

INGRID CARDOSO FIDELES

QUALIDADE PROTÉICA E BIODISPONIBILIDADE DE FERRO E CÁLCIO EM
CARNE DE RÃ - TOURO (*Rana catesbeiana*, SHAW 1802).

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

INGRID CARDOSO FIDELES

QUALIDADE PROTÉICA E BIODISPONIBILIDADE DE FERRO E CÁLCIO EM
CARNE DE RÃ-TOURO (*Rana catesbeiana*, SHAW 1802).

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de março de 2004.

Profa. Josefina Bressan Resende Monteiro
(Conselheira)

Prof. Juraci Alves de Oliveira
(Conselheiro)

Prof. Samuel Lopes Lima

Profa. Maria do Carmo Gouveia Pelúzio

Profa. Neuza Maria Brunoro Costa
(Orientadora)

A Deus pelo presente da vida, por tudo que tenho e sou.

A minha mãe Vera.

A minha irmã Elenise

A amiga Nelma Scheyla (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante e por todos os presentes diários que tenho recebido durante toda a minha vida.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Nutrição e Saúde pela oportunidade oferecida.

Ao Projeto de Apoio ao Desenvolvimento de Tecnologias Agropecuárias para o Brasil (PRODETAB) pelo auxílio financeiro.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos.

A professora Neuza Maria Brunoro Costa, pela orientação, compreensão, amizade, pelo exemplo profissional e por me ensinar a amar ainda mais o caminho da docência e da pesquisa.

A professora Josefina Bressan R. Monteiro pelo aconselhamento e pela valiosa contribuição na redação da tese.

Ao professor Juraci Alves pelo apoio e disponibilidade no trabalho com os radioisótopos e pela contribuição na redação da tese.

Aos professores Samuel Lopes Lima e Maria do Carmo Gouveia Pelúzio pelas sugestões e contribuições para a versão final da tese.

Aos professores Onofre Mauricio Moura e Samuel Lopes Lima pela produção da carne mecanicamente separada (CMS), utilizada neste trabalho.

Ao funcionário Carlos Alves do Departamento de Solos pela valiosa contribuição nas leituras de minerais das amostras.

As estagiárias Kelly e Maria Emília pela grande ajuda nos experimentos.

Aos alunos das disciplinas NUT 621/2003 e NUT 622/2003 pela contribuição nos experimentos.

A Solange Brandão pela paciência e prestimosa ajuda, principalmente na parte “administrativa” do mestrado.

Aos funcionários do DNS, Adão, Ricardo, Mimorina, Cleusa, Elaine, Terezinha, Nilton e Sr. Pedro pela atenção, amizade e convivência.

As meninas do alojamento feminino Helen, Raquel, Fabrícia e Aline pela hospedagem e pela torcida desde o processo de seleção para o mestrado.

As novas amigas conquistadas em Viçosa Laudiene Meyer e Lucía Ramírez Cárdenas pelos momentos felizes, pela força e pelos conselhos.

A amiga de hoje e sempre, Sandra Patrícia Crispim pela amizade e por sua presença iluminada na minha vida.

A minha colega de projeto Nilcemar Rodrigues da Cruz, por sua paciência e companheirismo durante todas as etapas do Mestrado.

Ao Renato Moreira Nunes pela amizade e pelo apoio.

Aos colegas de mestrado e professores do Departamento de Nutrição e Saúde, pela colaboração e boa convivência, nesses dois anos.

A Márcia Regina da Silva, por sua amizade e por ter sido minha mão amiga desde o meu primeiro dia em Viçosa.

Ao meu amigo Pedro Paulo Oliveira, pelo incentivo constante, por sua amizade, carinho e conselhos, sem você a caminhada teria sido mais difícil.

Aos meus caros amigos “elementais”, Bruno e Alexsandro, e as amigas Leila e Ivone por serem os irmãos que eu sempre quis ter.

Ao amigo Marcos Paulo, por ser mais que um irmão pra mim e pelo “presente” que me ajudou a continuar em Viçosa e a terminar esse trabalho, você também é responsável por essa conquista.

A Anna Karla Roriz pela amizade, pela confiança e ajuda na hora do aperto.

As amigas e eternas “superiores” Kaity e Verônica, por acreditarem no meu potencial e pelo apoio constante.

Ao amigo Jamacy pelas conversas e amizade.

Aos meus primeiros companheiros de república Christtianno, Mariano e Rízia, por tornarem a minha adaptação a Viçosa mais suave e divertida.

As minhas colegas de república Michele, Denise e especialmente a Karina Dobscha, pela convivência e aprendizado de cada dia.

A todos os amigos de Salvador que mesmo a quilômetros de distância aqueceram os meus dias com o seu carinho e incentivo.

Aos meus professores e orientadores da Universidade Federal da Bahia, pela minha formação, por terem acreditado no meu potencial e me incentivado a seguir o caminho da pesquisa.

Enfim, a todos aqueles que me ajudaram e colaboraram, para mais essa conquista, meu muito obrigado.

BIOGRAFIA

INGRID CARDOSO FIDELES, filha de Leopoldo de Araújo Fideles e Vera Lúcia Cardoso Fideles, nasceu em 20 de julho de 1975, na cidade de Salvador, Bahia.

Em março de 1995, iniciou o Curso de Nutrição na Universidade Federal da Bahia, concluindo-o em dezembro de 2000.

De janeiro a março de 2001 trabalhou como nutricionista de produção em empresa de refeição coletiva. De abril de 2001 a março de 2002 atuou como professora substituta da Escola de Nutrição na Universidade Federal da Bahia.

Em abril de 2002, iniciou o Programa de Pós - Graduação em Ciência da Nutrição, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, concluindo em março de 2004.

