e agitada novamente por 15 minutos sofrendo novo processo de filtração.

Após essa segunda lavagem feita com EDTA a caseína foi adicionada à água deionizada, na proporção de 3 litros de água para 1 Kg de caseína, e agitada por 5 minutos sofrendo logo após novo processo de filtração.

Esse último processo foi repetido por 9 vezes. A seguir procedeu-se a secagem da caseína em estufa a 60°C, sendo posteriormente moída em moinho de aço inox.

4.1.3 - Dieta de Soja Sem Complementação (Dieta C)

Essa dieta foi a base de farinha de soja integral, sem a complementação de nenhuma outra substância. A soja utilizada inicialmente foi descascada em um descascador elétrico e em seguida assoprada. Essa soja após descascada e assoprada foi levada à coacção por um período de 5 minutos e posteriormente a uma estufa para secagem.

A soja após o processo de secagem foi moída em um moinho de aço inox para obtenção da farinha de soja que foi acondicionada em saco plástico e mantida em geladeira.

4.1.4 - Dieta de Soja com Complementação (Dieta D)

O mesmo processo relatado anteriormente para a obtenção da farinha de soja integral foi utilizado nessa dieta, sendo posteriormente complementada com mistura salina e mistura vitamínica nas seguintes proporções:

1. Mistura Salina	3,5%
2. Mistura Vitamínica	1,0%
3. Cloreto de Colina	0,15%
4. D.L. Metionina	0,3%
5. Farinha de Soja Integral	para completar 100%

4.1.5 - Mistura Salina

A mistura salina (mineral) foi baseada nos relatos do Instituto Americano de Nutrição (1977), sendo que dessa mistura foi retirado o óxido de zinco. A composição dessa mistura pode ser visualizada no Quadro 3.

Quadro 3 - Composição da mistura salina

Substância	Gr.
1. Fosfato de Cálcio Dibásico	500,0
2. Cloreto de Sódio	74,0
3. Citrato de Potássio Monohidratado	220,0
4. Sulfato de Potássio	52,0
5. Óxido de Magnésio	24,0
6. Carbonato Manganoso	3,5
7. Citrato Férrico (16-17%)	6,0
8. Iodato de Potássio	0,01
9. Carbonato Cúprico (53-55% Cu)	0,3
10. Selenito de Sódio	0,01
11. Sulfato de Potássio Crômico	0,55
12. Sacarose	p/completar 1.000 gr

Fonte: Instituto Americano de Nutrição (1977) .

4.1.6 Mistura vitamínica

A mistura vitamínica foi fornecida pela Roche do Brasil e a sua composição foi baseada nos relatos da AOAC (1970) e está descrita na tabela 1.

Tabela 1 - Composição da mistura vitamínica

SUBSTÂNCIA	Gr.
01. Vitamina A seca e desidratada	1,0
02. Vitamina D seca e desidratada	1,0
03. Vitamina E seca e desidratada	0,001
04. Menadiona	0,5
05. Ac. p-aminobenzóico	10,0
06. Inositol	10,0
07. Niacina	4,0
08. D-Pantotenato de Ca	4,0
09. Riboflavina	0,5
10. Tiamina.HCl	0,5
11. Piridoxina.HCl	0,5
12. Ácido Fólico	0,2
13. Biotina	0,04
14. B-12	0,003
15. Dextrose	p/ completar 1.000

Os componentes das dietas foram inicialmente pesados em balanças com aproximação centesimal e misturados em panela de aço inox. Essas substâncias após a mistura inicial foram levadas a um misturador, para melhor homogeneização das mesmas.

Esse processo foi feito com todas as dietas com exceção da dieta de soja sem complementação, cuja mistura não era necessária. Essas dietas após preparação foram acondicionadas em saco plástico e levadas à geladeira.

4.2 - COLETA DO MATERIAL PARA ANÁLISE

Os animais foram mantidos com suas respectivas dietas por um período de 69 dias, sendo sacrificados com 3 meses de idade. Os animais foram inicialmente anestesiados com éter e colocados sobre uma mesa cirúrgica. A pele do abdomen e tórax foi divulsionada e a artéria braquial dissecada. A seguir a artéria foi seccionada e o sangue para as análises hematológicas coletado.

Os animais foram sacrificados por hipovolemia sendo a seguir retirados o testículo esquerdo, que foi medido com um paquímetro, e as glândulas submandibulares. Essas estruturas foram pesadas em balança analítica, fixadas em Bouin, por um período de 24 horas, e a seguir incluídas segundo técnica histológica de rotina, cortadas na espessura de 7 μ e coradas com HE e tricrômio de mallory para posterior estudo histológico.

Os fêmures dos animais foram também retirados, limpos e colocados em estufa por aproximadamente 12 horas a 105 graus. Posteriormente os mesmos foram moídos com auxílio de um gral e

levados a estufa para nova secagem durante um período de quatro horas, sendo então utilizados na preparação da solução de cinzas para determinação de zinco.

4.3 - ANÁLISES HEMATOLÓGICAS

Foram determinadas a eritrometria, a hemoglobina, o hematócrito e a concentração de hemoglobina corpuscular média dos animais de todos os grupos experimentais. O sangue para análise hematológica foi retirado dos animais no momento do corte da artéria braquial, através de uma pipeta automática de 40 microlitros e levados para análise num contador de células NOVA CELL-TRACK 11.

4.4 - ANÁLISES QUÍMICAS

4.4.1 - Umidade

A determinação de umidade do grão de soja cru e cozido foi realizado em estufa à vácuo, a 60± C até peso constante (AOAC, 1970).

4.4.2 - Proteína

O teor protéico da soja, albumina e da caseína foi determinado através do método macrokjeldahl para nitrogênio total, utilizando o fator 6,25 para o cálculo da proteína (SILVA,

1981).

4.4.3 - Extrato Etéreo

A determinação do extrato etéreo da soja foi realizada através do equipamento "Goldfisch", onde a amostra analisada é trabalhada com éter etílico, que é aquecido tornando-se volátil e ao condensar-se circula sobre a amostra e arrasta toda a fração gordurosa e as demais substâncias solúveis em éter. O éter é posteriormente recuperado e a gordura extraída calculada por diferença de pesagem (SILVA, 1981).

4.4.4 - Cinza

A determinação de cinza da soja foi feita em mufla a 550° C até peso constante (SILVA, 1981).

4.4.5 - Fibra Bruta

A determinação de fibra bruta da soja foi feita após digestão ácida (H_2SO_4) e básica ($NaOH$) da amostra e foi determinada pela diferença de peso do gooch de porcelana antes e após a queima do resíduo em mufla a 550° C (SILVA, 1981).

4.4.6 - Análise de Minerais

Foram realizadas análise de zinco em todas as dietas, na soja crua e cozida, nos fêmures de todos os animais e, análise de macro e microminerais na soja crua e cozida.

Essas análises foram realizadas no Centro de Engenharia Nuclear na Agricultura (CENA) através de um espectrômetro de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente, marca Jarrell-Ash, modelo 975 atomcomp. O preparo das amostras para análise foi feito através de digestão nitroperclórica empregando bloco digestor como descrito por KRUG et al. (1977).

4.4.7 - Análise do Ácido Fítico

A quantidade de ácido fítico dos grãos de soja foi determinada pelo método descrito por LATTI, ESKIN (1980) que é baseado em uma reação entre o íon férrico e o ácido sulfossalicílico.

4.5 - TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Para as análises estatísticas foram utilizados os esquemas de análise de variância de ensaios inteiramente casualizados sendo que, para as variáveis hematócrito, hemoglobina e concentração de hemoglobina corpuscular média foi utilizado a transformação arcsen proporção.

A comparação das médias (duas a duas) foi feita através da aplicação do Teste de Tukey ao nível de 5%, nos casos em que a análise de variância foi significativa e, o estudo da evolução de peso dos animais foi feito através da análise da equação da reta e pelo teste do paralelismo.

5 - RESULTADOS

5.1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SOJA

A análise centesimal do grão de soja cru e cozido utilizado para obtenção da farinha de soja que serviu de base para a elaboração das dietas C e D pode ser visualizada no quadro 4.

Quadro 4 - Análise centesimal do grão de soja.

Soja IAC-8 Análise (%/100 gr)	GRÃO DE SOJA CRU	GRÃO DE SOJA COZIDO
PROTEÍNA	37,0	42,2
LIPÍDIO	17,6	22,4
FIÉRA BRUTA	8,5	9,0
UMIDADE	9,1	8,6
CINZAS	3,2	2,9
CARBOIDRATO POR DIFERENÇA	24,08	14,16
ÁCIDO FÍTICO	0,52	0,74

Como pode ser observado no quadro 4 a proteína, gordura, ácido fítico e fibra bruta tornaram-se mais concentrados com o cozimento, enquanto que as cinzas e o carboidrato tornaram-se menos concentrados. O teor de carboidrato das amostras foi obtido por diferença.

O quadro 5 mostra a análise dos principais minerais do grão de soja cru e cozido utilizado no experimento.

Quadro 5 - Análise mineral do grão de soja.

Soja IAC-B Minerais	GRÃO DE SOJA CRU	GRÃO DE SOJA COZIDO
P	0,49%	0,47%
K	1,76%	1,36%
Ca	0,26%	0,30%
Mg	0,25%	0,22%
Cu	23 ppm	32 ppm
Fe	97 ppm	98 ppm
Mn	28 ppm	31 ppm
Zn	58 ppm	62 ppm

No quadro 5 observamos que com exceção da concentração do potássio, que diminuiu com o aquecimento, e do cobre, que aumentou, ocorreram poucas variações dos outros componentes.

A tabela 2 mostra os teores de fitato e zinco das dietas utilizadas no experimento bem como a razão molar fitato/zinco dessas dietas.

Tabela 2 - Valores de fitato, zinco e razão molar fitato/zinco das dietas A, B, C e D.

DIETA	FITATO mg/g	ZINCO ppm	RAZÃO MOLAR
A	---	12,1	---
B	---	10,0	---
C	7,4	65,0	12
D	7,4	62,0	13

Podemos observar na tabela 2 que a razão molar fitato/zinco para as dietas C e D foi de 12 e 13 respectivamente.

5.2 - ANÁLISE DE CRESCIMENTO

Os resultados observados através da análise do crescimento dos animais dos quatro grupos estudados serão mostrados através das seguintes variáveis : Peso Inicial, Peso Final, Curva de Crescimento, Consumo Diário de Ração, Coeficiente de Eficiência Alimentar e a Razão de Eficiência Protéica.

5.2.1 - Peso Inicial dos Animais

O gráfico 1 mostra os valores médios dos pesos iniciais dos animais submetidos às dietas A, B, C e D e a tabela 3 a respectiva análise de variância. Os valores individuais encontram-se expressos no quadro 11 do apêndice.

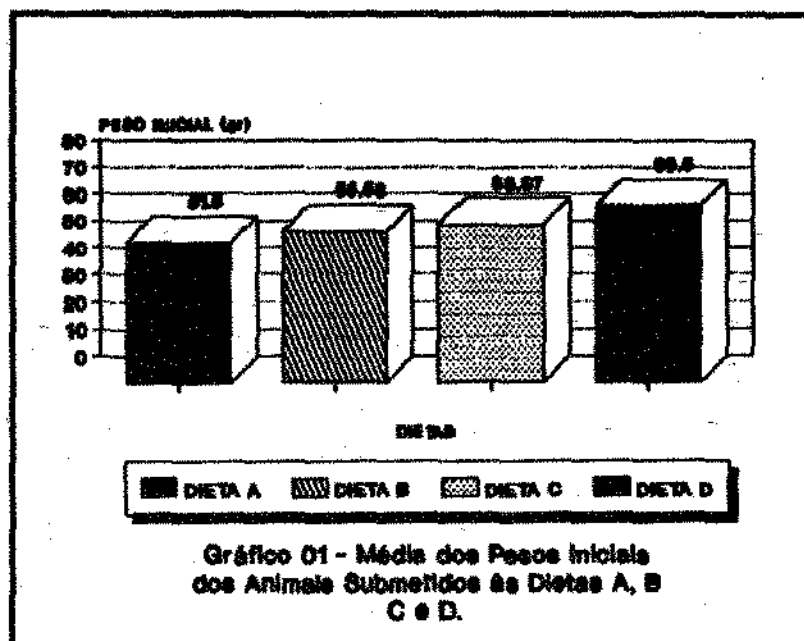


TABELA 3 - Análise de variância do peso inicial dos animais.

EV	GL	SQ	QM	F
DIETA	03	621,54	207,18	0,0176 n.s.
RESÍDUO	20	494,02	11713,77	
TOTAL	23	1105,56		

n.s. - Não significativa ao nível de 5%

A análise de variância dos pesos iniciais dos animais submetidos às dietas A, B, C e D não mostrou diferença significativa entre os mesmos.

5.2.2 - Peso Final dos Animais

O gráfico 2 mostra as médias dos pesos finais dos animais submetidos às dietas A, B, C e D e a tabela 4 a respectiva análise de variância. Os valores individuais encontram-se expressos no quadro 12 do apêndice.

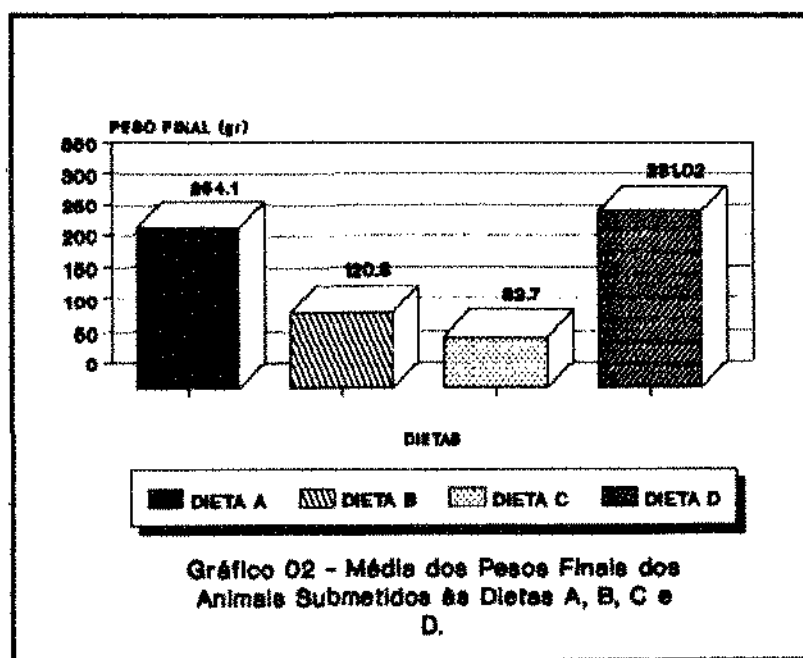


TABELA 4 - Análise de variância do peso final dos animais.

FV	GL	SS	QM	F
DIETA	03	182676,41	60892,14	83,18*
RESÍDUO	20	14641,02	732,051	
TOTAL	23	197317,43		

* Significante ao nível de 5%

A comparação das médias do peso final foi feita através do teste de Tukey, com uma diferença mínima significativa (d.m.s.) ao nível de 5%, e o resultado obtido foi de 43,74. Analisando as médias obtidas dos grupos observamos que o peso final médio dos animais submetidos à dieta A é significantemente maior do que o peso final médio dos animais submetidos às dietas B e C, o mesmo ocorrendo quando comparamos a média de peso final dos animais submetidos à dieta D com os animais que receberam as dietas B e C. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa com o peso final médio dos animais que receberam a dieta A quando comparado com os animais que receberam a dieta D, o mesmo ocorrendo entre os animais submetidos às dietas B e C.

5.2.3 - Curva de Crescimento

Através dos valores médios do peso semanal dos animais traçamos as curvas de crescimento de cada grupo que podem ser vistas no gráfico 3.

A análise estatística dos dados contidos no quadro 6 permitiu a elaboração das equações da reta para cada dieta que são as seguintes:

$$\text{Dieta A} - y = 73,74 + 19,06x$$

$$\text{Dieta B} - y = 46,15 + 7,57x$$

$$\text{Dieta C} - y = 61,30 + 2,46x$$

$$\text{Dieta D} - y = 60,55 + 23,21x$$

Com base nessas equações podemos afirmar que os animais que receberam a dieta A tiveram um aumento de peso médio por semana de 19,06 gramas, enquanto que os animais que receberam a dieta B aumentaram 7,57 gramas semanalmente. A análise da equação da reta da dieta C revela que os animais pertencentes a esse grupo aumentaram em média 2,46 gramas por semana e as análises da equação da reta da dieta D mostram que os animais desse grupo tiveram um aumento de peso médio semanal de 23,21 gramas.

Para testar o paralelismo entre essas retas foi utilizado o teste T com um nível de significância de 5%, cujo valor apresentado foi de 2,10.

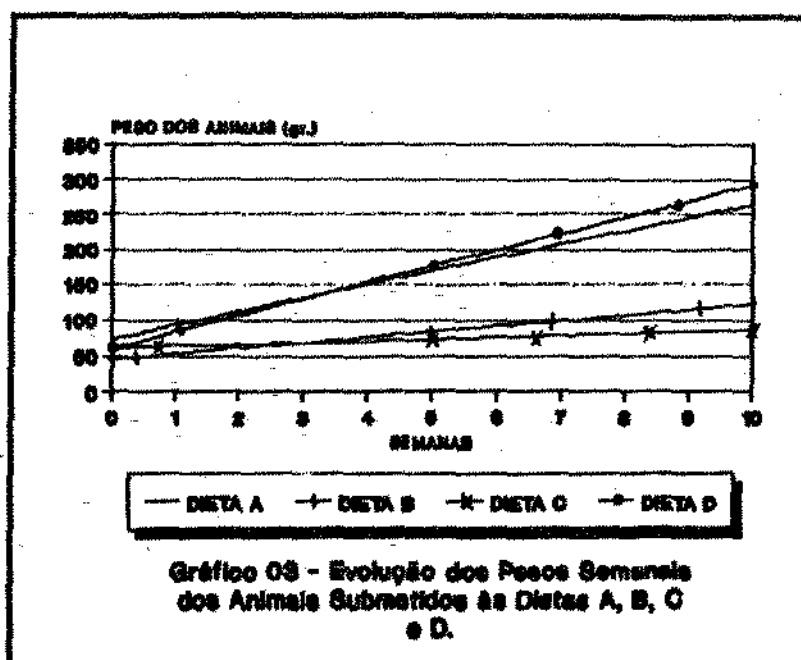
Baseado nesse valor observamos que o paralelismo entre as retas são diferentes, sendo que o valor que mais aproximou-se do teste T foi o de comparação das retas A e D, que mostrou um valor de 2,33. Os valores encontrados para as outras comparações podem ser vistos abaixo.

TESTE DE PARALELISMO

	A	B	C	D
A	-----	11,37	17,85	2,33
B	-----	-----	7,51	9,42
C	-----	-----	-----	12,88
D	-----	-----	-----	-----

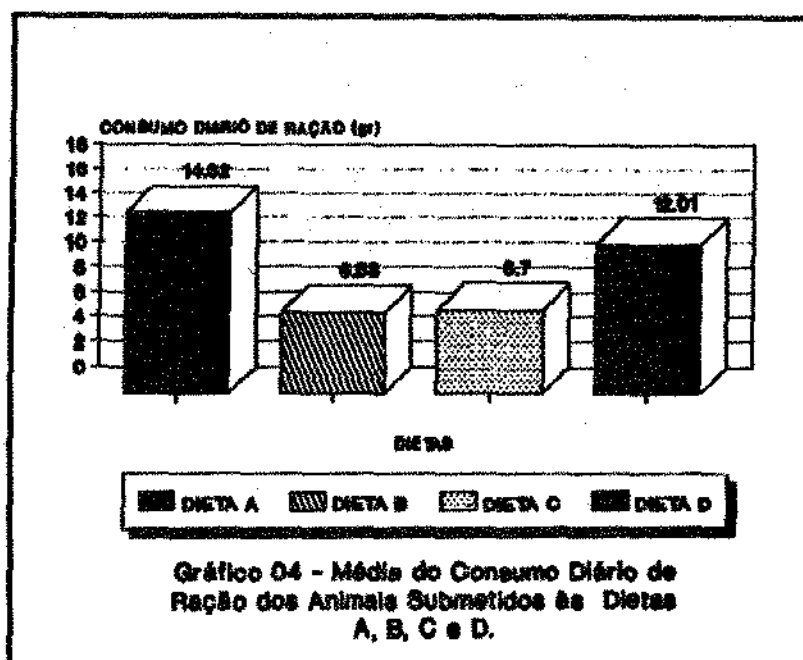
Quadro 6 - Distribuição dos animais segundo média do peso
semanal dos grupos submetidos às dietas A, B,
C e D.

SEMANAS	MÉDIA DE PESO SEMANAL (GRAMAS)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	85,3	55,1	57,8	72,3
02	115,0	65,6	64,9	94,6
03	131,2	73,0	70,6	130,1
04	147,2	74,7	73,2	168,4
05	167,2	74,9	78,9	180,5
06	193,1	83,0	79,4	212,4
07	218,7	101,5	79,6	236,1
08	235,5	110,7	79,1	258,5
09	238,4	119,0	82,1	248,2
10	254,1	120,8	82,7	281,0



5.2.4 - Consumo Diário de Ração

A análise de variância relativa aos dados de consumo diário de ração dos animais submetidos às dietas A, B, C e D, contidos no quadro 13 do apêndice, pode ser visualizada na tabela 5. O gráfico 4 mostra as respectivas médias dos valores de consumo diário de ração.



TADELA 5 - Análise de variância do consumo diário de ração.

FV	GL	SQ	QM	F
DIETA	03	287,79	96,60	155,80*
RESÍDUO	20	12,33	0,6200	
TOTAL	23	302,12		

* Significante ao nível de 5%

A aplicação do teste de Tukey forneceu uma diferença mínima significativa de 1,27 ao nível de 5%.

Com base nesse dado observamos que a média de consumo de ração diária dos animais submetidos à dieta A é significante-mente maior quando comparada com as dietas B, C e D, o mesmo ocorre quando comparamos a média da dieta D com a média das dietas B e C. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre a média do consumo de ração diário dos animais submetidos às dietas B e C.

5.2.3 - Coeficiente de Eficiência Alimentar

O Coeficiente de Eficiência Alimentar para cada animal, obtido pela divisão do ganho de peso em gramas pelo consumo de ração em gramas está descrito no quadro 14 do apêndice.

O gráfico 5 mostra os valores médios do coeficiente de eficiência alimentar dos animais dos grupos A, B, C e D e a tabela 6 a respectiva análise de variância.

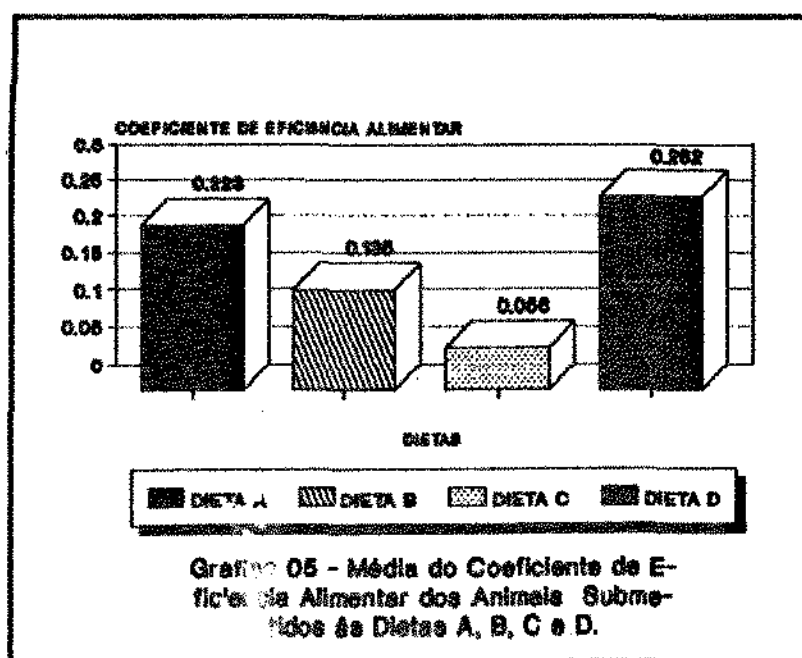


TABELA 6 - Análise de variância do coeficiente de eficiência alimentar.

FV	GL	SQ	QM	F
DIETA	03	0,1531	0,0510	23,18*
RESÍDUO	20	0,0438	0,0022	
TOTAL	23	0,1969		

* Significante ao nível de 5%

Para comparação das médias do coeficiente de eficiência alimentar, foi utilizado o teste de Tukey com a diferença mínima significativa (d.m.s.) ao nível de 5%. O valor obtido através do teste foi de 0,075.

Com base nesse resultado, podemos afirmar que a média da dieta A é significantemente maior do que a média das dietas B e C, porém não ocorreu diferença significativa entre a média da dieta A quando comparada com a da dieta D. O valor médio da dieta D, também é significantemente maior do que o valor médio das dietas B e C. Quando comparamos a média das dietas B e C, observamos que a média da dieta B é significantemente maior do que a média da dieta C, porém o valor de significância (0,079) é pouco diferente do valor obtido pelo teste de Tukey.

5.2.6 - Razão de Eficiência Protéica (PER)

A razão de eficiência protéica para cada animal, obtida através da divisão do ganho de peso em gramas pela quantidade de proteína ingerida em gramas, está descrita no quadro 15 do apêndice. O gráfico 6 mostra os valores médios dessa razão enquanto que a tabela 7 descreve a respectiva análise de variância.

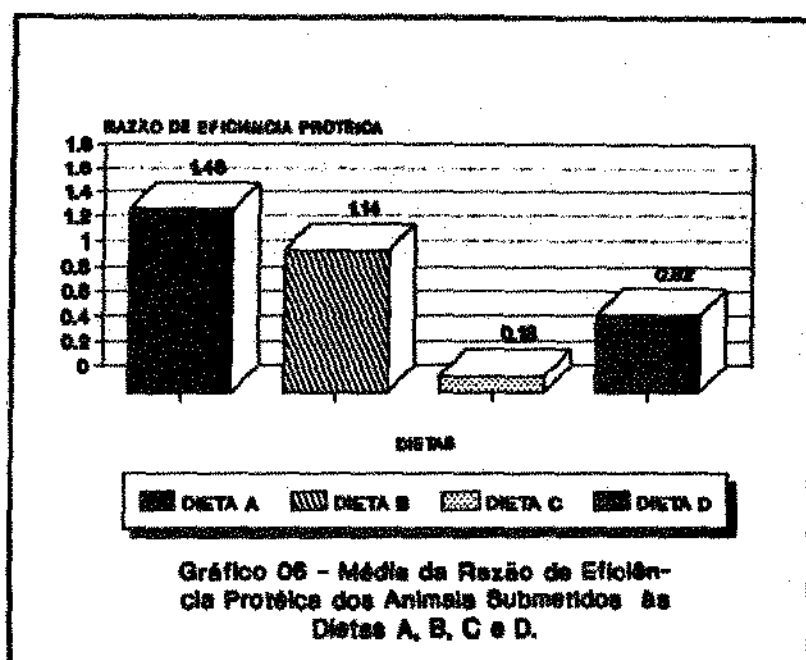


TABELA 7 - Análise de variância da razão de eficiência protéica.

FV	GL	SQ	QM	F
DIETA	03	6,22	2,07	196,65*
RESÍDUO	19	0,2	0,0105	
TOTAL	22	6,42		

* Significante ao nível de 5%

A aplicação do teste de Tukey forneceu uma diferença mínima significante de 0,166 ao nível de 5%. Com base nesse resultado observamos que a média da razão de eficiência protéica dos animais submetidos à dieta A é significantemente maior quando comparada com as dietas B, C e D, o mesmo ocorrendo com a dieta B quando comparada com as dietas C e D. A dieta D também apresentou um valor significantemente maior dessa razão quando comparada com a dieta C.

5.3 - ANÁLISE HEMATOLÓGICA

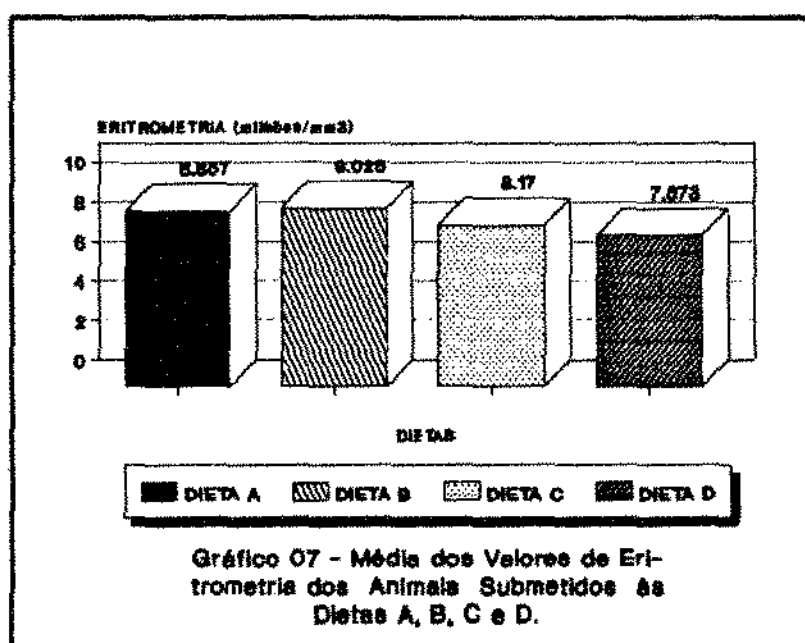
A análise hematológica dos animais estudados será mostrada segundo valores individuais, médias e respectivas análises de variância.

5.3.1 - Eritrometria

Os valores individuais e a média da eritrometria dos animais submetidos às dietas A, B, C e D estão descritos no quadro 7 e no gráfico 7.

Quadro 7 - Distribuição dos animais submetidos às dietas A, B, C e D segundo valores individuais e médias da eritrometria.

ANIMAIS	ERITROMETRIA (MILHÕES/MM ³)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	9.440,000	-----	7.820,000	6.440,000
02	9.900,000	8.670,000	7.930,000	8.470,000
03	7.380,000	8.830,000	9.180,000	7.340,000
04	10.490,000	8.720,000	8.270,000	7.640,000
05	7.110,000	8.740,000	8.640,000	6.810,000
06	8.820,000	10.180,000	7.180,000	9.340,000
MÉDIAS	8.856,666	9.028,000	8.170,000	7.673,333



A análise de variância da eritrometria dos animais que receberam as dietas A, B, C e D pode ser vista na tabela 8.

TABELA 8 - Análise de variância da eritrometria.

FV	GL	SQ	QM	F
DIETA	03	6766001,17	2236600,39	2,212 ns.
RESÍDUO	19	19203946,66	1010734,03	
TOTAL	22	25911947,83		

ns. - Não Significante ao nível de 5%

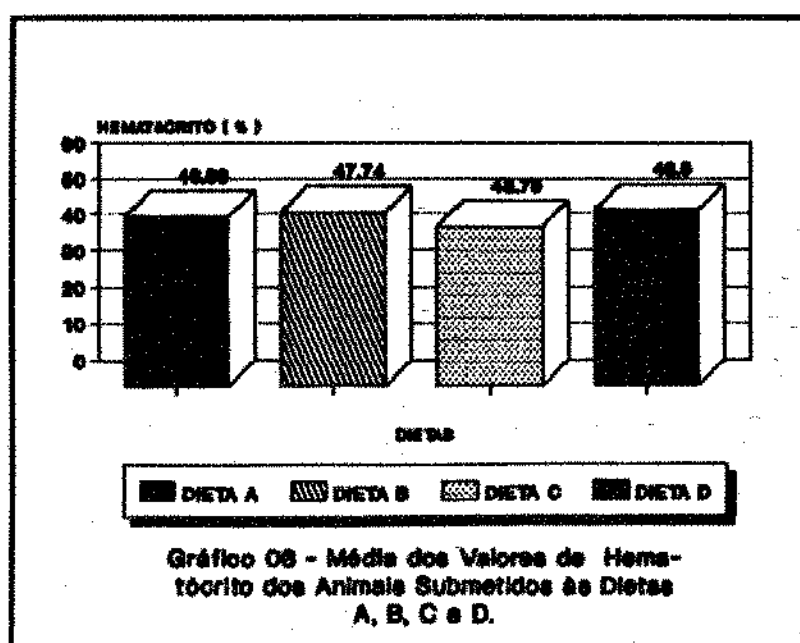
Podemos observar através da análise de variância da eritrometria dos animais utilizados no experimento que não existem diferenças estatisticamente significantes entre as dietas A, B, C e D.

5.3.2 - Hematócrito

O quadro 6 mostra os valores individuais e respectivas médias do hematócrito dos animais que receberam as dietas A, B, C e D.

Quadro 8 - Distribuição dos animais submetidos às dietas A, B, C e D segundo valores individuais e médias do hematócrito.

ANIMAIS	HEMATÓCRITO (%)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	46,0	---	45,6	47,0
02	48,0	46,6	42,1	48,0
03	46,0	48,6	47,6	50,0
04	47,0	47,9	42,4	49,0
05	46,0	46,8	44,5	49,0
06	47,0	48,8	40,1	48,0
MÉDIAS	46,66	47,74	43,75	48,5



O gráfico 8 mostra as médias do hematócrito dos animais submetidos às dietas A, B, C e D e a tabela 9 a sua respectiva análise de variância.

TABELA 9 - Análise de variância do hematócrito.

FV	GL	SS	QM	F
DIETA	03	25,54	8,513	9,63 *
RESÍDUO	19	16,793	0,884	
TOTAL	22	42,333		

* Significante ao nível de 5%

O teste de Tukey para o hematócrito mostrou um valor de 1,528. Com base nesse valor podemos afirmar que a média do hematócrito dos animais que receberam a dieta A é significativamente maior do que os que receberam a dieta C, sendo que não houve diferenças estatisticamente significantes entre a média da dieta A quando comparada com as das dietas B e D.

A média do hematócrito dos animais que receberam a dieta B, mostrou valores que não foram estatisticamente significantes quando comparados com a média da dieta D, porém foram estatisticamente maiores quando comparados com a média da dieta C.

O valor médio do hematócrito da dieta D foi estatisticamente maior do que o da dieta C.

5.3.3 - Hemoglobina

Podemos observar no quadro 9 a distribuição dos dados referentes à hemoglobina dos animais submetidos às dietas A, B, C e D. Os valores médios da hemoglobina podem ser observados no gráfico 9 enquanto que, a análise de variância está descrita na tabela 10.

Quadro 9 - Distribuição dos animais segundo valores individuais e médias da hemoglobina.