ÍNDICE

	Pág
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE QUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	3
CAPÍTULO 1- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
Carne de rã.....	6
Comercialização e consumo da carne de rã no Brasil	6
Aspectos nutricionais e funcionais da carne de rã	7
Qualidade protéica em alimentos	9
Biodisponibilidade de nutrientes	12
Biodisponibilidade de ferro	13
Interação ferro e cálcio.....	15
Biodisponibilidade de cálcio	16
CAPÍTULO 2 – QUALIDADE PROTÉICA E COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA CARNE DE RÃ –TOURO	23
1. INTRODUÇÃO.....	23
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1 Composição nutricional.....	26
2.1.1 Umidade	26
2.1.2 Lipídios totais	26
2.1.3 Proteínas totais	26
2.1.4 Cinzas	26
2.2 Preparo das carnes	27
2.2.1 Carne de rã sem osso.....	27
2.2.2 Carne de rã com osso.....	27
2.2.3 Carne mecanicamente separada.....	28
2.2.4 Cozimento das carnes	28
2.2.5 Preparo das dietas.....	28

2.3 Ensaio biológico.....	28
2.3.1 Coeficiente de eficiência protéica (PER).....	29
2.3.2 Razão Protéica Líquida (NPR).....	29
2.3.3 Digestibilidade verdadeira	29
2.4 Determinação do teor de proteína.....	30
2.5 Análise estatística.....	30
3. RESULTADOS.....	32
4. DISCUSSÃO	35
5. CONCLUSÃO	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
CAPÍTULO 3 – BIODISPONIBILIDADE DE FERRO EM CARNE DE RÃ.	41
1. INTRODUÇÃO	41
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
2.1 Preparo das carnes	44
2.1.1 Carne de rã sem osso.....	44
2.1.2 Carne de rã com osso.....	44
2.1.3 Carne de rã mecanicamente separada.....	45
2.1.4 Preparo das dietas.....	45
2.2 Ensaio biológico.....	45
2.2.1 Fase de depleção	45
2.2.2 Fase de repleção	46
2.3 Determinação de hemoglobina.....	49
2.4 Determinação do teor de ferro	49
2.5 Análise estatística.....	50
3. RESULTADOS.....	51
4. DISCUSSÃO	54
5. CONCLUSÃO	58
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
CAPÍTULO 4 – BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO DA CARNE DE RÃ – TOURO	62
1. INTRODUÇÃO	62
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	64
2.1 Preparo das carnes	

2.1.1 Carne de rã sem osso.....	
2.1.2 Carne de rã com osso.....	
2.1.3 Carne de rã mecanicamente separada	
2.2 Experimento I – Biodisponibilidade de cálcio em carne de rã em ratos adultos utilizando radiotraçador ⁴⁵ Ca.	64
2.2.1 Preparo das dietas.....	65
2.2.2 Preparo das doses radioativas	65
2.2.3 Ensaio biológico	66
2.2.4 Análise da retenção do ⁴⁵ Ca no fêmur.....	67
2.2.5 Cálculo da absorção fracional.....	68
2.2.6 Determinação do teor de cálcio	68
2.3 Experimento II - Retenção de cálcio em ratos na fase de crescimento alimentados com carne de rã – touro.....	68
2.3.1 Ensaio biológico	69
2.3.2 Pesagem e medidas do comprimento e espessura do fêmur..	71
2.3.3 Determinação da retenção de cálcio no fêmur	71
2.4 Análise estatística.....	72
3. RESULTADOS.....	73
3.1 Experimento I	73
3.2 Experimento II.....	73
4. DISCUSSÃO	75
5. CONCLUSÃO	79
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
ANEXOS.....	84

LISTA DE TABELAS

Pág

CAPÍTULO 2

Tabela 1- Composição das dietas experimentais	31
Tabela 2 – Composição centesimal das carnes de rã em base úmida.....	32
Tabela 3 – Teor de proteínas dos ingredientes	32
Tabela 4- Coeficiente de eficiência protéica (PER) e PER relativo (PERR) razão protéica líquida (NPR) e NPR relativa (NPRR).....	32
Tabela 5 – Digestibilidade verdadeira (DIG) e digestibilidade verdadeira relativa (DIGR)	34

CAPÍTULO 3

Tabela 1- Composição da dieta para a fase de depleção com base na dieta AIN- 93G	46
Tabela 2- Composição da mistura de minerais sem ferro	47
Tabela 3- Composição das dietas na fase de repleção (g/ kg).....	48
Tabela 4- Ganho de hemoglobina (Hb) na fase de repleção no diferentes tratamentos nos três níveis de ferro.....	52
Tabela 5- Níveis de hemoglobina (Hb) do período de repleção (inicial e final),ganho de peso (GP) e coeficiente de eficiência protéica (CEA).....	53

CAPÍTULO 4

Tabela 1- Dieta AIN-93 M formulada para fase de manutenção	66
Tabela 2- Composição das dietas oferecidas com a dose de ⁴⁵ Ca.....	67
Tabela 3 – Composição da mistura de minerais sem cálcio	68
Tabela 4- Composição das dietas experimentais	71
Tabela 5- Absorção fracional do ⁴⁵ Ca pelo fêmur.....	73
Tabela 6- Avaliação métrica do fêmur parâmetros peso, comprimento e espessura externa	74
Tabela 7- Teor de cálcio no fêmur determinado por absorção atômica e razão peso do fêmur e peso corpóreo final.....	74
Tabela 8- Peso corpóreo final, ganho de peso (28 dias) e coeficiente de eficiência alimentar	74

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 1

Quadro 1- Comparação do perfil de aminoácidos na carne de rã- touro encontrados na literatura com o padrão de referência da OMS (1985).	9
--	---

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

Figura 1- Regressão do ganho de hemoglobina nos três níveis de ferro	52
---	----

RESUMO

FIDELES, Ingrid Cardoso, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Março de 2004. **Qualidade protéica e biodisponibilidade de ferro e cálcio em carne de rã-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw 1802)** Orientadora: Neuza Maria Brunoro Costa. Conselheiros: Josefina Bressan Resende Monteiro e Juraci Alves de Oliveira.

A carne de rã vem sendo citada como uma carne com proteína de alto valor biológico e de baixo valor calórico e teor lipídico, e indicada para o tratamento de doenças gastrointestinais, alergias de diversas origens, no pós - operatório e em dietas restritivas para lipídios e sódio. Esse estudo teve por objetivo avaliar a biodisponibilidade do ferro e do cálcio, a qualidade protéica e a composição centesimal da carne de rã touro em três apresentações, carne de rã sem osso (RSO), carne de rã com osso (RCO) e carne mecanicamente separada (CMS). A qualidade protéica foi avaliada pelos métodos de Coeficiente de Eficiência Protéica (PER), Razão Protéica Líquida (NPR) e digestibilidade verdadeira, com os grupos recebendo as carnes RSO, RCO e CMS crua e desidratada ou cozida e desidratada, comparadas com uma dieta controle de caseína. Os valores encontrados para PER e NPR mostraram-se iguais ou superiores ($p < 0,05$) ao grupo padrão de caseína. Todas as carnes analisadas independente do tratamento apresentaram digestibilidade superior a 90%, demonstrando que a carne de rã apresenta características de uma fonte protéica de elevado valor nutricional. Para avaliação da biodisponibilidade de ferro foi realizado ensaio biológico com ratos Wistar recém – desmamados e estes foram submetidos a um período de depleção, de 21 dias, seguido de repleção, de 14 dias, com dietas contendo 6,12 e 24 ppm de ferro, avaliando-se a biodisponibilidade pelo ganho de hemoglobina observado para os grupos