ANIMAIS	HEMOGLOBINA (g%)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	17,05	-----	12,30	15,48
02	16,43	19,20	12,30	16,51
03	15,19	20,80	14,10	19,13
04	17,67	22,30	13,70	14,50
05	15,50	21,70	12,70	17,50
06	15,50	20,90	14,60	17,53
MÉDIAS	16,22	20,98	13,28	16,78

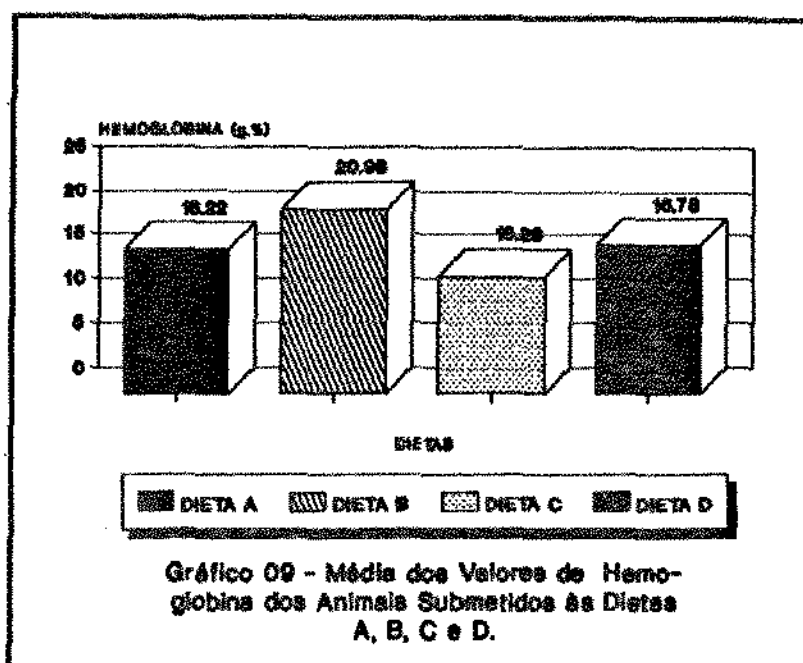


TABELA 10 - Análise de variância da hemoglobina.

FV	GL	SQ	QM	F
DIETA	03	162,93	54,31	35,82*
RESÍDUO	19	28,82	1,516	
TOTAL	22	191,75		

* Significante ao nível de 5%

O teste de Tukey para a hemoglobina com o nível de significância de 5% forneceu uma diferença mínima significativa (d.m.s.) igual à 2,098. Com base nesse valor podemos afirmar que a média da concentração de hemoglobina dos animais submetidos à dieta B é significativamente maior do que a dos animais submetidos às dietas A, C e D.

Com relação aos animais submetidos à dieta A, podemos afirmar que o valor médio da concentração de hemoglobina é significativamente maior do que o apresentado pelos animais submetidos à dieta C, porém não apresenta diferença estatisticamente significativa quando comparado aos submetidos à dieta D. A análise permite ainda afirmar que o valor médio dessa concentração nos animais submetidos à dieta D é significativamente maior quando comparado ao dos animais que receberam a dieta C.

5.3.4 - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

Os valores individuais da concentração de hemoglobina corpuscular média dos animais submetidos às dietas A, B, C e D estão descritos no quadro 10.

O gráfico 10 mostra as médias desse parâmetro para os animais submetidos às dietas A, B, C e D enquanto que, a tabela 11 mostra a sua respectiva análise de variância.

Quadro 10 - Distribuição dos animais submetidos às dietas A, B, C e D segundo valores individuais e médias da concentração de hemoglobina corpuscular média.

ANIMAIS	CONC. DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MÉDIA (%)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	37,1	----	26,9	32,9
02	34,2	41,2	29,2	34,4
03	33,0	42,8	29,6	38,3
04	37,6	46,6	32,3	29,6
05	33,7	46,4	28,5	33,7
06	33,0	42,8	36,4	36,5
MÉDIAS	34,8	44,0	30,5	34,6

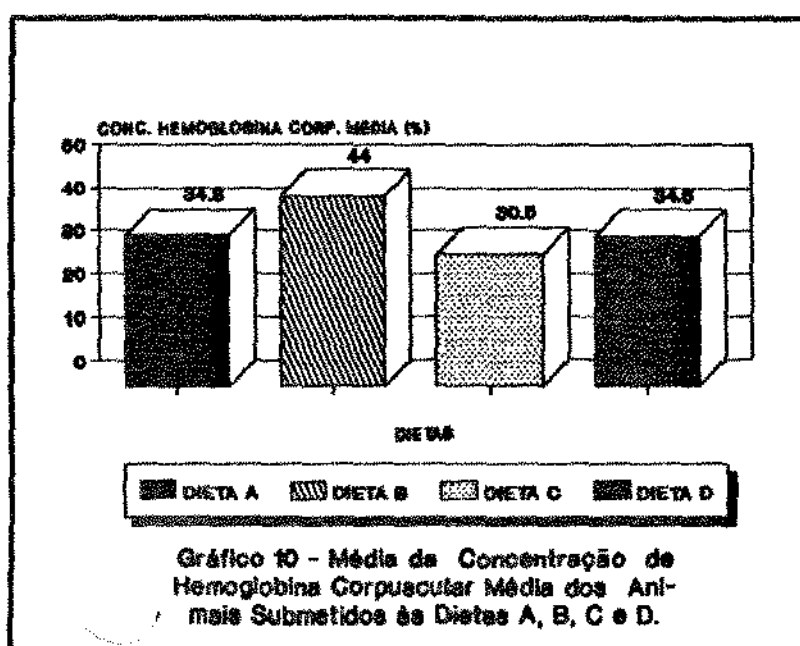


TABELA 11 - Análise de variância da concentração de hemoglobina corpuscular média.

CV	GL	SS	QM	F
DIETA	03	183,17	61,06	21,42 *
RESÍDUO	19	54,28	2,85	
TOTAL	22	237,45		

* Significante ao nível de 5%

O teste de Tukey para a concentração de hemoglobina corpuscular média mostrou um valor de 2,88. Com base nesse valor, podemos afirmar que a média desse parâmetro nos animais submetidos à dieta B é significantemente maior quando comparada com as outras dietas enquanto que, as médias das dietas A, C e D não apresentaram diferenças estatísticas entre elas.

5.4 - ANÁLISE TESTICULAR

5.4.1 - Medida Testicular

No gráfico 11 encontramos os valores médios, em centímetros, da medida testicular dos animais dos grupos A, B, C e D e na tabela 12 a respectiva análise de variância. Os valores individuais encontram-se expressos no quadro 16 do apêndice.

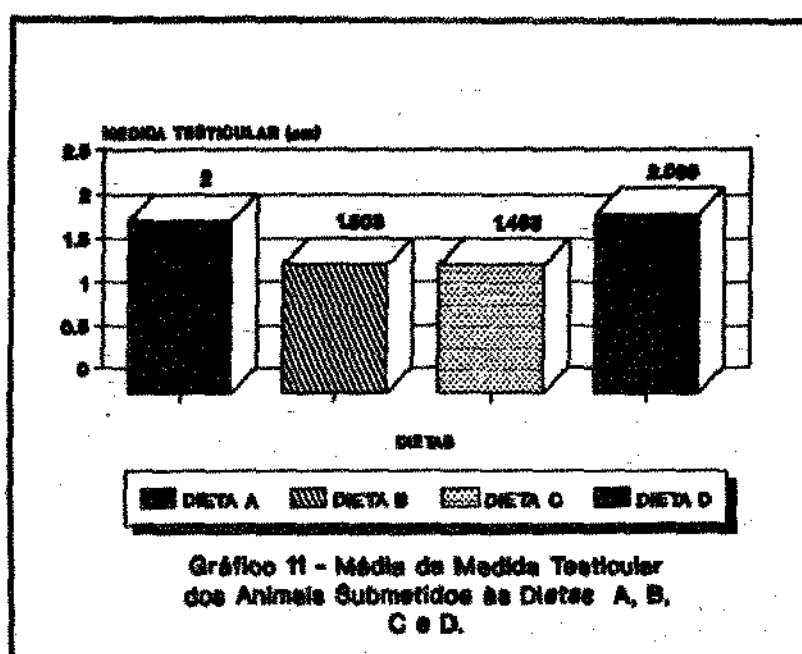


TABELA 12 - Análise de variância da medida testicular.

FV	GL	SS	QM	F
DIETA	03	1,736	0,578	29,045*
RESÍDUO	20	0,398	0,0199	
TOTAL	23	2,134		

* Significante no nível de 5%

Aplicando o teste de Tukey obtivemos um valor de 0,228. Segundo esse valor a média da medida testicular dos animais submetidos à dieta A foi estatisticamente maior quando comparada com os valores obtidos para as dietas B e C.

O valor obtido para a média dos animais do grupo D é significantemente maior quando comparado com os valores obtidos para os grupos A, B e C. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre o valor obtido para o grupo B quando comparado com o do grupo C.

5.4.2 - Peso Testicular

O gráfico 12 mostra os valores médios do peso testicular, em gramas, dos animais dos diferentes grupos e a tabela 13 a análise de variância do referido parâmetro. Os valores individuais encontram-se no quadro 17 do apêndice.

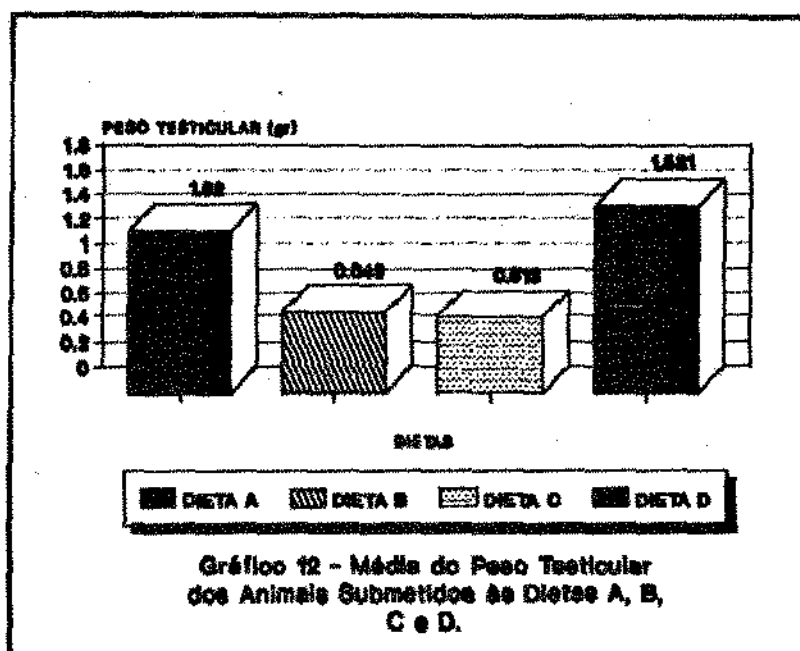


TABELA 12 - Análise de variância do peso testicular.

FV	GL	SS	QM	F
DIETA	03	3,93	1,31	47,63*
RESÍDUO	20	0,55	0,0275	
TOTAL	23	4,48		

* Significante ao nível de 5%

O valor obtido pelo teste de Tukey foi de 0,268. Esse resultado mostrou que a média do peso testicular dos animais submetidos à dieta A é significantemente maior do que a apresentada pelos animais submetidos às dietas B e C, porém não apresenta significância estatística se analisada em função da dieta D.

Para os animais do grupo D, quando comparados com os dos grupos B e C, o peso testicular mostra uma média significantemente maior e, em relação à média do peso testicular dos animais submetidos à dieta B não ocorreu diferença significativa quando comparada com a média dos animais submetidos à dieta C.

5.4.3 - Análise Histológica

A análise histológica dos testículos dos animais submetidos à dieta controle padrão (Dieta A) apresentou aspectos de normalidade. Os testículos apresentaram túbulos seminíferos, em diferentes planos de corte, com tamanho normal. Dentro dos túbulos o epitélio germinativo apresenta-se com aspecto normal, onde evidenciam-se as associações celulares compatíveis com os estádios da espermatogênese própria da espécie. Destacam-se os estádios 1, 7 e 14. O tecido intersticial mostra aspectos também de aparente normalidade (Figura 1).

Os animais alimentados com a dieta à base de farinha de soja complementada com mistura mineral e vitamínica (Dieta D), apresentaram achados histológicos semelhantes aos dos animais submetidos à dieta controle padrão (Figura 2).

Em relação aos animais submetidos à dieta deficiente em zinco (Dieta B), observamos que alguns túbulos seminíferos mostraram alguns aspectos de normalidade quanto ao seu diâmetro e quanto ao epitélio germinativo. Nota-se também a presença de espermátides multinucleadas com núcleos picnóticos (Figura 3). Outros túbulos mostraram atrofia moderada sendo que, nesses túbulos atróficos, a espermatogênese vai até cito I. Além da presença de túbulos atróficos, nota-se epitélio germinativo degenerado e presença de células multinucleadas (Figura 4).

Quanto ao estadiamento são raras as imagens características do estadio 7 fato que, junto com as alterações celulares descritas, sugerem alterações da espermatogênese. O tecido in-

tersticial apresenta-se aparentemente normal.

Os animais alimentados com a dieta à base de farinha de soja sem complementação mineral e vitamínica (Dieta C), mostraram túbulos seminíferos apresentando aspectos que variam desde a normalidade (Figura 5) até outros atrofiados quanto ao seu tamanho, e quanto a espessura do epitélio germinativo (Figura 6). Nesses animais não evidenciam-se os estádios característicos da espermatogênese da espécie, notando-se a ausência principalmente do estágio 7.

Em alguns túbulos notam-se células com hipercromatose (Figura 6).

O conjunto de achados é indicativo de uma espermatogênese incompleta. O tecido intersticial mostra-se aparentemente normal.

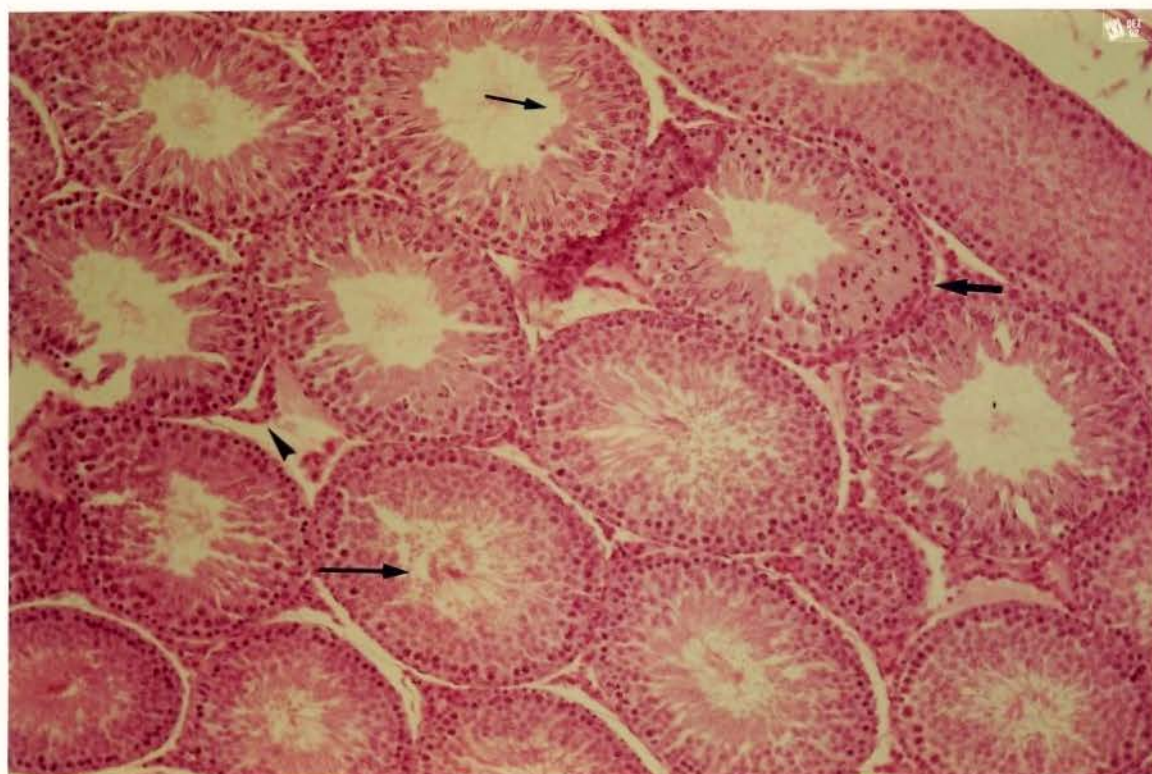


Figura 1 - Fotomicrografia do testículo de rato (Grupo A).

Observa-se os túbulos seminíferos em cortes transversais exibindo os estádios 1 (seta pequena), 7 (seta média) e 14 (seta grande), indicativos de atividade espermatogênica normal. Tecido intersticial também com aparente normalidade (seta sem haste).

Coloração - HE

Aumento - 160,5 vezes.