nessa fase. Encontrou-se que a RSO apresentou ferro biodisponível e equivalente ao padrão de sulfato ferroso, na concentração de 24 ppm, conseguindo recuperar a hemoglobina aos níveis basais. As carnes RCO e CMS, independente do teor de ferro não apresentaram ganho de hemoglobina significativa ($p>0,05$), o que pode ser atribuído ao elevado teor de cálcio observado nessas carnes, sugerindo que a presença do cálcio reduziu o aproveitamento do ferro dessas carnes. A biodisponibilidade do cálcio foi avaliada por dois métodos. No primeiro avaliou-se a absorção fracional do cálcio, medida pela retenção de ^{45}Ca no fêmur em ratos adultos. Foram encontrados os valores de 44,86%; 23,35%; 26,31% de absorção para a RSO, RCO e CMS respectivamente. Embora a RCO e CMS tenham sido inferiores à RSO ($p<0,05$) apresentaram cálcio de boa biodisponibilidade. No segundo experimento avaliou-se a retenção óssea de cálcio em ratos na fase de crescimento, recebendo dietas com RSO, RCO, CMS ou carbonato de cálcio (CaCO_3). As carnes de RSO e CMS não diferiram da dieta padrão de carbonato para os parâmetros de peso e comprimento do fêmur e no coeficiente de eficiência alimentar, mas mostraram-se superiores ($p<0,05$) a dieta padrão com relação ao teor de cálcio no fêmur. Portanto, as diferentes apresentações da carne de rã mostraram-se eficientes no fornecimento de cálcio para o crescimento ósseo dos animais.

ABSTRACT

FIDELES, Ingrid Cardoso, M.S., Federal University of Viçosa, March 2004.

Protein quality and iron and calcium bioavailability in bullfrog meat (*Rana catesbeiana*, Shaw 1802) Adviser: Neuza Maria Brunoro Costa. Committee members: Josefina Bressan Resende Monteiro and Juraci Alves de Oliveira.

The frog meat comes being cited as a meat with protein of high biological value, low caloric value and lipidic content, and indicated for the treatment of gastrointestinal diseases and allergies of some origins, and in the postoperatives. Besides being indicated for restrictive diets in lipids and sodium. This study had objective to evaluate the bioavailability of the iron and calcium, the quality proteic and the centesimal composition of the bullfrog meat in three models, bullfrog meat without bone (FWOB), bullfrog meat with bone (FWB) and deboned mechanically bullfrog meat (SMM). The proteic quality was assessment by the Protein Efficiency Ratio (PER), Net proteic ratio (NPR) and true digestibility, with the groups receiving raw and dehydrated or cooked and dehydrated FWOB, FWB and SMM meats, compared with a casein diet control. The PER and NPR values revealed equal or superior ($p < 0,05$) to the casein standard group. All the analyzed meats independent of the treatment presented more than 90% superior digestibility, demonstrating the frog meat presents proteic source characteristics of raised nutritional value. To iron bioavailability assessment was carried a biological assay with Wistar rats weaning and these was submitted to a depletion period, of 21 days, followed of repletion, of 14 days,

with diets contend 6,12 and 24 ppm of iron, evaluating the bioavailability by the hemoglobin weight gain observed for the groups on this phase. It founds that the (FWOB) presented a bioavailability iron and equivalent to the iron sulphate standard, in the 24 concentration of ppm, obtaining to recoup the hemoglobin to the basal levels. FWB and SMM meats, independent of the iron level was not presented significant weight gain of hemoglobin ($p > 0,05$), what can be attributed to the raised calcium content observed in these meats, suggesting that the calcium presence reduced the utilization of the iron of these meats. The calcium bioavailability was evaluated by two methods. In the first one was evaluated fraction absorption of calcium, measured by the retention of ^{45}Ca in the adult rats femur. The values of 44,86%, 23,35%; 26,31% of absorption for the FWB, FWOB and SMM were found, respectively. Although FWB and SMM meats was inferior to the FWOB ($p < 0,05$) they presented calcium of good bioavailability. In the second experiment was assessment calcium retention bone in rats in the growth phase, receiving FWOB, FWB, SMM or carbonate of calcium (CaCO_3) diets. The meats of FWOB and SMM had not differed from the carbonate standard diet to the length and weight femur parameters and in the alimentary efficiency ratio, but they revealed superior ($p < 0,05$) to the standard diet standard with relation to the femur calcium content. Therefore, the different presentations of the bullfrog meat revealed efficient on the calcium supply for the growth bone of the animals.

INTRODUÇÃO GERAL

A carne de rã tem sido consumida há muitos anos como um alimento alternativo e sofisticado (AZEVEDO e OLIVEIRA, 1988).

A rã-touro começou a ser criada em cativeiro para fins de comercialização em meados da década de 30. Desde então, a ranicultura é uma atividade que vem se expandindo no país, especialmente após a década de 80 (MOURA, 2000).

O consumo nacional e internacional da carne de rã tem aumentado ao longo dos últimos anos, devido não somente ao seu paladar, mas pelas características nutricionais apresentadas pela referida carne (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 1997).

MOURA (2000) observou que o mercado para a carne de rãs apresenta elevado potencial e vem se expandindo gradualmente, salientando que isso tem se dado de forma espontânea, não havendo, até então, trabalho de “marketing” direcionado a isso.

Não obstante, o Brasil desenvolveu um sistema de criação de rãs em cativeiro, com tecnologia única, permitindo a obtenção de um produto de alta qualidade. O país, atualmente, ocupa o primeiro lugar mundial nesse tipo de criação, mas enquanto os estudos sobre manejo e comercialização são extensos, estudos referentes às características nutricionais desta carne são escassos na literatura (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 1997; LIMA et al., 1999; RAMOS, 2000).

A carne de rã se caracteriza por apresentar um sabor que varia entre os sabores apresentados pelas carnes de peixe e frango. Estudos têm mostrado que a carne de rã tem boa aceitabilidade para o consumo, não apresentando diferença significativa quando comparada a carnes de coelho, peixe e frango (AZEREDO et al., 1995).

Diversos autores têm recomendado a carne de rã para o tratamento de doenças do trato gastrointestinal, alergias e para dietas de restrição a sódio, lipídios e calorias (NOLL e LINDAU, 1987; RAMOS, 2000, MARENGONI e SANTOS, 2002).

O aproveitamento dos nutrientes presentes nos alimentos depende de diversos fatores que podem ser fisiológicos ou da dieta. (JACKSON, 1997). Para definir o quanto de um determinado nutriente presente no alimento é aproveitado são realizados estudos de biodisponibilidade. No entanto, os estudos de biodisponibilidade dos nutrientes, principalmente em relação aos minerais, para diversos alimentos ainda são escassos (O'DELL, 1984; JACKSON, 1997).

Com relação à carne de rã os estudos nutricionais até então realizados se detêm à composição centesimal e valor biológico da proteína (NOLL e LINDAU, 1987, CÔRREA, 1988, AZEVEDO e OLIVEIRA, 1988, RAMOS, 2000).

Considerando-se que, por ser uma fonte de ferro de origem animal, espera-se que assim como as demais carnes “brancas” como o frango e o peixe (MARTÍNEZ et al., 1975; TAYLOR et al., 1986; HALLBERG e HÚLTHEN, 2000; ZIJP et al., 2000) a carne de rã apresente ferro de elevada biodisponibilidade.

Alguns autores, NOLL e LINDAU (1987) e CONCEIÇÃO et al. (2000) têm citado a carne de rã como uma fonte rica em cálcio. Contudo, até o presente momento, não foi verificada a existência de estudos que tenham avaliado a biodisponibilidade dos minerais presentes na carne de rã-touro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, S.; OLIVEIRA,C.C. Composição química e análise microbiológica de carne de rã (*Rana catesbeiana*). VI ENAR - Encontro Nacional de Ranicultura. Rio de Janeiro: Associação dos Ranicultores do Rio de Janeiro, **Anais**, p.262-270, 1988.

AZEREDO, R.M.C; CASTRO ,F.A.F.; SABARENSE, C.M.; SANTA'ANA, H.M.P.; FORATO, A.L.S.C.; COELHO, A.I.M.; PELUZIO, M.C.G.; QUEIROZ, V.M.V. Aceitabilidade da carne de rã e preparações por meio de avaliação sensorial. Anais – **Tecnofrog'95**. 8º. Encontro Nacional de Ranicultura . vol.1-Viçosa – MG p.125. Resumos, 1995.

CONCEIÇÃO, C.; FURTADO, A.A.L.; SILVA, A.T.; DELIZA, R. Patê de carne de rã (*Rana catesbeiana*) formulação e aceitabilidade.**Anais (vol.3) XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Fortaleza-CE,p.11.75, 2000 .

CORRÊA, A.L.S. **Avaliação composicional de diferentes espécies de rãs e efeitos do armazenamento a -18°C sobre as frações protéicas e lipídicas do músculo da rã touro (*Rana catesbeiana*)**, Dissertação de Mestrado. Ciência de alimentos, Campinas- SP, Unicamp 1988

HALLBERG,L.; HÚLTHEN, L. Prediction of dietary iron absorption; na algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. **American Journal of Clinical Nutrition.**, v.71, p. 1147-1160, 2000.

JACKSON, M.J. The assessment of bioavailability of micronutrients:introduction **American Journal of Clinical Nutrition** , v.51, supp.1, p.S1-S2, 1997.

LIMA, S.L.; CRUZ, T. A.; MOURA, O.M. **Ranicultura: Análise da Cadeia Produtiva**. Editora Folha de Viçosa, Viçosa-MG, 172p, 1999.

MARENGONI, N.G., SANTOS, R.S., Teores de minerais em filé e lingüiça de rã (*Rana catesbeiana*) e peixes (*Hopliassp.*, *Leporinus sp.* e *Cichla sp*) . **Anais XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura** – SIMBRAQ- Goiânia, p.247. Resumos, 2002.

MARTÍNEZ-TORRES, C.; LEETS, I.; LAYRISSE, M. Iron absorption by humans from fish. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.25, n.2, p.199-209, 1975.

MOURA, O.M. **Efeito de métodos de insensibilização e sangria sobre as características de qualidade da carne de rã-touro e perfil das indústrias de abate** (Tese de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), 208p. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2000.

NOLL, I.B., LINDAU, C.F. Estudos dos Componentes Nutricionais da Carne de Rã Touro –Gigante (*Rana catesbeiana*). **Cadernos de Farmácia**:v.3, n.1/2 Porto Alegre- RS, p.29-36, 1987.

O'DELL, B.D. Bioavailability of trace elements. **Nutrition Reviews**, v.42, n.9, p.301-308, 1984

OLIVEIRA, V.M.; OLIVEIRA, G.A. Contribuição ao estudo da qualidade da carne de rã fresca (*Rana catesbeiana*). **Revista Higiene Alimentar**, v.11, n.49, p.31-35, 1997.

RAMOS, E.M., GOMIDE, L.A.M., COUTINHO, C.M., PARREIRAS, J.F.M.; PETERNELLI, L.A. Efeito do sexo e peso vivo sobre a composição da carne de rã –touro. **Anais** (vol.4) XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza-CE, p.3.232, 2000.

TAYLOR, .P.G; MARTÍNEZ-TORRES, C.; ROMANO, E.L.; LAYRISSE, M. The effect of cysteine-containing peptides released during meat digestion on iron absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.43, p.68-71, 1986.

ZIJP, I.M.; KORVER ,O.; TIJBURG ,L.B.M. Effect of tea and other dietary factors on iron absorption. **Critical Reviews in the Food Science and Nutrition**, v.40, n.5, p.371-398, 2000.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CARNE DE RÃ TOURO

Criação, comercialização e consumo da carne de rã no Brasil

A criação da rã-touro no Brasil teve seu início na década de 30, quando o agricultor canadense, Thomas Cyrill, importou 300 casais da espécie para a implantação do primeiro ranário do Brasil, na baixada fluminense, com fins de exploração comercial (OLIVEIRA e OLIVEIRA, 1997).

Originária dos Estados Unidos, a rã-touro (*Rana cartesbeiana*) encontrou no Brasil clima e condições favoráveis para o seu desenvolvimento, o que incentivou a sua criação em cativeiro. Ao longo dos anos, essa cultura tem sido expandida e atualmente existem ranários em diversos Estados, como o Rio de Janeiro, São Paulo, e também na região Nordeste, no Estado do Rio Grande do Norte (MOURA, 2000).

A tecnologia na criação de rãs apresentou uma grande evolução no Brasil e o país atualmente ocupa o primeiro lugar na produção de rãs em cativeiro no mundo. Além disso, o país ao longo dos anos desenvolveu uma tecnologia única de criação e inclusive de abate das rãs, conseguindo obter assim, um produto de alta qualidade (LIMA et al., 1999; OLIVEIRA e OLIVEIRA, 1997).

A produção atual dos ranários visa em primeiro plano abastecer o mercado nacional de carne congelada. Quanto ao mercado internacional, existe a perspectiva de crescimento da demanda por carne de rãs criadas em cativeiro, principalmente as coxas. A carne do dorso da rã, embora represente um elevado percentual do peso da carcaça e possua um alto valor nutricional, não possui o mesmo nível de aceitação (CONCEIÇÃO et al., 2000).