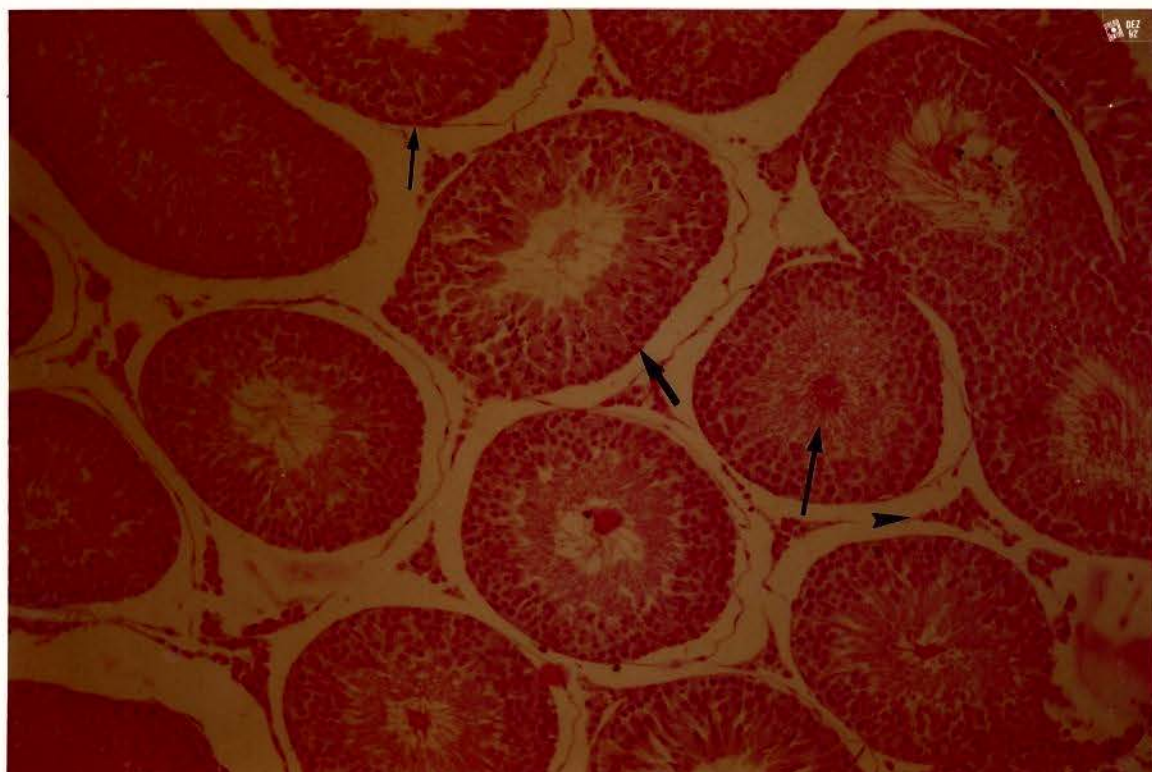


Figura 2 - Fotomicrografia do testículo de rato (Grupo D).

Observa-se os túbulos seminíferos em cortes transversais exibindo os estádios 1 (seta pequena), 7 (seta média) e 14 (seta grande), indicativos de atividade espermatogênica normal. Tecido intersticial também com aparente normalidade (seta sem haste).

Coloração - HE

Aumento - 160,5 vezes.

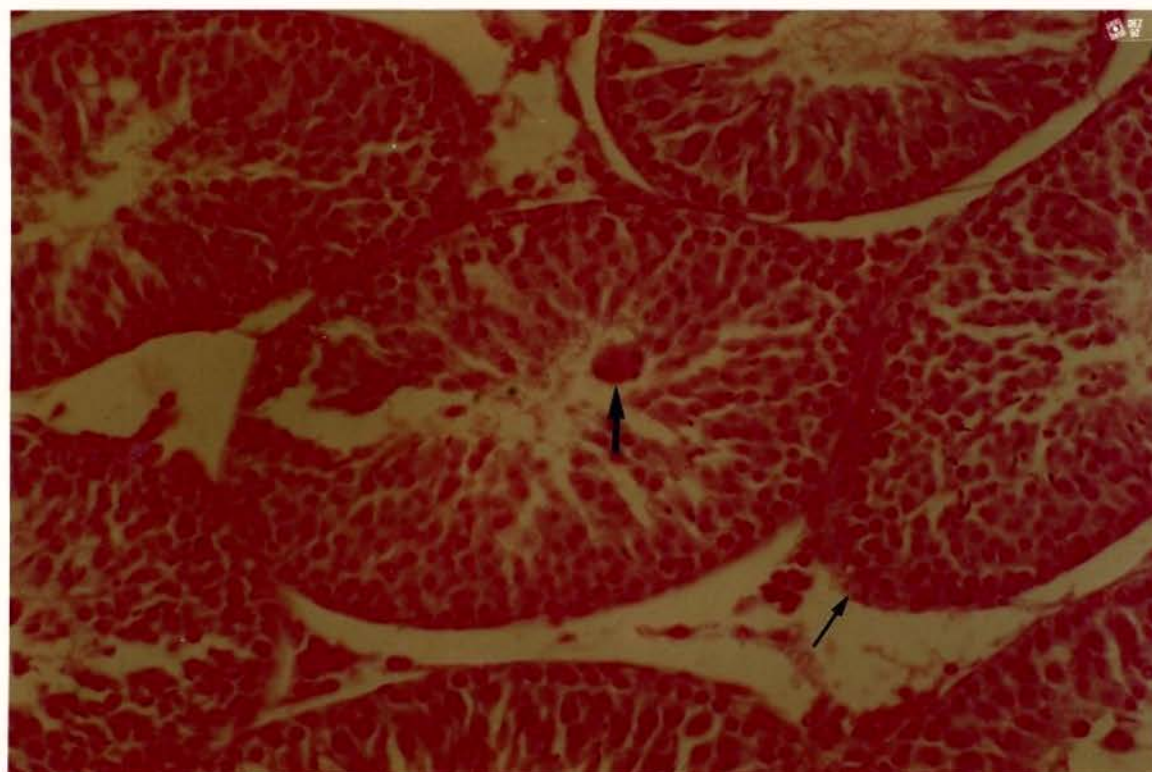


Figura 3 - Fotomicrografia do testículo de rato (Grupo B).

Túbulos em corte transversal com aspecto de normalidade quanto ao diâmetro e espessura do epitélio germinativo (seta pequena). No lúmen tubular nota-se a presença de espermatídes multinucleadas (núcleos picnóticos) - (seta maior).

Coloração - HE

Aumento - 321 vezes.

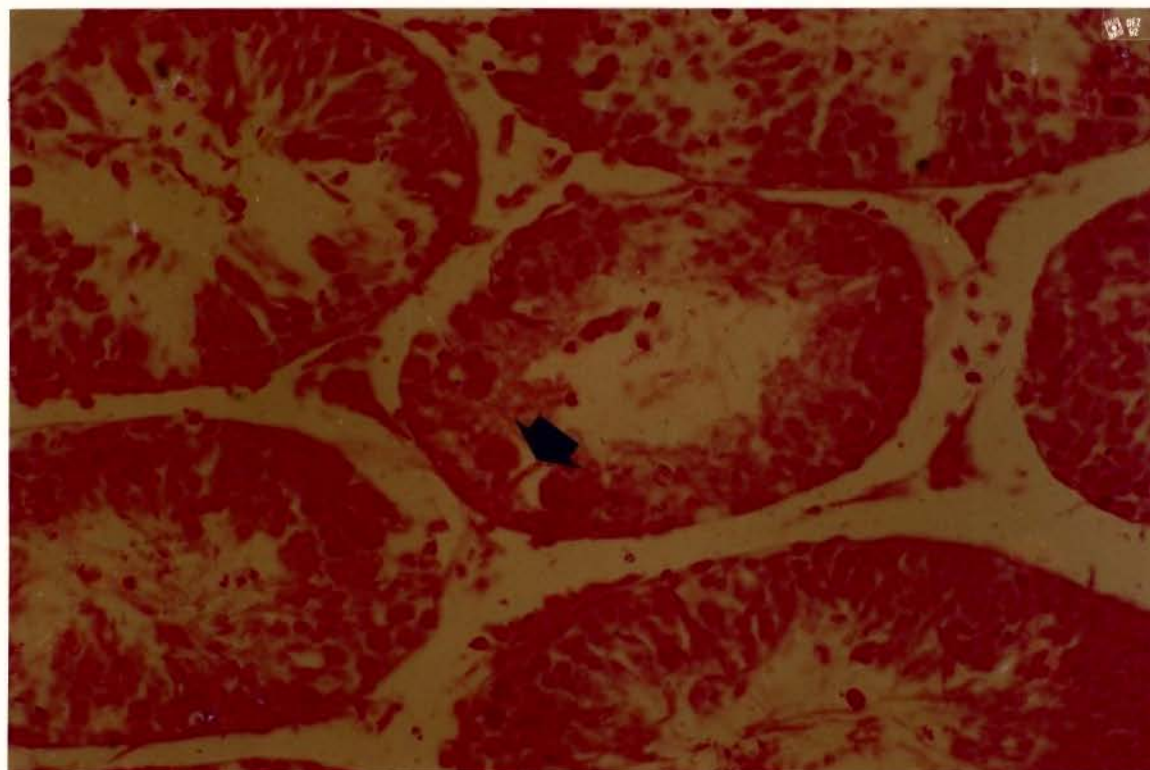


Figura 4 - Fotomicrografia do testículo de rato (Grupo B).

Observa-se túbulos seminíferos com atrofia moderada com particularidade para células multinucleadas (seta).

Coloração - HE

Aumento - 160,5 vezes.

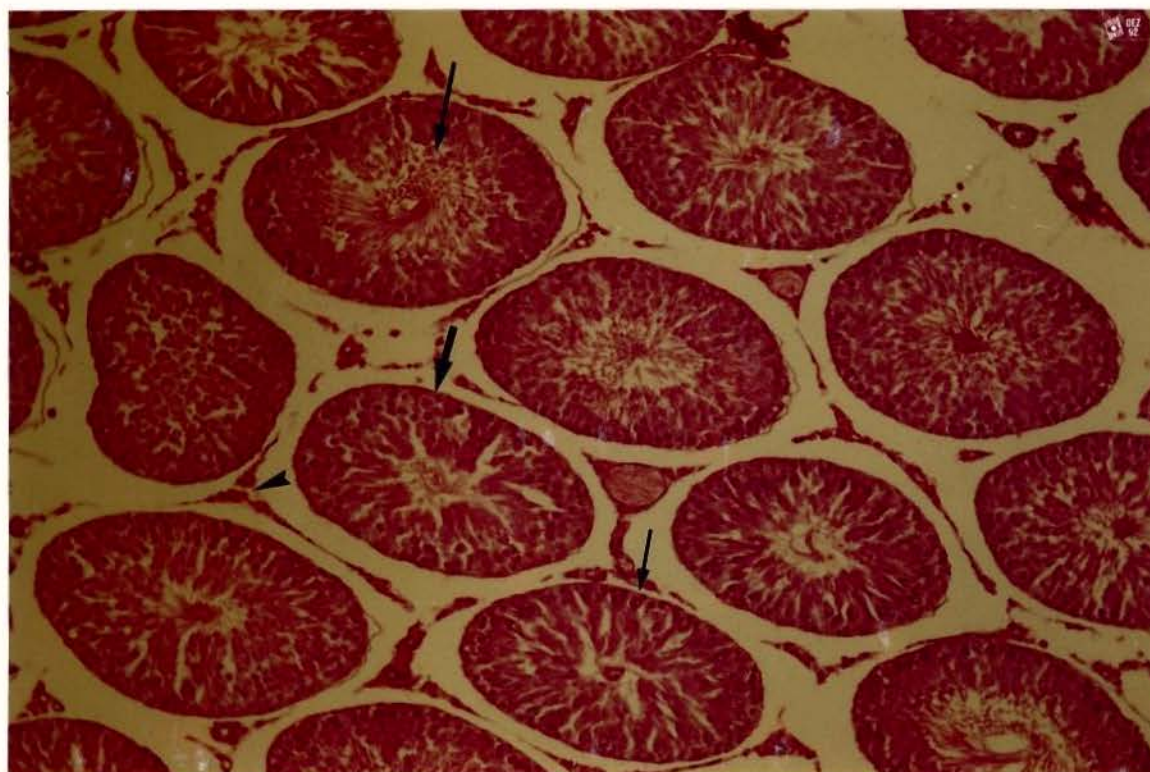


Figura 5 - Fotomicrografia do testículo de rato (Grupo C).

Observa-se os túbulos seminíferos em cortes transversais exibindo os estádios 1 (seta pequena), 7 (seta média) e 14 (seta grande), indicativos de atividade espermatogênica normal. Tecido intersticial também com aparente normalidade (seta sem haste).

Coloração - HE

Aumento - 160,5 vezes.

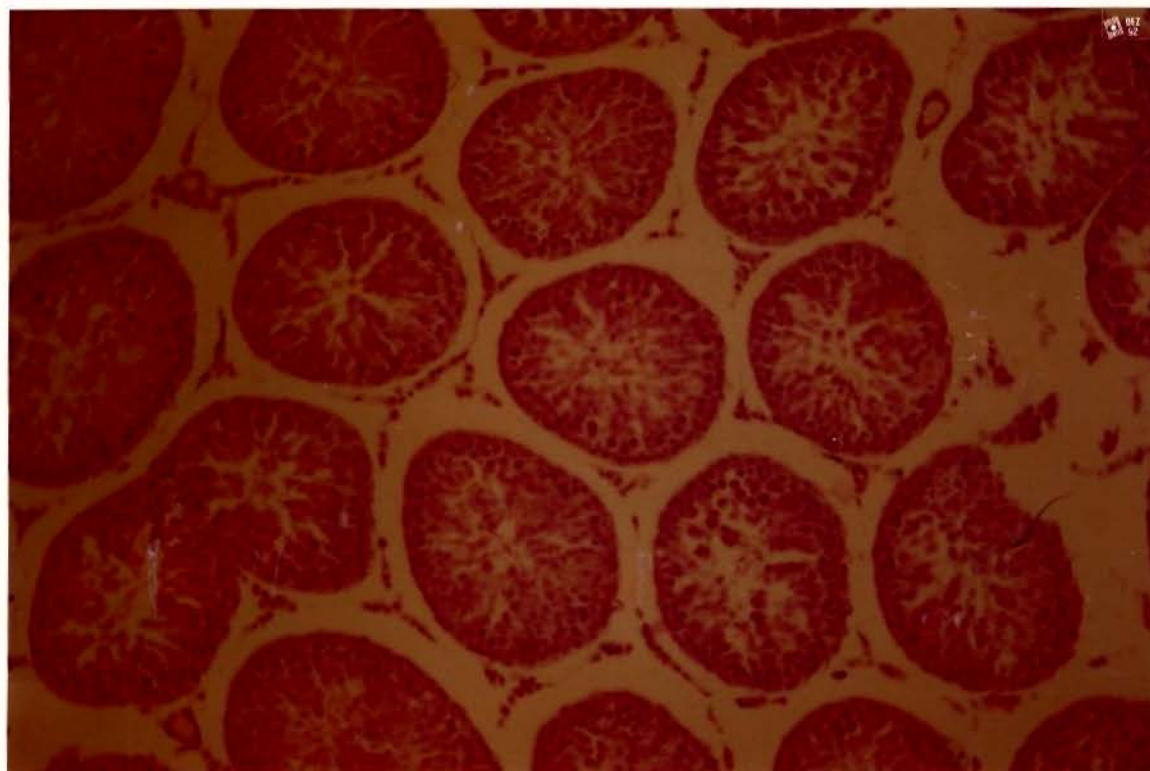


Figura 6 - Fotomicrografia do testículo de rato (Grupo C).

Observa-se túbulos em corte transversal com atrofia no tamanho e na celularidade do epitélio germinativo. Células com hipercromatose.

Coloração - HE

Aumento - 160,5 vezes.

5.5 - ANÁLISE DAS GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES

5.5.1 - Peso das Glândulas Salivares Submandibulares

No gráfico 13 encontramos os valores médios do peso das glândulas salivares submandibulares, em gramas, dos animais pertencentes aos grupos A, B, C e D e na tabela 14 a respectiva análise de variância. Os valores individuais encontram-se expressos no quadro 18 do apêndice.

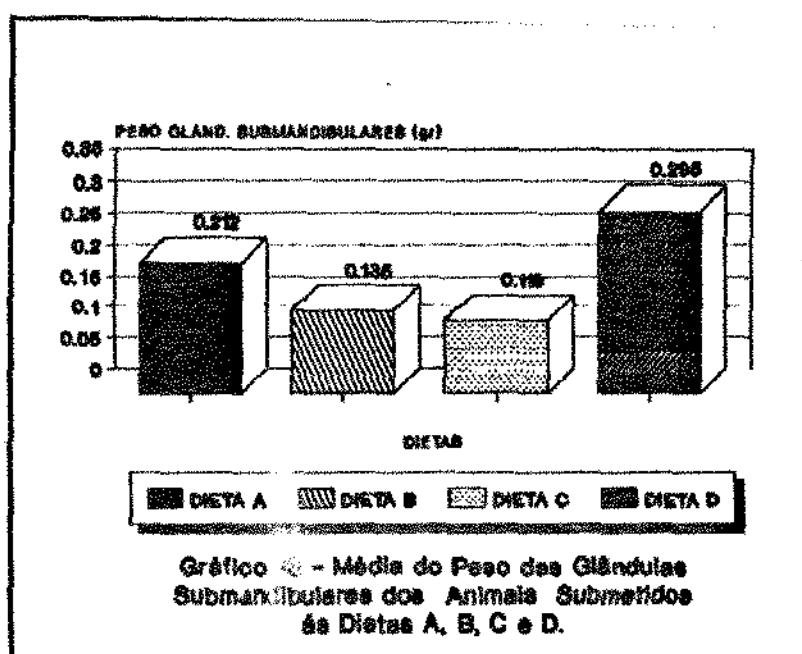


TABELA 14 - Análise de variância do peso das glândulas salivares submandibulares.

FV	GL	SS	QM	F
DIETA	03	0,1176	0,0392	28,92*
RESÍDUO	20	0,0271	0,00135	
TOTAL	23	0,1447		

* Significante ao nível de 5%

O teste de Tukey forneceu um valor de 0,0594. Segundo esse valor a média dos animais submetidos à dieta A foi significativamente maior quando comparada com os valores obtidos dos animais submetidos às dietas B e C.

O valor obtido para a média do grupo D é estatisticamente maior quando comparado com os valores obtidos para os grupos A, B e C. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre a média obtida para o grupo B quando comparada com a do grupo C.

4.5.2 - Análise Histológica

A análise histológica das glândulas submandibulares dos animais submetidos à dieta controle padrão (Dieta A) mostra aspectos de normalidade. Dentro de cada lóbulo evidenciam-se os componentes acinosos, serosos e mucosos com predominância dos primeiros. Os componentes ductais dos diferentes segmentos também estão normais (Figura 7).