Apesar do grande avanço observado nas técnicas da ranicultura no País, a mesma evolução não é verificada, no que se refere, ao consumo da carne, ainda restrito a restaurantes e hotéis, principalmente à irregularidade da oferta e ao preço elevado (NOLL e LINDAU, 1987; LIMA et al., 1999; RAMOS 2000).

Na tentativa de aproveitar melhor a carne de rã e assim aumentar o seu consumo, tem-se desenvolvido em alguns centros de pesquisa, produtos à base de carne de rã, como filé, lingüiça, patê entre outros (MARENGONI e SANTOS, 2002).

Apesar de não ser um alimento que faça parte do hábito alimentar da população brasileira em geral, a carne de rã apresenta boa aceitabilidade por parte das pessoas que a consomem, fato este observado em pesquisa desenvolvida por AZEREDO et al. (1995), onde foi avaliada a aceitabilidade da carne de rã quando comparada a outros três tipos de carnes tidas como “brancas” (coelho, frango e peixe). Nesse estudo, os pesquisadores concluíram que a carne de rã foi considerada igual àquelas que obtiveram as médias mais elevadas de aceitação, estando, portanto, os consumidores aptos a apreciá-la da mesma forma que outras carnes habitualmente aceitas ou consumidas como, por exemplo, o frango.

Aspectos nutricionais e funcionais da carne de rã

As rãs são classificadas como pescado, pois conforme a com a definição do Artigo 438 do Regulamento de Inspeção Industrial Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), “a denominação genérica ”pescado“ compreende peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada, usados na alimentação humana” (BRASIL-MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1980).

A carne de rã é uma carne branca que guarda semelhança com as carnes de coelho e frango, tendo seu sabor classificado como intermediário entre as carnes de peixe e frango. A mesma, tem sido citada como um alimento de ótimas características sensoriais, rica em proteínas, de alto valor biológico, sais minerais e vitaminas, e por apresentar baixos valores de lipídios e colesterol sendo, portanto uma carne de baixo valor calórico (NOLL e LINDAU, 1987; PELÚZIO et al., 1995; RAMOS 2003; MARENGONI e SANTOS, 2002).

NOLL e LINDAU (1987), em avaliação da composição centesimal e da qualidade protéica da carne de rã, concluíram que, quando comparada aos demais tipos de carnes, a carne de rã apresentou um baixo teor de lipídios, elevado teor de cálcio e baixo de sódio, sendo indicada para tratamentos de perda de peso e dietas restritivas de sódio. Também encontraram boa digestibilidade *in vitro* e um teor elevado de ácidos graxos insaturados, principalmente os ácidos α -linolênico e araquidônico.

Observa-se o crescimento dos estudos sobre a carne da rã, o que se deve, principalmente, ao aumento no seu consumo com finalidades terapêuticas, basicamente no tratamento das diversas formas de alergias gastrointestinais em crianças (GUEDES et al., 2000).

Após a avaliação da composição aminoacídica, pesquisas concluíram que a carne de rã apresenta um perfil adequado de aminoácidos essenciais de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), caracterizando uma proteína de alto valor biológico, conforme observado no Quadro 1 (OMS, 1985; NOLL e LINDAU, 1987; CORRÊA, 1988).

Segundo o perfil de aminoácidos encontrado por a carne de rã apresenta em sua constituição todos os aminoácidos essenciais, em quantidades adequadas, proporcionando uma boa biodisponibilidade da sua proteína, conforme observado no Quadro1.

Quadro 1- Perfil de aminoácidos da carne de rã-touro (mg de aminoácido/ g de proteína).

	NOLL e LINDAU (1987)	CORRÉA, 1988.	OMS (1985)**
Aminoácidos			
AA essenciais			
Histidina	42	53	19
Isoleucina	45	82	28
Leucina	89	112	66
Lisina	90	33	58
Metionina + cistina	79	61*	25
Fenilalanina+	60	45	63
tirosina			
Treonina	8	14	34
Triptofano	32	50	11
Valina	30	34	35
Total essenciais			
AA não essenciais			
Arginina	53	94	—
Alanina	34	67	—
Ácido aspártico	73	105	—
Ácido glutâmico	96	142	—
Glicina	23	51	—
Prolina	38	28	—
Serina	41	52	—
Total não essenciais			
Total	833	1023	—

* Não foi detectado L-cistina no aminograma desse estudo, o valor apresentado corresponde somente ao teor de metionina.

** A OMS padronizou as necessidades somente para os aminoácidos essenciais.

QUALIDADE PROTÉICA EM ALIMENTOS

A qualidade de uma proteína está relacionada, principalmente, à sua composição de aminoácidos essenciais, em níveis maiores que os níveis da proteína de referência da OMS (1985) e uma digestibilidade comparável ou superior aos valores encontrados para as proteínas do ovo e do leite (DAMODARAN, 1996).

As proteínas de origem animal, em geral, apresentam melhor qualidade nutricional que as de origem vegetal. Pois estas, em geral, são deficientes em um ou mais aminoácidos essenciais. Enquanto as proteínas de cereais como o arroz, o milho, o trigo e a cevada são deficientes em lisina e ricos em

metionina, as proteínas das leguminosas ou sementes oleaginosas são deficientes em metionina e contém quantidades adequadas ou elevadas de lisina (DAMODARAN, 1996; MATTHEWS, 2003; READ, 2002).

Os aminoácidos essenciais encontrados em quantidades inferiores a proteína de referência são denominados de aminoácidos limitantes e prejudicam a adequada absorção dos outros aminoácidos (MATTHEWS, 2003).

Tanto as proteínas de origem animal, quanto as de origem vegetal, geralmente, contém quantidades adequadas ou superiores de histidina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina e valina. Portanto esses aminoácidos, normalmente, não são limitantes em fontes alimentares. Mas, freqüentemente, a lisina, treonina ou triptofano e os aminoácidos sulfurados são limitantes (DAMODARAN, 1996).

Uma dada proteína alimentar é considerada de boa qualidade nutricional quando ela contém quantidades adequadas de aminoácidos indispensáveis que permitam uma taxa ótima de crescimento e/ou capacidade de manutenção (BOS et al., 2000).

Associado a isso, o valor nutricional de uma proteína será determinado pela biodisponibilidade dos seus aminoácidos. Sendo que a mesma é determinada pela eficiência de três processos fisiológicos a digestão, a absorção e a utilização biológica (HERNANDÉZ et al., 1996). A eficiência por sua vez, é dependente de alguns atributos da proteína, tais como, a sua digestibilidade e o perfil dos seus aminoácidos (MACNURLAN e GARLICK, 2000).

As proteínas do ovo são as que apresentam melhor balanço de aminoácidos indispensáveis e, portanto, o valor nutricional mais elevado, seguida das proteínas do leite e derivados do peixe, das carnes de uma forma geral e seus derivados (SGARBIERI, 1996).

A digestibilidade da proteína dietética tem um papel fundamental na qualidade protéica, sendo definida como a proporção de nitrogênio do alimento que é absorvido após a ingestão. Mesmo que o conteúdo de aminoácidos indispensáveis seja o indicador básico da qualidade da protéica, somente se os mesmos estiverem disponíveis para a utilização pelo corpo, o perfil de aminoácidos corresponderá à qualidade da proteína, fato este dependente da digestibilidade. Portanto, a digestibilidade dos aminoácidos pode afetar a qualidade das proteínas alimentares (DAMODARAN, 1996, SGARBIERI, 1996).

A digestibilidade das proteínas pode ser afetada por diversos fatores, tais como a presença de fatores antinutricionais, para as proteínas de origem vegetal, conformação da proteína, processamento e interações com outros nutrientes. De forma geral, as proteínas de origem animal são mais facilmente digeríveis, apresentando valores de digestibilidade entre 90 e 99% (MAcNURLAN e GARLICK, 2000).

Diversos fatores podem interferir na digestibilidade das proteínas alimentares. A conformação da proteína, ou seja, o estado da sua estrutura influencia na capacidade das proteases de promover a sua hidrólise, o que pode modificar a sua digestibilidade. Outro fator interferente na digestibilidade é o processamento. As proteínas, quando expostas a temperaturas elevadas ou a condições de pH alcalino, podem sofrer alterações químicas reduzindo a sua digestibilidade, quando submetidas ao calor excessivo a alteração mais freqüente é a reação entre o aminoácido lisina e aldeídos dos açúcares, conhecida por reação de Maillard. Por fim ainda podem ocorrer interações entre as proteínas e polissacarídeos da fibra alimentar reduzindo a sua digestibilidade (DAMODARAN, 1996).

Os métodos recomendados para a avaliação da qualidade protéica pela Food Agricultural Organization (FAO) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) têm por princípio básico a habilidade da proteína em satisfazer as necessidades dos aminoácidos indispensáveis (BOS et al., 2000).

A qualidade das proteínas pode variar amplamente, e é afetada por diversos fatores. Por isso, é de suma importância à existência de métodos de avaliação, pois, dessa forma, pode-se estimar a quantidade do alimento a ser consumido, para que esse forneça proteína contendo aminoácidos essenciais em quantidades adequadas para o crescimento e manutenção corporais. Além disso, possibilita a avaliação de alterações da qualidade de determinada proteína quando do seu processamento e formas possíveis de minimizar essas alterações (DAMODARAN, 1996).

BIODISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES

O termo biodisponibilidade foi inicialmente utilizado para estimar a utilização de compostos farmacêuticos (JACKSON, 1997). Em termos de nutrição, a biodisponibilidade é definida como a proporção do nutriente no alimento que é absorvido e utilizado. A utilização é o processo de transporte,

assimilação celular e conversão em uma forma biologicamente ativa (O'DELL, 1984). Segundo JACKSON (1997), biodisponibilidade é definida como a fração do nutriente que é utilizado para as funções fisiológicas normais ou estocagem.

Um fator importante na determinação da biodisponibilidade adequada dos minerais é a eficiência da sua absorção em diferentes tipos de refeição, diferentes alimentos e sob diversas condições de saúde e estado fisiológico. A disponibilidade biológica é influenciada por fatores intrínsecos aos alimentos, oriundos da dieta, ou por fatores do próprio indivíduo (ROSENBERG e SOLOMONS, 1982).

Os fatores intrínsecos aos alimentos ou a dieta incluem a presença em sua composição de componentes que dificultem ou impeçam a liberação dos nutrientes no caso minerais para a absorção, como a presença de oxalatos, fitatos e polifenóis ou substâncias orgânicas quelantes de minerais, no alimento ou nos demais componentes da dieta, ou mesmo interações com estes componentes. Um outro fator importante é o tratamento anterior ao qual o alimento é submetido seja doméstico, cocção, ou outro tipo de processamento industrial que pode reduzir a biodisponibilidade do nutriente (HURRELL, 1997, JACKSON, 1997).

Diversos fatores, não relacionados às características dos alimentos, influenciam a proporção do nutriente contido em um alimento ou bebida em particular será absorvido, tais como a eficiência da digestão, a ingestão prévia do nutriente, o nível corporal ou estado nutricional do nutriente, tempo de trânsito intestinal e a existência de doenças ou desordens gastrointestinais (JACKSON, 1997).

Biodisponibilidade de ferro

O ferro é encontrado nos alimentos sob duas formas, o ferro não heme e o ferro heme. O primeiro é a forma inorgânica, na qual o ferro encontra-se na sua forma iônica livre, e é encontrado tanto em alimentos de origem vegetal como nos alimentos de origem animal, podendo estar na forma de Fe^{+2} ou de Fe^{+3} (MATSUMOTO et al., 2003). O ferro heme é encontrado somente nos tecidos musculares e se caracteriza por estar ligado ao grupamento protéico heme. Isso lhe confere uma característica especial, sendo este ferro menos suscetível às interferências luminiais e facilitando a sua absorção, o que o torna

mais biodisponível. Contudo, este representa apenas 40% do total do ferro dos tecidos musculares, sendo o restante composto de ferro não heme.

O ferro não heme tem a sua absorção influenciada por diversos fatores presentes no lúmen intestinal durante a digestão e absorção dos alimentos. Dentre eles, os inibidores como os fitatos, presentes nas fibras, os polifenóis, encontrados nos chás e café, e o cálcio. O ácido ascórbico e os tecidos musculares (carnes) atuam como modificadores facilitando a absorção do ferro não heme (BOTHWELL, 1995; HURRELL, 1997; HEAT e FAIRWEATHER, 2000).

A carne é uma fonte de ferro de alta qualidade, por fornecer o ferro heme que é bem absorvido, e porque modifica a absorção do ferro não heme de outros componentes de uma refeição (LAYRISSE et al., 1968; COOK e MONSEN, 1976).

O primeiro estudo onde se verificou um aumento da absorção do ferro não heme na presença da carne, em uma refeição, foi feito por LAYRISSE et al. (1968). Desde então, diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de determinar quais componentes presentes na carne poderiam estar contribuindo para efeito denominado “fator carne”.