Os animais alimentados com a dieta deficiente em zinco (Dieta B) apresentaram uma atrofia aparente das glândulas submandibulares sem distinção entre os elementos seroso e mucoso, não existindo também limites nítidos entre os ácinos. Os ductos granulados estão ausentes (Figura 8).

Os animais que foram submetidos a dieta à base de farinha de soja sem complementação (Dieta C), mostraram um arranjo estrutural da glândula submandibular preservado quanto aos seus componentes acinosos e ductais contudo, nota-se uma atrofia de ácinos e mais particularmente núcleos celulares diminuídos. A análise mostra ainda cromatina mais condensada (Figura 9) e ausência de ductos granulados.

Em relação as glândulas submandibulares dos animais submetidos a dieta à base de farinha de soja complementada (Dieta D), observa-se uma hipertrofia do componente ductal, principalmente com relação ao seu componente granular, demonstrando um desenvolvimento acentuado do dimorfismo sexual destas glândulas (Figura 10).

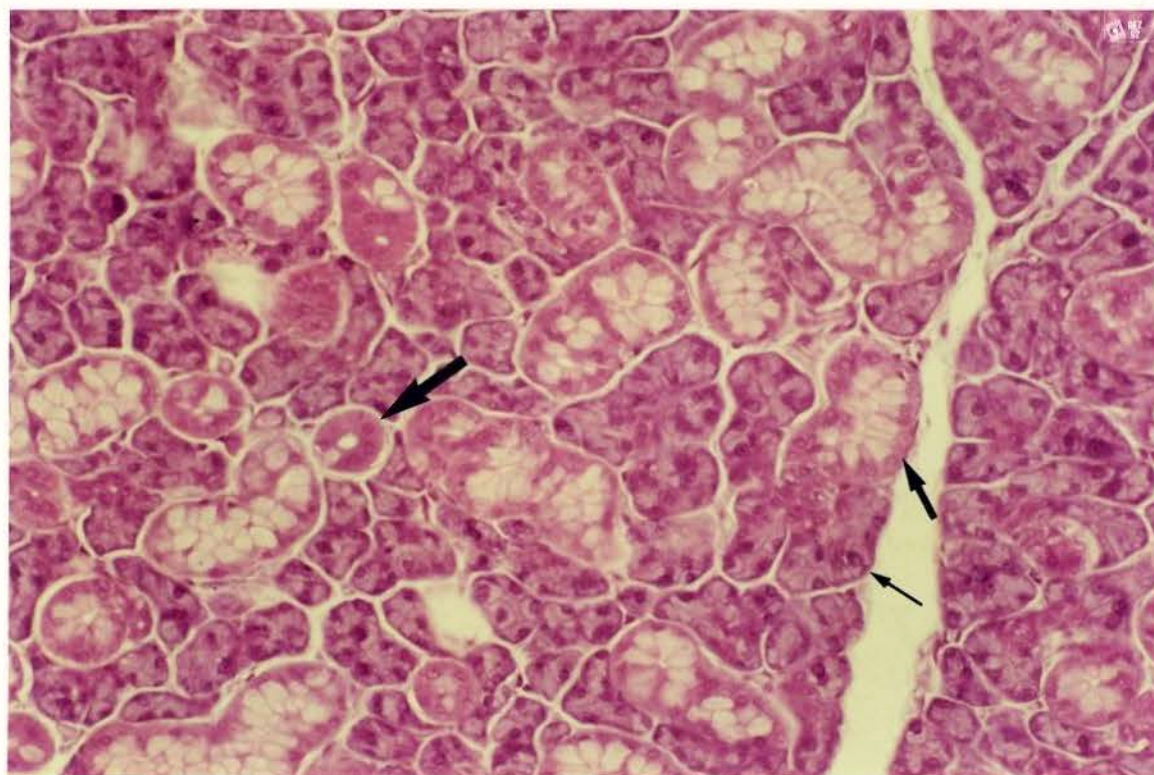


Figura 7 - Fotomicrografia de Lóbulos da glândula submandibular de rato (Grupo A).

Observa-se ácinos serosos (seta pequena), ácinos mistos com crescente seroso (seta média) e ductos intra-lobulares (seta grande).

Coloração - HE

Aumento - 321 vezes.

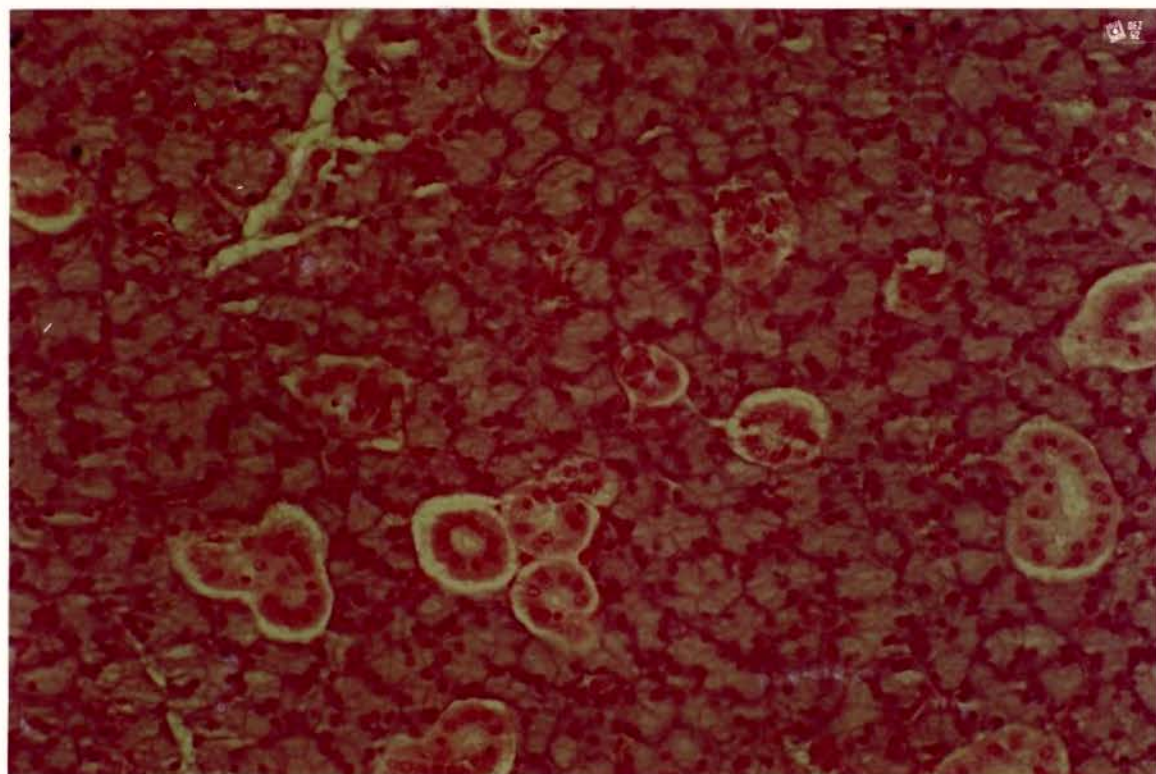


Figura 8 - Fotomicrografia da glândula submandibular de rato (Grupo B).

Observa-se atrofia aparente do material em especial do componente ductal.

Coloração - HE

Aumento - 321 vezes.

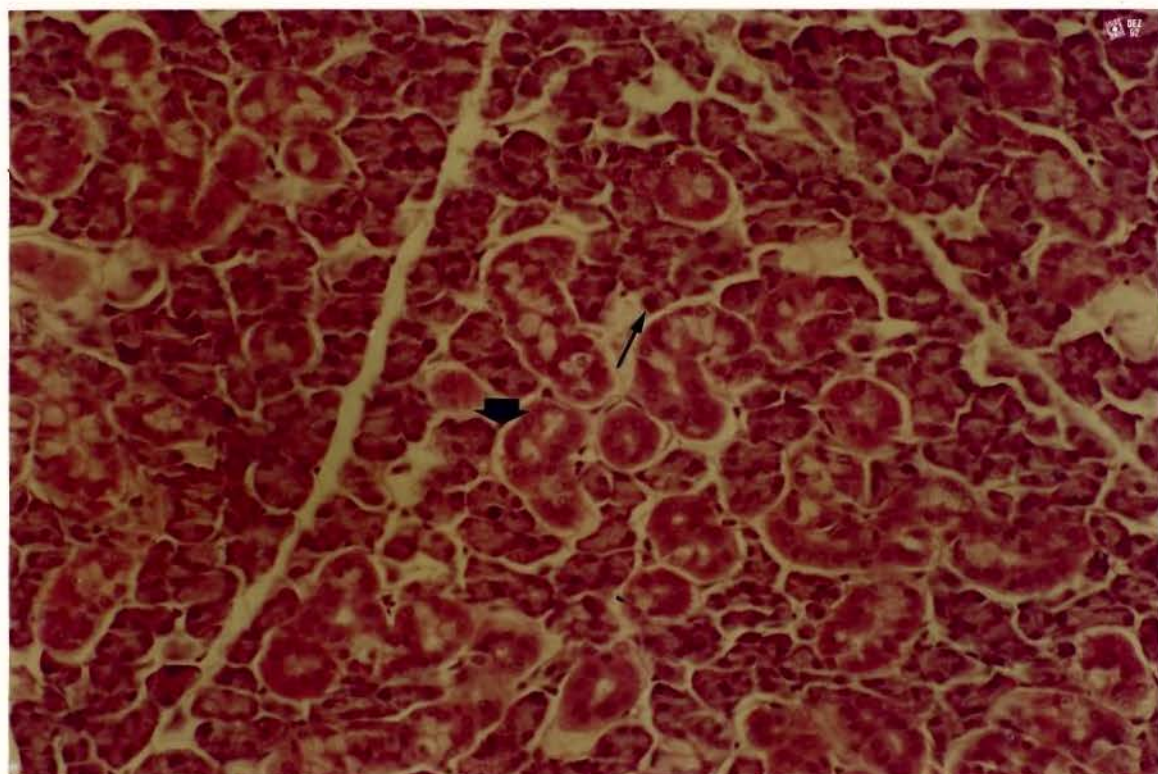
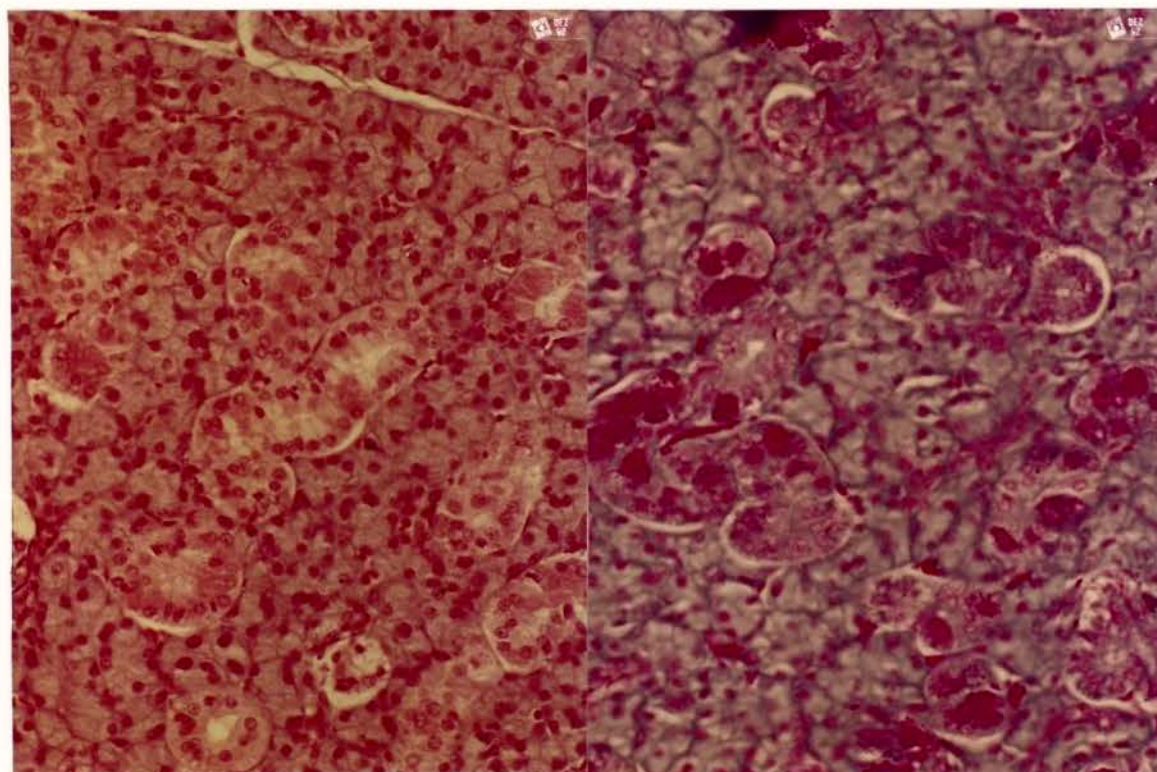


Figura 9 - Fotomicrografia de glândula submandibular de rato (Grupo C).

Observa-se núcleos celulares menores e alguns com picnose (seta pequena). Ácinos e ductos com atrofia incipiente (?) (seta maior).

Coloração - HE

Aumento - 321 vezes.



HE

TRICRÔMIO DE MALLORY

Figura 10 - Fotomicrografia da glândula submandibular de rato (Grupo D - composição).

Chama a atenção a hipertrofia dos ductos granulosos.

Coloração - HE/Tricrômio de Mallory

Aumento - 321 vezes.

5.6 - ANÁLISE DE ZINCO NO FÊMUR

O gráfico 14 mostra os valores médios dos níveis de zinco no fêmur dos animais que receberam as dietas A, B, C e D e a tabela 15 a respectiva análise de variância. Os valores individuais encontram-se descritos no quadro 19 do apêndice.

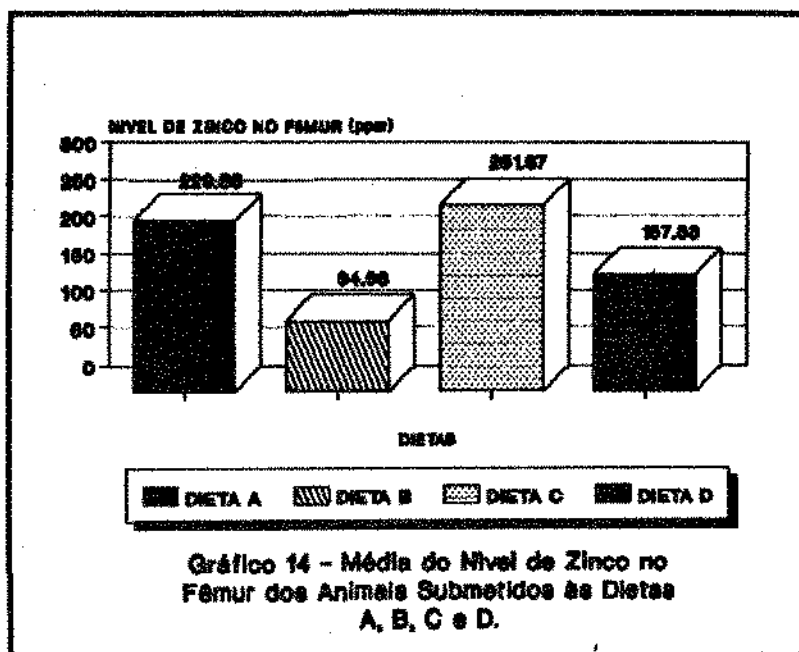


TABELA 15 - Análise de variância do nível de zinco no fêmur.

FV	GL	SQ	QM	F
DIETA	03	92.252,27	30.750,75	112,64*
RESÍDUO	20	5.459,91	272,99	
TOTAL	23	97.712,18		

* Significante ao nível de 5%

O teste de Tukey para o nível de zinco no fêmur com o nível de significância de 5% forneceu um valor de diferença mínima significativa igual à 26,71. Com base nesse valor podemos afirmar que a média do nível de zinco no fêmur dos animais submetidos à dieta A foi significativamente maior do que a dos animais submetidos às dietas B e D, e não apresentou diferenças estatisticamente significantes com a dos animais submetidos à dieta C. Os animais submetidos à dieta deficiente em zinco (dieta B), apresentaram valores médios que são significativamente menores do que os valores observados para as outras dietas, enquanto que os animais alimentados com a dieta C apresentaram valores médios significativamente maiores do que os animais alimentados com a dieta D.

6 - DISCUSSÃO

6.1 - Composição Química da Soja

A análise centesimal do grão de soja cru e cozido utilizado para obtenção da farinha de soja, que serviu para a elaboração das dietas à base de soja (Dieta C e Dieta D) visualizada no quadro 4, mostra que os valores encontrados para proteína e gordura são semelhantes aos relatados por PRINGLE (1974) que, analisando a farinha de soja integral após aquecimento encontrou teores de proteína que variaram de 38,5 à 43,0% e teores de gordura que variaram de 19,1 à 23,0%.

TURATTI et al. (1979) analisando 25 variedades de soja produzidas no Brasil encontrou valores de proteína que variaram de 33,08% (IAC-3) à 43,81% (PL-1) e valores de gordura variando de 17,82% (IAC-1) à 25,51% (Bragg), também semelhantes às análises do grão de soja IAC-8 por nós utilizado (quadro 4).

Essa grande variação nos teores de proteína e gordura dos vários tipos de soja é, segundo LAM-SÁNCHEZ (1976), influenciada pelo genótipo da variedade estudada e também pelo local onde a mesma foi cultivada, pois nesse caso a soja sofre influência do solo e das condições instrumentais do plantio.

O teor de fibra encontrado na variedade IAC-8 utilizada nesse experimento foi superior ao relatado por PRINGLE (1974) e TURATTI et al. (1979) porém, como a quantidade de fibra presente na soja é mensurada pela eficiência de separação da casca do endosperma, variações nessa quantidade são esperadas.