Alguns autores têm atribuído o “fator carne” à ação de peptídios sulfurados, derivados da digestão das proteínas contendo cisteína, presentes nos tecidos musculares do boi, porco, cordeiro, frango peixe e fígado. A ação desses peptídios sulfurados se daria por duas vias, pelo efeito redutor do grupo sulfidril (-SH) sob o íon férrico (Fe^{+3}), nas condições do lúmen intestinal, aumentando a concentração de ferro ferroso (Fe^{+2}) que é melhor absorvido, e pela formação de um quelato solúvel entre a cisteína e o ferro, reduzindo a ação dos interferentes da dieta e melhorando a sua absorção (KAPSOKEFALOU e MILLER, 1991; HURRELL, 1997; MULVIHILL e MORRISEY, 1998a; HIGGS, 2000; ZIPJ et al., 2000).

Segundo MARTÍNEZ –TORRES et al. (1975), a adição de peixe a uma alimentação contendo fontes vegetais de ferro aumentou a absorção de ferro não heme em cerca de duas vezes, com relação à refeição sem carne, contudo, a absorção do ferro da carne de peixe é inferior à apresentada pela carne bovina, que contém um teor maior de ferro heme.

MARTÍNEZ –TORRES e LAYRISSE (1971) avaliaram pela técnica de dupla marcação com radioisótopos, aplicado em humanos, o efeito da adição

de carne de vitela, a refeições contendo milho e feijão preto. Os resultados mostraram que a presença de carne na refeição aumentou a absorção do ferro não heme em 87% e 121% no milho e no feijão, respectivamente. Concluíram, ainda, que a carne é, aparentemente, a melhor fonte de ferro, em termos de valor nutritivo por apresentar uma absorção elevada e comparável ao sulfato ferroso e aumenta a absorção do ferro não heme de fontes vegetais e de outros alimentos de origem animal.

LAYRISSE et al. (1968) misturaram diversos aminoácidos presentes na carne de peixe com alimentos vegetais e encontraram que a cisteína era o único aminoácido que modificava a absorção do ferro dessas fontes. TAYLOR et al. (1986) demonstraram que os produtos da digestão da carne contendo cisteína modificaram significativamente a absorção de ferro em humanos.

Avaliando a influência do conteúdo de proteínas de origem animal na biodisponibilidade, em um estudo *in vitro*, MULVIHILL e MORRISEY (1998a) encontraram que a adição de carnes de cordeiro, fígado de cordeiro e peito de frango aumentaram em cerca de 4,2 vezes a quantidade de ferro dialisável, enquanto que a adição de carne bovina ou de porco proporcionou um aumento de cerca de 2,2 vezes, quando em comparação à proteína albumina do ovo, usada como referência.

MULVIHILL et al. (1998b) avaliaram o efeito de proteínas miofibrilares da carne de coelho, na biodisponibilidade do ferro não heme *in vitro* e observaram que, com exceção de uma proteína, todas as demais frações protéicas miofibrilares modificaram a dialisabilidade do ferro não heme ($p < 0,01$), sugerindo que essas frações protéicas podem ser responsáveis pelo efeito da carne na biodisponibilidade do ferro não heme.

REDDY et al. (2000) realizaram estudo da absorção do ferro não heme em humanos, no qual avaliaram o efeito do consumo de dietas tidas como de baixa biodisponibilidade de ferro, contendo teores elevados de ácido fítico, polifenóis oxalato ou cálcio, e de dietas de elevada biodisponibilidade contendo ácido ascórbico ou carne. Eles observaram uma correlação positiva entre a absorção do ferro e o conteúdo de tecido muscular na refeição. O efeito do ácido ascórbico apresentou diferença significativa quando este foi fornecido junto com carne em uma mesma refeição. Diante dos resultados, os autores concluíram que o efeito do ácido ascórbico é mais pronunciado na ausência da carne.

Interação ferro e cálcio.

A interação entre cálcio e ferro tem sido bem descrita na literatura (LYNCH, 2000; YBARRA et al., 2001). Diversos estudos têm demonstrado que o consumo elevado de cálcio, concomitante com o ferro, leva a uma redução de até 60% na absorção deste último. A redução na absorção do ferro pelo cálcio é dose dependente a partir de uma determinada quantidade, ainda não estabelecida, e atinge seu valor máximo na presença de 300 mg de cálcio, pois a adição de valores superiores ao este, chegando até o teor de 600 mg não provocou redução significativa na absorção do ferro (HALLBERG et al., 1991).

Os estudos também têm demonstrado que o cálcio interfere tanto na absorção do ferro não heme como do ferro heme, contudo, o mecanismo pelo qual ele atua ainda não está definido (LYNCH, 2000, YBARRA et al., 2001).

Alguns autores (BARTON et al., 1983; HALLBERG et al., 1991; HALLBERG et al., 1992a; HALLBERG et al., 1992b) sugerem que a interação possa se dar por duas vias, quais sejam, a competição entre os minerais pelo mesmo transportador no processo de absorção, entrada do enterócito, para o ferro não heme, e/ou a competição pelo transportador na saída do ferro para a circulação sanguínea através da membrana basolateral. Isso justificaria a influência do cálcio na absorção do ferro heme uma vez que o mesmo após entrar no enterócito é liberado do anel de porfirina e forma um “pool” comum com o ferro não heme, seguindo as mesmas vias de transporte e metabolismo.

Biodisponibilidade de cálcio

O cálcio é um elemento essencial ao organismo humano, sendo o principal constituinte estrutural de ossos e dentes, além de desempenhar outras funções importantes, como auxiliar nas transmissões nervosas, secreções glandulares, vasodilatação e contração muscular, mitose e motilidade celular (YBARRA et al., 2001; IOM, 1997).

As principais fontes alimentares conhecidas de cálcio são o leite e seus derivados, que fornecem um cálcio de boa biodisponibilidade, considerando-se que as fontes vegetais desse mineral apresentam teores elevados de oxalato que reduzem a biodisponibilidade (ALLEN, 1982).

Diversos autores ao avaliarem o consumo de cálcio, observaram que a população em geral não consegue atingir as recomendações de ingestão

diárias independente da faixa etária estudada (VELASQUÈZ –MELENDÉZ et al., 1997; SILVA et al., 2002).

VELASQUÈZ – MELENDÉZ et al. (1997) avaliaram o consumo de vitaminas e minerais em adultos residentes (22 a 88 anos) na região metropolitana de São Paulo, e encontraram que, a mediana da ingestão de cálcio entre os homens variou de 379 a 432 mg e entre as mulheres, de 240 a 378 mg. Em todos os grupos etários as medianas situaram-se muito abaixo do das recomendações (800- 1200 mg Ca /dia).

SILVA et al. (2002), em estudo com crianças na faixa etária de 2 aos 6 anos, encontraram que estas consumiam diariamente valores de cálcio abaixo de 50% das recomendações diárias de 800 mg/dia (IOM, 1997).