A umidade encontrada na variedade de soja IAC-8 utilizada, está dentro da taxa de variação descrita por ADDER (1963) que relata uma variação de 5,02 à 9,42%, com um valor médio de 8,0%.

O valor encontrado para cinzas é semelhante ao valor mínimo encontrado por ADDER (1963) porém, inferior ao valor descrito por PRINGER (1974) e TURATTI et al. (1979). A análise dos principais minerais do grão de soja cru e cozido utilizado nesse experimento pode ser visualizada no quadro 5.

Segundo ADDER (1963) os constituintes minerais do grão de soja variam de acordo com os constituintes minerais do solo, os quais por sua vez dependem das técnicas empregadas no cultivo, solo, clima e adubação.

Essa variabilidade pode ser observada comparando os resultados dos trabalhos de KELLOR (1974) e OSBORN (1977), que analisaram os constituintes minerais da farinha de soja desengordurada e obtiveram grande variação entre suas análises. Dos minerais presentes na soja o zinco é o que têm a sua biodisponibilidade mais reduzida pela presença de ácido fítico.

A análise do grão de soja cozido utilizado no experimento mostrou teor de zinco de 62 ppm, superior aos encontrados por KELLOR (1974) e OSBORN (1977) para a farinha de soja desengordurada.

Com relação à quantidade de ácido fítico presente na soja LOLAS, PALAMIDIS, MARKAKIS (1976) analisando 15 variedades desta leguminosa, observaram que essa quantidade variou de 1,00 à 1,47%, em peso seco, portanto um pouco superior aos valores en-

contrados nas análises da soja IAC-8.

KUMAR, KAPOOR (1983) analisando 32 amostras de diferentes variedades de cereais e legumes, observaram que a quantidade de ácido fítico dos cereais variava de 0,5 a 1,13 g/100g e dos legumes de 0,34 a 1,11 g/100g. As amostras crua e cozida da soja IAC-8 apresentaram valores dentro dessa variação, com teores de 0,32 e 0,74 g/100g respectivamente.

Segundo WELCH, HOUSE (1982) a quantidade de ácido fítico presente na soja varia com o grau de maturação da semente, sendo maior em sementes maduras quando comparada com sementes imaturas portanto, variações na quantidade de ácido fítico são também esperadas.

LIENER (1981) relatou que o valor nutricional da soja é determinado tanto pela quantidade e disponibilidade dos aminoácidos pertencentes à sua proteína, quanto pelas condições do seu processamento. O valor nutricional da soja atinge o seu máximo quando a mesma é submetida a um aquecimento, pois a soja possui determinados fatores termo-sensíveis que interferem na utilização de sua proteína, como por exemplo os inibidores da tripsina, hemaglutininas, antivitaminas e o fitato.

Como podemos observar pela análise centesimal o aquecimento aumentou a concentração de proteína e de gordura da soja. Esse aumento ocorreu em função da desidratação produzida pelo aquecimento, que concentrou o material analisado. Em função desse processo de desidratação, o teor de umidade do grão de soja diminuiu de 9,1 para 8,5%.

Apesar do fitato ser considerado um fator termo-sensível, a sua concentração aumentou com o aquecimento na amostra utilizada, o que pode estar relacionado ao pouco tempo de aquecimento realizado e à desidratação produzida por esse aquecimento.

DeBOLAND, GARNER, O'DELL (1975) analisando a influência do aquecimento sobre vários produtos, observaram que a taxa de destruição do fitato era diferente entre eles e, que autoclave da soja por 36 minutos resultou em pouca perda do fitato.

HAGA (1982) revisando trabalhos sobre o fitato observou que somente altas temperaturas por tempo prolongado têm a capacidade de destruir o fitato, o que é inaceitável devido à diminuição da qualidade nutricional da proteína provocada pela destruição dos aminoácidos.

6.2 - Análise de Crescimento

A análise de crescimento mostrou que os animais alimentados com a dieta composta de farinha de soja complementada, apresentaram uma evolução de peso semelhante aos animais submetidos à dieta padrão porém, a curva de crescimento mostrou um paralelismo diferente (gráficos 1, 2 e 3). Desta forma a deficiência de aminoácidos sulfurados e a presença de ácido fítico na soja, não interferiram na evolução do crescimento desses animais.

A deficiência de aminoácidos sulfurados da soja foi relatada por KAKADE et al. (1972) entretanto, segundo KIES, FOX (1971) e, ZEJOLKA, CALLOWAY (1976) os derivados protéicos da soja podem satisfazer as exigências de aminoácidos mesmo sem comple-

mentação, dependendo da quantidade ingerida e de sua composição. Nesta forma a quantidade de farinha de soja ingerida pelos animais do grupo D (gráfico 4), pode ter sido suficiente para suprir essa deficiência.

Outro fator que pode estar relacionado à diminuição de crescimento em animais alimentados com soja é a presença de ácido fítico, que reduz a biodisponibilidade de zinco (O'DELL, SAVAGE, 1960; FORBES, YOHE, 1960; FORBES, 1964; DAVIS, KRISTIC, FLETT, 1977; JAFFE, 1981). Porém, para avaliar os efeitos do fítico sobre a biodisponibilidade de zinco é importante considerar a razão molar fítico/zinco e, segundo DAVIES, OLFIN (1979), somente razão molar acima de 15 produz significante redução do crescimento.

Apesar da dieta composta de farinha de soja completamente apresentar uma razão molar de 12, que não interferiu no crescimento, houve uma redução significativa no nível de zinco do fígur desses animais (gráfico 14) indicando uma diminuição na biodisponibilidade desse mineral, que pode estar relacionada à presença de ácido fítico.

SWENERTON, HURLEY (1968) e HURLEY (1969) também observaram crescimento normal em animais alimentados com isolado protéico de soja, que apresentavam sinais de deficiência marginal de zinco. Os animais submetidos à dieta composta de farinha de soja sem complementação apresentaram uma redução severa do crescimento, que foi semelhante aos animais alimentados com a dieta deficiente em zinco, sendo que a curva de crescimento destes tam-

bém mostrou um paralelismo diferente (gráfico 1, 2 e 3). Esses animais apresentaram níveis normais de zinco no fêmur (gráfico 14) de forma que, a redução de crescimento apresentada não está relacionada a deficiência desse mineral.

Por outro lado, esses animais desenvolveram um quadro de anorexia, como pode ser observado pela redução do consumo alimentar (gráfico 4) que, associado ao fato da soja ser desprovida de vitaminas D, B₁₂ e C, como também apresentar quantidades insignificantes de B-caroteno e colina (RACKIS, 1974) pode ter contribuído para a redução de crescimento apresentada.

A dieta deficiente em zinco produziu uma severa redução de crescimento nos animais estudados (gráficos 1, 2 e 3) semelhante a encontrada por LUECKE, OLMAN, BALTZER (1968) e HALSTED, SMITH Jr., IRWIN (1974).

Segundo HARLAND, OBERLEAS (1987) as alterações metabólicas responsáveis pelos sintomas da deficiência de zinco, parecem estar relacionadas às alterações na atividade enzimática, principalmente das enzimas tiaminoquinase, RNÁpolimerase e ribonuclease, sendo a tiaminoquinase, que é essencial para a síntese de DNA e para a divisão celular, a mais sensível à deficiência de zinco.

Associado a redução de crescimento, esses animais apresentaram um quadro de anorexia (gráfico 4) que foi também observado por WILLIAMS, HILL (1970) e JOHNSON, ALVARES (1984).

Os resultados da análise hematológica descritos anteriormente

mostraram que os valores de eritrometria (Gráfico 7) não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos portanto, a composição das dietas não alterou a produção de eritrócitos, apesar da dieta composta de farinha de soja sem complementação ser deficiente em vitamina B12 e a deficiência de zinco produzir um hipogonadismo, com consequente redução dos andrógenos, que são fatores que podem estimular a eritropoiese.

A faixa de variação encontrada nesse trabalho foi semelhante a relatada para ratos adultos por CRESKOFF, FITZ-HUGH, FARRIS (1949), que descrevem uma variação de 7 a 16 milhões com um valor médio de 9,27 milhões.

Os animais alimentados com a dieta deficiente em zinco, apesar de não apresentarem alterações na eritrometria, mostraram um aumento significativo da concentração de hemoglobina quando comparados aos animais submetidos às outras dietas (Gráfico 9). Essa relação inversamente proporcional entre o nível de zinco e a concentração de hemoglobina foi também relatada por outros autores como PETERING, JOHNSON, STEINER (1971), MURTHY, PETERING (1976) e CHAUDHRY, GANDOR, GERSON (1981).

Esse aumento da concentração de hemoglobina nos animais deficientes em zinco pode estar relacionado à interação zinco/cobre pois, segundo MURTHY, PETERING (1976) o zinco apresenta um efeito supressivo sobre a função, utilização ou absorção do cobre, de forma que a diminuição do nível de zinco aumenta a disponi-

nibilidade do cobre que por sua vez, pode induzir um aumento da atividade da ceruloplasmina, que é uma cuproproteína com atividade de ferroxidase que mobiliza o ferro para a síntese de porfirina, composto importante para a formação da hemoglobina.

Como consequência dessa alteração, observamos um aumento na concentração de hemoglobina por glóbulos nos animais deficientes em zinco, que apresentaram um CHCM (gráfico 10) significativamente maior quando comparado aos submetidos às outras dietas.

A concentração de hemoglobina nos animais submetidos às dietas padrão e à base de farinha de soja complementada com mistura mineral e vitamínica, não apresentou diferenças estatisticamente significantes apesar dos animais alimentados com a farinha de soja apresentarem uma diminuição da biodisponibilidade de zinco (gráfico 14).

Concentração de hemoglobina e valores de hematócrito semelhantes aos encontrados para as dietas padrão e composta de farinha de soja complementada, foram também observados por EDOZIEN, SWITZER (1977) para dietas com mesmos níveis de proteína e gordura das dietas A e D.

Por outro lado os animais submetidos à dieta composta de farinha de soja sem complementação, apresentaram valores de hemoglobina significativamente menores, podendo esse fato estar relacionado à carência de vitamina B12 na soja (RACKIS, 1974).

Em relação ao hematócrito observamos que não ocorreram diferenças significativas entre os valores obtidos para os grupos A, B e D (gráfico 8) enquanto que, os animais alimentados com a

dieta C apresentaram uma redução significativa dos valores de hematócrito. Os valores encontrados nesse trabalho estão dentro da faixa de variação encontrada para ratos normais por PAYNE et al. (1976) que vai de 37 à 53%.

Porém, PETERING, JOHNSON, STEHMER (1971) e HUBER, GERSHOFF (1973) observaram em ratos uma relação inversamente proporcional entre o consumo de zinco e os valores de hematócrito.

6.4 - Análise Testicular.

A análise histológica dos testículos dos animais submetidos à dieta padrão, apresentou aspectos de normalidade com os túbulos seminíferos possuindo tamanho normal e epitélio germinativo apresentando-se com aspecto normal, onde evidenciam-se as associações celulares compatíveis com os estádios da espermatogênese própria da espécie. São observados os estádios 1, 7 e 14 (Figura 1), portanto a dieta padrão utilizada nesse experimento permitiu um desenvolvimento normal dos testículos.

Os animais submetidos à dieta deficiente em zinco apresentaram um quadro histológico que incluiu atrofia de túbulos seminíferos, degeneração do epitélio germinativo, presença de células multinucleadas e grandes espermatídes com núcleo picnótico (figuras 3 e 4). Nos túbulos atróficos a espermatogênese vai até o cito I e, quanto ao estadiamento, são raras as imagens características do estádio 7.

Quadro histológico com características semelhantes as observadas nesse experimento foi também relatado por MACAPINLAC

et al. (1968), HURLEY (1969), DIAMOND, SWENERTON, HURLEY (1971) e MASON, BURNS, SMITH Jr. (1982) o que mostra um comprometimento no desenvolvimento do sistema reprodutor em animais deficientes em zinco.

DIAMOND, SWENERTON, HURLEY (1971) estudando o desenvolvimento e a reversibilidade das mudanças testiculares e esofageanas produzidas pela deficiência de zinco em ratos, relataram que os testículos são particularmente sensíveis à deficiência desse mineral, sendo que apenas uma semana de deficiência é suficiente para induzir alterações.

O hipogonadismo é considerado como a principal manifestação da deficiência de zinco em seres humanos e animais, contudo, os mecanismos que levam a essa condição não estão totalmente claros.

UNDERWOOD (1977) relata que o hipogonadismo é o resultado do retardo no crescimento e da inanição associados à deficiência de zinco, que são fatores conhecidos por afetar a secreção do eixo hipotálamo-hipófise-gônadal. Porém, LEI, ABBASI, FRASAD (1976) não encontraram alterações na resposta dos hormônios gonadotrópicos à estimulação pelo GnRH em animais zinco-deficiente.

ROOT et al. (1979) encontraram níveis basais normais de hormônios gonadotrópicos em animais zinco-deficiente e sugeriram que o eixo hipotálamo-hipófise-gônadal está intacto na deficiência de zinco.

McCLAIN, GAVALER, VAN THIEL (1984) examinaram os efeitos da deficiência de zinco sobre a função do eixo hipotálamo-hi-

pófise-gônadal, avaliando os níveis basais dos hormônios gonadotrópicos e dos seus hormônios liberadores como também a resposta desses hormônios à estimulação pelos seus respectivos fatores liberadores. Os autores observaram uma redução do nível basal de testosterona, um aumento da secreção de gonadotrofinas à estimulação pelo GnRH e uma redução da resposta das células de Leydig à estimulação pelo HCG, sugerindo que o hipogonadismo observado nos animais deficientes em zinco está provavelmente relacionado a um comprometimento das células de Leydig.

A análise dos testículos dos animais submetidos à farinha de soja sem complementação mineral e vitamínica, mostrou túbulos seminíferos com aspectos que variou desde a normalidade (figura 5) até outros atrofiados quanto ao seu tamanho e espessura do epitélio germinativo (figura 6) sendo que, nesses animais não se evidenciam os estádios característicos da espermatogênese da espécie, notando-se a ausência principalmente do estádio 7.

Os animais apresentaram ainda alguns túbulos seminíferos com células apresentando hiperchromatose (figura 6).

Esses animais apresentaram níveis normais de zinco no fêmur (gráfico 14), o que mostra que essas alterações não estão relacionadas à deficiência desse mineral porém, como discutido anteriormente, esses animais apresentaram uma drástica redução de crescimento provavelmente relacionada ao quadro de anorexia e de deficiências vitamínicas existentes na soja (RACKIS, 1974), o que deve ter corroborado com as alterações testiculares evidenciadas.

Os animais que foram alimentados com farinha de soja complementada, apresentaram um quadro histológico semelhante ao da dieta padrão (figura 2) apesar desses animais terem apresentado uma diminuição na biodisponibilidade de zinco (gráfico 14), que parece não ter sido suficiente para induzir alterações testiculares.

Segundo FORBES, YOKE (1960) o requerimento de zinco necessário para o desenvolvimento normal de ratos alimentados com isolado protéico de soja é de 18 ppm portanto, bem inferior ao encontrado para essa dieta.

A análise testicular dos animais utilizados nesse experimento revela ainda que, tanto o peso quanto a medida dos testículos dos animais submetidos à dieta padrão e à dieta composta de farinha de soja complementada com mistura mineral e vitamínica, foram significantemente maiores quando comparados aos animais alimentados com farinha de soja sem complementação e os submetidos à dieta deficiente em zinco, sendo que estes dois últimos apresentaram valores semelhantes (gráficos 11 e 12).

MACAFINLAC et al. (1968) e DIAMOND, SWENERTOW, HURLEY (1971) também encontraram em seus trabalhos grande redução do peso testicular em animais deficientes em zinco quando comparados ao seus controles ad libitum porém, McCLAIN, GAVALER, VAN THIEL (1984) não observaram diferenças significativas quando compararam animais deficientes em zinco com animais submetidos a controle de peso por restrição alimentar.

SALEM et al. (1984) também relataram em animais deficientes em zinco uma grande redução no crescimento testicular, e

sugeriram que essa redução está relacionada a um comprometimento no processo de maturação dos espermatozoides devido à falta de zinco. Associado a esse fato, foi observado uma redução do crescimento do epidídimo, o que indica a ausência de migração de espermatozoides maduros para esse órgão.

6.5 - Análise das Glândulas Submandibulares

A análise histológica das glândulas submandibulares dos animais submetidos à dieta padrão apresentou aspectos de normalidade (figura 7). Os animais submetidos à dieta deficiente em zinco mostraram atrofia das glândulas submandibulares sem distinção entre os elementos seroso e mucoso, com ácinos pouco delimitados e ausência de ductos granulados (figura 8).

Segundo KIRETTI et al. (1985) as glândulas submandibulares são andrógenos dependentes e, como esses animais apresentaram drásticas alterações testiculares produzidas pela deficiência de zinco acreditamos que essas alterações das glândulas submandibulares podem estar, em parte, relacionadas com a deficiência de testosterona e ao quadro de anorexia desenvolvido por esses animais. Por outro lado, não podemos descartar a existência de outros mecanismos incluindo um efeito direto do zinco no desenvolvimento dessas glândulas.

Os animais alimentados com farinha de soja sem complementação apresentaram um arranjo estrutural desta glândula preservado quanto aos seus componentes acinosos e ductais contudo, nota-se uma atrofia de ácinos e núcleos celulares diminuídos. A

análise histológica dessas glândulas mostra ainda cromatina mais condensada e ausência de ductos granulosos (figura 9).

Essas alterações podem estar relacionadas ao hipogonadismo evidenciado pelas alterações testiculares, ao quadro de anorexia desenvolvido por esses animais (gráfico 4) e as deficiências apresentada pela soja (RACKIS, 1974).

Em relação aos animais alimentados com farinha de soja complementada, observamos na análise histológica das glândulas submandibulares, uma hipertrofia acentuada do componente ductal, principalmente com relação ao seu componente granular (figura 10), o que sugere uma hiperfunção dessas glândulas. Esse aumento da atividade glandular pode estar relacionado ao elevado nível protéico apresentado por essa dieta uma vez que, entre os fatores ativos que as células dos ductos granulosos possuem estão incluídos proteases (GRESIK, SCHENKEIN, BARKA, 1979).

Em relação ao peso dessas glândulas observamos uma redução significativa nos animais submetidos às dietas B e C, quando comparado com o controle (gráfico 13), que pode estar relacionado ao quadro de anorexia e redução de crescimento apresentados por esses animais. Por outro lado nos animais alimentados com a dieta composta de farinha de soja complementada, nota-se um aumento significativo no peso das glândulas que parece estar relacionado à hipertrofia dessas glândulas.

6.6 - Análise de Zinco no fêmur

A concentração de zinco no fêmur é um dos parâmetros mais utilizados para avaliar a biodisponibilidade de zinco em ratos. MONCILOVIC, BELONJE, SHAH (1975) realizaram um experimento procurando determinar dentre os tecidos, o mais indicado para avaliar a disponibilidade de zinco em ratos jovens, e observaram que o peso corporal e o zinco total no fêmur foram os parâmetros que melhor adaptaram-se ao estudo da biodisponibilidade deste mineral.

MONCILOVIC et al. (1975) realizaram uma complementação desse trabalho inicial e concluíram que a quantidade de zinco total no fêmur era o melhor parâmetro para a avaliação da biodisponibilidade de zinco em ratos.

A análise de zinco no fêmur realizada nesse experimento (gráfico 14), mostrou que os animais submetidos à dieta deficiente em zinco e a dieta baseada em farinha de soja complementada com mistura mineral e vitamínica, tiveram nível de zinco significamente menor do que os animais submetidos a dieta padrão. Os animais alimentados com a dieta deficiente em zinco tiveram uma concentração média de zinco no fêmur de 94,63 ppm enquanto que, nos animais alimentados com a farinha de soja complementada, essa concentração foi de 157,53 ppm.

SWENERTON, HURLEY (1968) estudando animais alimentados com uma dieta contendo 1 ppm de zinco durante 4 semanas, encontraram uma concentração de zinco no fêmur de 102 ppm.

MONCLOVIC et al. (1975) relataram que, após 4 semanas, a concentração de zinco no fêmur, em dieta contendo 6 ppm de zinco adicionado como sulfato de zinco, foi de 68 ppm e quando a concentração de zinco da dieta foi aumentada para 12 ppm a concentração de zinco no fêmur aumentou para 185 ppm.

MASON, BURNS, SMITH Jr. (1982) estudando ratos deficientes em zinco observaram que após 26 dias ocorreu uma grande redução na concentração de zinco no osso. Os autores encontraram uma concentração de 61 ppm nos animais zinco-deficientes contra 255 ppm nos controles zinco-suficientes ad libitum.

Apesar de apresentar uma redução na concentração de zinco no fêmur, os animais alimentados com farinha de soja complementada tiveram um valor médio dessa concentração significativamente maior do que os animais deficientes em zinco (157,33 ppm x 74,64 ppm) o que mostra que a redução na biodisponibilidade desse mineral apresentada por esses animais, foi menos severa do que a dos animais submetidos à dieta deficiente em zinco.

Vários autores como O'DELL, BURPO, SAVAGE (1972), MONCLOVIC et al. (1976) e GRESEK, MULVANEY (1985) verificaram que a biodisponibilidade de zinco nos produtos de soja é menor do que nos produtos de origem animal. Existem grandes evidências de que o ácido fítico reduz a biodisponibilidade do zinco, e como a soja possui ácido fítico, a redução da biodisponibilidade desse mineral na dieta composta de farinha de soja complementada com mistura mineral e vitamínica pode estar relacionada à presença do mesmo.

Um resultado interessante de ser observado é que a concentração de zinco no fêmur dos animais alimentados com farinha de soja sem complementação mineral e vitamínica, mostrou um valor médio que não apresentou diferenças estatisticamente significantes quando comparado aos animais alimentados com a dieta padrão (231,67 ppm x 229,83 ppm) e, portanto esses animais não tiveram redução na biodisponibilidade desse mineral apesar de serem alimentados com farinha de soja.

HAMBIDGE, CASEY, KREBS (1967) em trabalho de revisão relataram que, nos animais em crescimento, uma dieta deficiente em zinco reduz a concentração deste no osso. Como os animais alimentados com a farinha de soja sem complementação, tiveram comprometido o seu crescimento, é possível que não tenha ocorrido necessidade de mobilização deste mineral à nível ósseo.

Essa drástica redução de crescimento observada nos animais submetidos à dieta de soja sem complementação possivelmente esta relacionada às deficiências apresentadas pela soja (RACKIS, 1974).

Como podemos observar, pelos relatos apresentados, o consumo da soja em função do seu alto valor nutritivo e baixo custo de produção têm aumentado nos dias atuais. A análise centesimal do grão de soja utilizado nesse experimento mostrou a alta qualidade nutricional da soja contendo, a presença de fatores antinutricionais que podem produzir reações adversas no organismo, a deficiência de vitaminas e a baixa qualidade de sua proteína, parece tornar limitada a utilização da soja como fonte única de alimento.

No presente trabalho observamos que os animais deficientes em zinco apresentaram drástica redução do crescimento, alopecia, anorexia e, em um dos animais verificamos, além dos sinais acima descritos, lesões dermais na região abdominal, lesões do globo ocular, estado de debilidade generalizado e postura de canguru. Esses animais apresentaram ainda alterações hematológicas, caracterizada por aumento da concentração de hemoglobina e, alterações histológicas das glândulas submandibulares e dos testículos.

Os animais alimentados com farinha de soja complementada com mistura mineral e vitamínica, apresentaram uma redução na biodisponibilidade de zinco que não foi suficiente para alterar a concentração de hemoglobina, o desenvolvimento testicular e o crescimento desses animais. Por outro lado, observamos uma hipertrofia das glândulas submandibulares, com desenvolvimento acentuado dos ductos granulosos, que pode indicar uma maturação precoce dessas glândulas.

Os animais alimentados com farinha de soja sem complementação mineral e vitamínica, apresentaram um quadro generalizado de deficiências, envolvendo diminuição da concentração de hemoglobina e do hematócrito, alterações histológicas a nível testicular e de glândulas submandibulares e uma drástica redução do crescimento. Essas alterações foram atribuídas ao quadro de anorexia desenvolvido por esses animais e as deficiências, principalmente vitamínica, apresentada pela soja.

Os resultados mostraram que a dieta à base de farinha de soja sem complementação possui um alto grau de deficiência que

associado ao fato de apresentar um baixo coeficiente de eficiência alimentar (gráfico 5) e uma baixa razão de eficiência proteica (gráfico 6) impedem a sua utilização como fonte única de alimento. A dieta composta de farinha de soja complementada apresentou um elevado coeficiente de eficiência alimentar (gráfico 5) porém, um baixo valor de razão de eficiência proteica (gráfico 6) e uma redução na biodisponibilidade de zinco (gráfico 14) que, associados ao fato dessa dieta ter induzido hipertrofia das glândulas submandibulares, é suficiente para sugerirmos que mais pesquisas devem ser realizadas, procurando-se avaliar outros órgãos, para uma melhor análise da eficácia dessa dieta.

Os resultados sugerem, a princípio, que a soja em função de suas qualidades nutricionais, principalmente seu elevado teor proteico, deve ser utilizada como um complemento alimentar e não como fonte única de alimento, mesmo quando complementada com mistura mineral e vitamínica.

7 - CONCLUSÕES

A análise e discussão dos resultados obtidos neste trabalho permite-nos concluir que:

1 - Os animais do grupo D (soja complementada) tiveram crescimento comparável aos do grupo controle e os animais do grupo C (soja sem complementação) tiveram uma redução severa do crescimento, comparável aos animais alimentados com a dieta deficiente em zinco.

2 - Os animais do grupo C (soja sem complementação), bem como os do grupo B (deficientes em zinco), apresentaram alterações histológicas a nível testicular e de glândulas submandibulares. Os animais do grupo D (soja complementada) somente apresentaram alterações histológicas a nível das glândulas submandibulares.

3 - Os animais do grupo C (soja sem complementação) apresentaram níveis de zinco no fêmur semelhantes ao grupo controle entretanto, nos animais do grupo D (soja complementada) houve uma significativa redução desse mineral a nível ósseo.

4 - Os animais do grupo C (soja sem complementação) apresentaram redução na concentração de hemoglobina e nos valores de hematócrito. Os animais do grupo B (deficientes em zinco)

apresentaram uma elevação significativa da concentração de hemoglobina corpuscular média. Os animais do grupo D (soja complementada) não apresentaram alterações hematológicas.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

01. ABBASI, A.A. et al. Experimental zinc deficiency in man : effect on testicular function. J. Lab. Clin. Med., v. 96, p. 544-49, 1980.
02. ABDO, Néder. Receitas de soja. A soja - essa desconhecida na mesa dos brasileiros. [S.l.] : Tipogr. São Domingos, 1980.
03. ADDER, A.A. Composição química da soja. Síriel Agrícola, v. 4, p. 19, 1963.
04. ALVAREZ, O. , JOHNSON, D. Effects of zinc deficiency on rat parotid gland. Journal of Oral Pathology, v. 10, p. 430-35, 1981.
05. ANONYMUS Phytate and zinc bioavailability. Nutr. Rev. v. 37, n. 11, p. 365-66, 1979.
06. ANONYMUS Soja - Um alimento rico que o brasileiro ainda não colocou em seu cardápio diário. Planejamento & Desenvolvimento, v. 79, n. 7, p. 20-3, 1980.
07. ANONYMUS Temos a soja, mais poucos sabem o que fazer com ela. Aliment. & Nutr., v. 2, n. 4, p. 14-9, Abr/Jun. 1981.

08. ANTUNES, P. L. , SGARBIERI, V. C. Processing effects on the nutritive value of soybean seeds and products. Arch. Latinam. Nutr., v. 27, n. 1, p. 33-47, 1980.
09. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS Official Methods of Analytical of the Association of Official Analytical Chemists Med., 11. ed., Washington: AOAC, 1970.
10. APGAR, J. Zinc and reproduction. Ann. Rev. Nutr., v. 5, p. 43-68, 1985.
11. BARNEY, G. H. , ORGEBIN-CRIST, M. C. , MACAPINLAC, M. P. Genesis of esophageal parakeratosis and histologic changes in the testes of the zinc-deficient rat and their reversal by zinc repletion. J. Nutr., v. 95, p. 526-34, 1968.
12. BROOK, A. C. et al. Absence of a therapeutic effect of zinc in the sexual dysfunction of Haemodialysed Patients. Lancet, v. 2, p. 618-22, 1980.
13. BYRD, C. A. , MATRONE, G. Investigations of chemical basis of zinc-calcium-phytate interaction in biological systems. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v. 119, p. 347-49, 1965.
14. CARRÃO-PANIZZII, M. C. Soja proteína para milhões. Ciências Hoje, v. 6, n. 33, p. 25-31, 1987.

15. CARROL, K. K. et al. Hypcholesterolemic effect by substituting soybean protein for animal protein in the diet of healthy young women. Am. J. Clin. Nutr., v. 31, p. 1312-321, 1978.
16. CASTRO-MAGANA, M. et al. Zinc nutritional status, androgens and growth retardation. Am. J. Dis. Child., v. 135, p. 322-25, 1981.
17. CEDRAZ, L. C. , LOCKWOOD, R. M. Soja como alternativa na alimentação infantil numa comunidade no nordeste do brasil. Arch. Latinoam. Nutr., v. 33, n. 4, p. 861-73, 1983.
18. CHAUDHRY, I. M. , MEYER, J. Response of submandibular gland of the rat to nutritional zinc deficiency. J. Nutr., v. 109, p. 316-20, 1979.
19. CHAUDHRY, I. M. , GANDOR, D. W. , GERSON, S. J. Reduction of carbonic anhydrase activity in the submandibular salivary glands of zinc-deficient Rats. Archs. Oral Biol., v. 26, p. 399-402, 1981.
- 20) CHURELLA, H. R. , VIVIAN, V. M. Effect of phytic acid level in soy protein based infant formulas on mineral availability in the rat. J. Agric. Food Chem., v. 37, p. 1352-357, 1989.

21. COOK, J. P. , MORCK, T. A. , LYNCH, S. R. The inhibitory effect of soy products on nonheme iron absorption in man. Am. J. Clin. Nutr., v. 34, p. 2622-2629, 1981.
22. COSTA, S. I. et al. O emprego da soja na alimentação humana. Bol. IIAL, Campinas, v. 46, p. 1-24, Jun. 1976.
23. CRESKOFF, A. J. , FITZ-HUGH Jr., T. , FARRIS, E. J. Hematology of the rat - methods and standards In: FARRIS, E. J. , GRIFFITH Jr., J. O. The rat in laboratory investigation. New York : Hafner Press, 1949 p. 406-20.
24. DAVIES, N. T. , HRISTIC, V. , FLETT, A. A. Phytate rather than fiber in bran as the major determinant of zinc bioavailability in rats. Nutr. Rep. Int., v. 15 , p. 207-15, 1977.
25. DAVIES, N. T. , OLPIN S. E. Studies on the phytate:zinc molar contents in diets as a determinant of zinc availability to young rats. Br. J. Nutr., v. 41, n. 3, p. 591-603, 1979.
26. DeBOLAND, A. R. , GARNER, G. B. , O'DELL, B. L. Identification and properties of "phytate" in cereal grains and oilseed products. J. Agric. Food Chem., v. 23, n. 6, p. 1186-1189, 1975.

27. DEL VALLE, F. R. Nutritional qualities of soya protein as affected by processing. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 58, n. 3, p. 419-29, 1981.
28. DIAMOND, J. , SWENERTON, R. , HURLEY, L. S. Testicular and esophageal lesion in zinc-deficient rats and their reversibility. J. Nutr., v. 101, p. 77-84, 1971.
29. DONANGELO, C. M. , AZEVEDO, C. E. Zinco sérico em crianças brasileiras de famílias de baixa renda. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, v. 34, n. 2, p. 290-97, 1984.
30. EDOZIEN, J. C. , SWITZER, B. R. Effects of dietary protein, fat and energy on blood hemoglobin and hematocrit in the rat. J. Nutr., v. 107, p. 1016-21, 1977.
31. ELLIS, R. , MORRIS, E. R. Relation between phytic acid and trace metal in wheat bran and soybean. Cereal Chem., v. 58, n. 5, p. 367-70, 1981.
32. ERDMAN JR., J. W. Oilseed phytate: nutritional implications. Journal of the American Oil Chemists Society, v. 56, p. 736-41, 1979.
- 33) ERDMAN JR., J. W. , FORBES, R. M. Effects of soya protein on mineral availability. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 58, p. 409-93, 1981.

34. ERDMAN JR., J. W. , FORDYCE, E. J. Soy products and the human diet. Am. J. Clin. Nutr., v. 49, p. 725-37, 1989.
35. FOLLIS JR., R. H. , DAY, H. G. , MCCOLLUM, E. V. Histological studies of the tissues of rats fed a diet extremely low in zinc. J. Nutr., v. 22, p. 223-37, 1941.
36. FORBES, R. M. Mineral utilization in the rat. III - Effect of calcium, phosphorus, lactose and source of protein in zinc-deficient and in zinc-adequate diets. J. Nutr., v. 83, p. 225-33, 1964.
37. FORBES, R. M. , YOKE, M. Zinc requirement and balance studies with the rat. J. Nutr., v. 70, p. 53-57, 1960.
38. GRAF, E. , EATON, J. W. Availability of zinc as affected by phytate. Nutr. Rep. Int., v. 28, n. 1, p. 103-11, 1984.
39. GREGER, J. L. , MULVANEY, J. Absorption and tissue distribution of zinc, iron and copper by rats fed diets containing lactalbumin, soy and supplemental sulfur-containing aminoacids. J. Nutr., v. 115, n. 2, p. 200-10, 1985.
40. GRESIK, E. W. , SCHENKEIN, I. , BARKA, T. Immunocytochemical localization of proteases in mature and developing mouse submandibular glands. Anat. Rec., v. 193, p. 554, 1979.

41. GRUNDY, S. M. , ABRAMS, J. J. Comparison of actions of soy protein and casein on metabolism of plasma lipoproteins and cholesterol in humans. Am. J. Clin. Nutr., v. 38, p. 245-52, 1983.
42. HALSTED, J. A. , SMITH JR., J. C. , IRWIN, M. I. A conspectus of research on zinc requirements of man. The Journal of Nutrition, v. 104, n. 3, p. 345-78, 1974.
43. HAMBIDGE, K. M. , CASEY, C. E. , KREBS, N. F. Trace elements in human and animal nutrition. New York : Academic Press, 1987. p. 499.
44. HAMBIDGE, K. M. et al. Zinc nutrition of preschool children in the denver head start program. Am. J. Clin. Nutr., v. 29, p. 734-38, 1976.
45. HARLAND, B. F. , OBERLEAS, D. Phytate in food. Wld. Rev. Nutr. Diet., v. 52, p. 235-59, 1987.
46. HIDIROGLOU, M. , KNIPFEL, J. E. Zinc in mammalian sperm : a review. Journal of Dairy Science, v. 67, n. 6, p. 1147-156, 1984.
47. HUBER, A. M. , GERSHOFF, S. N. Effects of dietary zinc on zinc enzymes in the rat. J. Nutr., v. 103, p. 1175-81, 1973.

48. HURLEY, L. S. Zinc deficiency in the developing rat. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 22, n. 10, p. 1332-39, 1969.
49. JAFFE, G. Phytic acid in soybeans. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 58, p. 493-5, 1981.
50. JOHNSON, D. A. , ALVARES, O. F. Zinc-deficiency-induced change in rat parotid salivary proteins. J. Nutr., v. 114, p. 1935-964, 1984.
51. KAKADE, M. L. et al. Biochemical and nutritional assessment of different varieties of soybeans. J. Agr. Food Chem., v. 20, n. 1, p. 87-90, 1972.
52. KAWAMURA, S. : Tech. Bull. Faculty Agric. Kagawa Univ. 18 , 117. 1967 ; in Waggle, D. H. and Kolar, C. W. : Types of Soy Protein Products. Soy Protein and Human Nutrition. Academic Press Inc. p. 19-51. 1979.
53. KELLOR, R. L. Defatted soy flour and grits. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 51, p. 77A-80A, 1974.
54. KIES, C. , FOX, H. M. Comparison of the protein nutritional value of TVP, methionine-enriched TVP, and beef at two levels of intake for human adults. J. Food Sci., v. 36, p. 841-45, 1971.

55. KRUG, F. J. et al. Rapid determination of sulphate in natural waters and plant digests by continuous flow injection turbidimetry. Analyst, v. 102, p. 503-08, 1977.
56. KUMAR, V. , KAPOOR, A. C. Availability of zinc as affected by phytate. Nutr. Rep. Int., v. 28, n. 1, p. 103-11, 1983.
57. LAM-SÁNCHEZ, A. Production and nutritive value of soybeans. Arch. Latinoam. Nutr., v. 28, n. 2, p. 155-68, 1978.
58. LATTI, H. , ESKIN, M. A simple and rapid calorimetric method for phytate determinations. Agric. and Food Chem., v. 27, p. 1313-15, 1980.
59. LEI, K. Y. , ABBASI, A. , FRASAD, A. S. Function of pituitary-gonadal axis in zinc deficient rats. Am. J. Physiol., v. 230, p. 1730-732, 1976.
60. LIENER, I. Factors affecting the nutritional quality of soy products. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 58, p. 406-15, 1981.
61. _____ Significance for humans of biologically active factors in soybeans and other food legumes. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 56, p. 121-29, 1979.

62. LIKUSKI, M. J. A. , FORBES, R. M. Mineral utilization in the rat. IV - Effects of calcium and phytic acid on the utilization of dietary zinc. J. Nutrition, v. 85, p. 230-34, 1965.
63. LOLAS, G. M. , PALAMIDIS, N. , MARKAKIS, P. The phytic acid-total phosphorus relationship in barley, oats, soybeans and wheat. Cereal Chemistry, v. 53, n. 6, p. 867-71, 1976.
64. LUECKE, R. W. , OLMAN, M. E. , BALTZER, B. V. Zinc deficiency in the rat : effect on serum and intestinal alkaline phosphatase activities. J. Nutr., v. 94, n. 3, p. 344-50, 1968.
65. MACAFINLAC, M. P. et al. Protein and nucleic acid metabolism in the testes of zinc-deficient rats. J. Nutr., v. 95, p. 569-77, 1968.
66. MACAFINLAC, M. P. , PEARSON, W. N. , DARBY, W. J. Some characteristics of zinc deficiency in the albino rat In : Zinc Metabolism. Springfield, Ill. : Anada S. Prasad, 1966 p. 142-68.
67. MADDAIAN, V. T. , KURNICK, A. A. , REID, B. L. Phytic acid studies. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v. 115, p. 391-93, 1964.

68. NAGA, J. A. Phytate : its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. J. Agric. Food Chem., v. 30, n. 1, p. 1-9, 1982.
69. MARCOS FILHOS, J. et al. Soia - produção, pré-processamento e transformação agroindustrial. [S.l.] : Secr. da Indústria, Comércio, Ciências e Tecnologia, 1982 p. 1-97.
70. MASON, K. E. , BURNS, W. A. , SMITH JR., J. C. Testicular damage associated with zinc deficiency in pre and postpuberal rats : response to zinc repletion. J. Nutr., v. 112, p. 1019-026, 1982.
71. MCCLAIN, C. J. , GAVALER, J. S. , VANTHIEL, D. H. Hypogonadism in the zinc-deficient rat : localization of the functional abnormalities. J. Lab. Clin. Med., v. 104, p. 1007-015, 1984.
72. MILES, D. A. Functions of zinc : a literature resume. Journal of Oral Medicine, v. 37, n. 3, p. 95-7, 1982.
73. MINETTI, C.A.S.A. et al. Differential actions of testosterone and its metabolites on mice submandibular gland. Jour. Biol. Buccale, v. 13, p. 205-13, 1985.

74. MOMCILOVIC, B. et al. Bioavailability of zinc in milk and soy protein based infant formulas. J. Nutr., v. 106, n. 7, p. 913-17, 1976.
75. MOMCILOVIC, B. et al. Total femur zinc as the parameter of choice for a zinc bioassay in rats. Nutrition Reports International, v. 12, n. 3, p. 197-203, 1975.
76. MOMCILOVIC, B. , BELONJE, B. , SHAH, B. G. Suitability of young rat tissue for a zinc bioassay. Nutrition Reports International, v. 11, n. 5, p. 445-52, 1975.
77. MORRIS, E. R. , ELLIS, R. Bioavailability to rats of iron and zinc in wheat bran : response to low phytate bran and effect of the phytate/zinc molar ration. J. Nutr., v. 110, p. 2000-010, 1980a.
78. _____ Effect of dietary phytate/zinc molar ration on growth and bone zinc response of rats fed semipurified diets. J. Nutr., v. 110, p. 1037-045, 1980b.
79. MURTHY, L. , PETERING, H. G. Effect of dietary zinc and copper interrelationships on blood parameters of the rat. J. Agric. Food Chem., v. 24, n. 4, p. 808-11, 1976.
80. NAS/NRC Proposed fortification policy for cereal-grain products. Washington, D. C. : National Research Council, 1974.

81. OBERLEAS , D. , MUHRER, M. E. , O'DELL, B. L. Dietary metal-complexing agents and zinc availability in the rat. J. Nutrition, v. 90, p. 56-62, 1966.
82. OBERLEAS , D. , PRASAD, A. S. Growth as affected by zinc and protein nutrition. Am. J. Clin. Nutr., v. 22, n. 10, p. 1304-314, 1969.
83. O'DELL, B. L. Effect of soy protein on trace mineral availability : soy protein and human nutrition. New York : Academic Press, 1979. p. 187-207.
84. O'DELL, B. L. , BURPO, C. E. , SAVAGE, J. E. Evaluation of zinc availability in foodstuffs of plant and animal origin. J. Nutr., v. 102, p. 633-60, 1972.
85. O'DELL, B. L. , SAVAGE, J. E. Effect of phytic acid on zinc availability. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v. 103, p. 304-05, 1960.
86. OLIVEIRA, J. E. D. Desafio brasileiro : alimentar adequadamente 110 milhões de habitantes. Bol. Informativo ABIA/SABRAQ, v. 26, p. 43-53, set. 1976.
87. OLIVEIRA, J. E. D. , SANTOS, J. E. Soybean products for feeding infants, children and adults Under Nutritional Stress. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 58, p. 366-70, 1981.

88. GSBORN, T. W. Elemental composition of soybean meal and interlaboratory performance. J. Agric. Food Chem., v. 25, n. 2, p. 229-232, 1977.
89. PAYNE, B. J. et al. Hematology of laboratory animal. In : MELBY Jr., E. C., OLTHAN, R.H., ed. Handbook of Laboratory Animal Science, Cleveland, Ohio : CRS Press, 1976. p. 383.
90. PETERING, H. G. , JOHNSON, M. A. , STEMMER, K. L. Studies of zinc metabolism in the rat. I-dose-response effects of cadmium. Arch. Environ. Health, v. 23, p. 93-101, 1971.
91. FORIES, W. J. et al. Acceleration of wound healing in man with zinc sulphate given by mouth. The Lancet, v. 1, p. 121-24, 1967.
92. PRASAD, A. S. Clinical, biochemical and nutritional spectrum of zinc deficiency in human subjects : an update. Ann. N.Y. Acad. Sci., v. 41, n. 7, p. 35-51, jul. 1983.
93. PRASAD, A. S. Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. Am. J. Clin. Nutr., v. 53, p. 403-12, 1991.
94. PRASAD, A. S. , HALSTED, J. A. , NADINI, M. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. Am. J. Med., v. 31, p. 532-55, 1961.

95. PRASAD, A. S. et al. Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hypogonadism and dwarfism. J. Lab. Clin. Med., v. 61, p. 537-49, 1963.
96. FRINGLE, W. Full-fat soy flour. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 51, p. 74A-76A, 1974.
97. RACKIS, J. J. Biological and physiological factors in soybeans. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 51, p. 161A-174A, 1974.
98. REDDY, N. R. , SATHE, S. K. , SALUNKHE, D. K. Phytates in legumes and cereal. Adv. in Food Research, v. 28, p. 1-72, 1982.
99. REINHOLD, J. G. High phytate content of rural iranian bread a possible cause of human zinc deficiency. Am. J. Clin. Nutr., v. 24, p. 1204-206, 1971.
100. REPORT OF THE AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION Ad. Hoc. Committee on Standards for Nutritional Studies. J. Nutr., v. 107, p. 1340-48, 1977.
101. ROOT, A. W. et al. Effects of zinc deficiency upon pituitary function in sexually mature and immature male rats. J. Nutr., v. 109, p. 958-64, 1979.

102. RUSSELL, R. M. , COX, M. E. , SALOMONS, N. Zinc and the special senses. Annals of Internal Medicine, v. 99, p. 227-39, 1983.
103. SALEM, S. I. et al. Response of the reproductive system of male rats to protein and zinc deficiency during puberty. Ann. Nutr. Metab., v. 28, p. 44-51, 1984.
104. SANDSTEAD, H. H. Zinc nutrition in the united states. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 26, p. 1251-260, 1973.
105. SHOREY, R. L. et al. Determinants of hypercholesterolemic response to soy and animal protein-based diets. Am. J. Clin. Nutr., v. 34, p. 1769-778, 1981.
106. SHRIMPTON, R. et al. Estudo sobre o estado nutricional em relação ao zinco na amazônia. I - Níveis de zinco no sôro e ingestão de zinco em operários de manaus, 1978. Acta Amazonica, v. 13, n. 1, p. 73-94, 1983.
107. SILVA, D. J. Análise de alimentos - Métodos químicos e biológicos. Viçosa (MG) : Universidade Federal 1981. 166 p.
108. SPRENGER, K. B. G. et al. Zinc and sexual dysfunction. Contr. Nephrol., v. 38, p.119-25, 1984.

109. STUART, S.M.A. et al. Absorption of zinc and iron by rats fed meals containing sorghum food products. J. of Cereal Science, v. 6, p. 81-90, 1987.
110. SWENERTON, H. , HURLEY, L. S. Severe zinc deficiency in male and female rats. J. Nutrition, v. 95, p. 8-18, 1968.
111. TRAVAGLINI, D. A. et al. Composição química e características nutricionais do extrato de soja em pó. Bol. IIAL, v. 18, n. 3, p. 383-93, jul/set. 1981.
112. TORUM, B. , VITERI, F. E. , YOUNG, V. R. Nutritional role of soya protein for humans. J. Am. Oil Chem. Soc., v. 58, p. 400-06, 1981.
113. TURATTI, J. M. et al. Estudos preliminares com cultivares de soja para produção de leite. Bol. IIAL, v. 16, n. 3, p. 289-305, 1979.
114. UNDERWOOD, E. J. Trace elements in human and animal nutrition. New York : Academic Press, 1977. p. 196.
115. WADA, L. L. , KING, J. C. Clinical, tissue and biochemical signs of zinc deficiency. Comprehensive Therapy, v. 9, n. 4, p. 45-50, 1983.

116. WELCH, R. M. , HOUSE, W. A. Availability to rats of zinc from soybean seed as affected by maturity of seed, source of dietary protein and soluble phytate. J. Nutr., v. 112, p. 879-885, 1982.
117. WILLIAMS, R. B. , MILLS, C. F. The experimental production of zinc deficiency in the rat. Br. J. Nutr., v. 24, n. 4, p. 989-1003, 1970.
118. WOLFE, B. M. et al. Hypolipidemic effect of substituting soybean protein isolate for all meat and dairy protein in the diets of hypercholesterolemic men. Nutr. Rep. Int., v. 24, n. 6, p. 1167-198, 1981.
119. YOUNG, V.R. , JANGHORBANI, M. Soy proteins in human diets in relation to bioavailability of iron and zinc : a brief overview. Cereal Chem., v. 58, n. 1, p. 12-8, 1981.
120. ZEZULKA, A. Y. , CALLOWAY, D. H. Nitrogen retention in men fed varying levels of aminoacids from soy protein with or without added L-methionine. J. Nutr., v. 106, p. 212-21, 1976.

09 - APÊNDICE

Quadro 11 - Distribuição dos animais segundo valores individuais e médias do peso inicial dos animais submetidos às dietas A, B, C e D.

ANIMAIS	PESO INICIAL DOS ANIMAIS (GRAMAS)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	54,1	45,7	56,1	64,0
02	51,3	47,2	58,9	65,0
03	44,7	59,2	56,3	68,5
04	45,0	61,9	61,8	63,4
05	55,6	59,6	57,2	62,5
06	58,7	59,6	59,9	69,6
MÉDIAS	51,6	55,53	58,37	65,5

Quadro 12 - Distribuição segundo valores individuais e médias do peso final, dos animais submetidos às dietas A, B, C e D.

ANIMAIS	PESO FINAL DOS ANIMAIS (GRAMAS)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	280,3	101,8	69,2	223,3
02	270,3	39,8	81,4	283,7
03	275,5	121,4	69,3	311,2
04	225,4	128,8	81,2	292,4
05	237,7	127,4	87,3	274,3
06	235,6	124,6	107,8	301,2
MÉDIAS	254,1	120,8	82,7	281,02

Quadro 13 - Distribuição dos animais submetidos às dietas A, B, C e D segundo valores individuais e médias do consumo diário de ração.

ANIMAIS	CONSUMO DIÁRIO DE RAÇÃO (GRAMAS)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	15,07	5,83	6,31	9,93
02	15,06	4,95	7,36	12,29
03	15,01	7,24	6,54	12,74
04	14,33	7,11	7,03	12,73
05	13,99	7,24	6,91	12,01
06	14,24	6,79	6,06	12,37
MÉDIAS	14,62	6,53	6,70	12,01

Quadro 14- Distribuição dos animais segundo valores individuais e médias do coeficiente de eficiência alimentar das dietas A, B, C e D.

ANIMAIS	COEFICIENTE DE EFICIÊNCIA ALIMENTAR			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	0,243	0,201	0,033	0,235
02	0,236	-0,044	0,049	0,236
03	0,250	0,153	0,033	0,287
04	0,203	0,167	0,045	0,267
05	0,207	0,164	0,071	0,254
06	0,197	0,171	0,102	0,272
MÉDIAS	0,223	0,135	0,056	0,262

Quadro 15- Distribuição dos animais segundo valores individuais e médias da razão de eficiência protéica das dietas A, B, C e D.

ANIMAIS	RAZÃO DE EFICIÊNCIA PROTÉICA			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	1,62	1,34	0,08	0,56
02	1,57	-----	0,12	0,61
03	1,66	1,02	0,08	0,68
04	1,36	1,11	0,11	0,63
05	1,38	1,09	0,17	0,60
06	1,31	1,14	0,24	0,64
MÉDIAS	1,48	1,14	0,13	0,62

Quadro 16 - Distribuição dos animais submetidos às dietas A, B, C e D segundo valores individuais e médias da medida Testicular.

ANIMAIS	MEDIDA TESTICULAR (cm)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	1,95	1,48	1,50	2,11
02	2,00	1,20	1,62	2,10
03	1,96	1,59	1,10	2,12
04	2,02	1,62	1,70	1,98
05	2,01	1,61	1,40	2,08
06	2,08	1,52	1,64	2,00
MÉDIAS	2,00	1,503	1,493	2,065

Quadro 17 - Distribuição dos animais segundo valores individuais e médias do peso testicular.

ANIMAIS	PESO TESTICULAR (gr)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	1,33	0,68	0,645	1,33
02	1,29	0,31	0,686	1,64
03	1,27	0,635	0,210	1,71
04	1,44	0,796	0,798	1,357
05	1,21	0,793	0,566	1,63
06	1,38	0,680	0,770	1,52
MÉDIAS	1,32	0,649	0,613	1,531

Quadro 18 - Distribuição dos animais submetidos às dietas A, B, C e D segundo valores individuais e médias do peso das glândulas salivares submandibulares.

ANIMAIS	PESO DAS GLÂND. SALIVARES SUBMANDIBULARES (gr)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	0,235	0,1575	0,074	0,25
02	0,198	0,0215	0,132	0,32
03	0,225	0,154	0,1105	0,288
04	0,220	0,183	0,105	0,323
05	0,185	0,160	0,135	0,313
06	0,210	0,132	0,160	0,275
MÉDIAS	0,212	0,135	0,119	0,295

Quadro 17 - Distribuição dos animais segundo valores individuais e médias do nível de zinco no fêmur.

ANIMAIS	NÍVEL DE ZINCO NO FÊMUR (ppm)			
	DIETA A	DIETA B	DIETA C	DIETA D
01	254	76,9	264	161
02	256	76,9	251	161
03	254	105,0	252	158
04	202	105,0	233	158
05	211	102,0	264	153
06	202	102,0	246	153
MÉDIAS	229,83	94,63	251,67	157,33