Uma ingestão adequada de cálcio tem sido correlacionada a redução na incidência de patologias como a osteoporose, hipertensão arterial, e câncer de cólon (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000). Essas descobertas têm levado os pesquisadores a investigar novas fontes alimentares de cálcio, bem como da biodisponibilidade do cálcio presente em diversos sais a serem utilizados para a fortificação de alimentos com o objetivo de prevenção dessas patologias (BERNER et al, 1990).

As carnes, de uma forma geral, não são consideradas fontes alimentares primárias de cálcio, mas alguns poucos estudos realizados com carnes de rã e de peixe tem observado a presença de elevados teores de cálcio nesses alimentos (NOLL e LINDAU, 1987; LARSEN et al., 2000), sugerindo que estes possam servir como fonte alimentar em alternativa ao leite, principalmente para os indivíduos que apresentem alergia ou intolerância ao leite e seus derivados.

Verifica-se que poucos são os estudos existentes sobre a biodisponibilidade dos nutrientes de uma forma geral. Dada a importância do conhecimento a respeito dessa característica, principalmente no que se refere aos micronutrientes, se faz necessário o aumento de estudos sobre a real utilização destes, visto que a sua presença no alimento em quantidade não é garantia, para a sua utilização biológica. Portanto, o conhecimento da biodisponibilidade dos nutrientes possibilitará uma estimativa mais real do consumo e um melhor planejamento e orientação alimentar, para o indivíduo e população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEREDO, R.M.C; CASTRO ,F.A.F.; SABARENSE, C.M.; SANTA'ANA, H.M.P.; FORATO, A.L.S.C.; COELHO, A.I.M.; PELUZIO, M.C.G.; QUEIROZ, V.M.V. Aceitabilidade da carne de rã e preparações por meio de avaliação sensorial. Anais – **Tecnofrog'95**. 8º. Encontro Nacional de Ranicultura . vol.1-Viçosa – MG p.125. Resumos, 1995.

AZEVEDO, S.; OLIVEIRA,C.C. Composição química e análise microbiológica de carne de rã (*Rana catesbeiana*). VI ENAR - Encontro Nacional de Ranicultura. Rio de Janeiro: Associação dos Ranicultores do Rio de Janeiro, **Anais**, p.262-270, 1988.

BERNER, L.A.; MACBEAN, L.D.; LOFGREN, P.A. Calcium and cronic disease prevention: challenges to the food industry. **Food Technology.**, v.44, n.3 , p. 56-70, 1990.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal- RIISPOA, Brasília – DF, 1980.

CONCEIÇÃO, C.; FURTADO, A.A.L.; SILVA, A.T.; DELIZA, R. Patê de carne de rã (*Rana catesbeiana*) formulação e aceitabilidade. **Anais (vol.3)** XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza-CE,p.11.75, 2000 .

COOK, J.D.; MONSEN, E.R. Food iron absorption in humans subjects III Comparasion of the effect of animal proteins on nonheme iron absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.29, p.859-867, 1976.

CORRÊA, A.L.S. **Avaliação composicional de diferentes espécies de rãs e efeitos do armazenamento a -18°C sobre as frações protéicas e lipídicas do músculo da rã touro (*Rana catesbeiana*)**, Dissertação de Mestrado. Ciência de alimentos, Campinas- SP, Unicamp 1988

DAMODARAN, S. Amino acids, peptides, and proteins. In: FENNEMA, O R. **Food Chemistry**, 3.th, Marcel Dekker- New York, 1069p, p.321-429, 1996.

GUEDES, W.; LOPES, M.; MANO, S.; COSTA,P.S.; SANTOS, I.F.; PARDI, H.S.; GUERREIRO, L. Estudo comparativo da insensibilização por CO₂ em rã (*Rana catesbeiana*). **Anais (vol.2) XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Fortaleza- CE, p.5.58, 2000.

HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ERLANDSSON, M.; SANDBERG, A.; ROSSANDER-HULTEN, L. Calcium: effect of different amounts on nonheme and heme-iron absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.53, p.112-119, 1991.

HALLBERG, L.; ROSSADER-HÚLTEN, L.; BRUNE, M.; GLEERUP,A. Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. **British Journal of Nutrition**, v.69, p.533-540, 1992a.

HALLBERG, L.; ROSSANDER-HÚLTHEN, L.; BRUNE, M. GLEERUP,A. Calcium and iron absorption mechanism of action and nutritional importance. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.49, p.317-327, 1992b.

HIGGS,J.D. The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality . **Trends in Food Science and Technology**, v.77, p.85-95, 2000.

HURRELL, R.F. Bioavailability of iron. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.51, supp.1, p.S4-S8, 1997.

JACKSON, M.J. The assessment of bioavailability of micronutrients:introduction **American Journal of Clinical Nutrition** , v.51, supp.1, p.S1-S2, 1997.

JONG, E.V., NOLL, I.B. Determinação do Valor Nutritivo da Carne de Rã: valor biológico da proteína. In: **Anais, VI Encontro Nacional de Ranicultura: Associação dos Ranicultores do Estado do Rio de Janeiro,Rio de Janeiro – RJ**, p.262. Resumos, 1988.

KAPSOKEFALOU, M.; MILLER, D.D. Effects of meat and selected food components on the valence of nonheme iron during *in vitro* digestion. **Journal in the Food Science.**, v.56, n.2, p.352-355, 1991.

LAYRISSE, M.; MARTÍNEZ-TORRES, C.; ROCHE, M. Effect of interaction of various foods on iron absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.21, p.1175-1183, 1968.

LIMA, S.L.; CRUZ, T. A.; MOURA, O.M. **Ranicultura: Análise da Cadeia Produtiva**. Editora Folha de Viçosa, Viçosa-MG, 172p, 1999.

MARENGONI, N.G., SANTOS, R.S., Teores de minerais em filé e lingüiça de rã (*Rana catesbeiana*) e peixes (*Hopliassp.*, *Leporinus sp.* e *Cichla sp*) . **Anais XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura – SIMBRAQ-** Goiânia, p.247. Resumos, 2002.

MARTÍNEZ-TORRES, C.; LAYRISSE, M. Iron absorption from veal muscle. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.24, p.531-540, 1971.

MARTÍNEZ-TORRES, C.; LEETS, I.; LAYRISSE, M. Iron absorption by humans from fish. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.25, n.2, p.199-209, 1975.

MATSUMOTO, J.; MORI, N.; DOI, M.; KISHIDA, T.; EBIHARA, K. Evaluation of iron bioavailability from Bonito dark muscle using anemic rats. **Journal in Agricultural and Food Chemistry** ,v.51, p.4478-4482, 2003.

MATTHEWS, D.E. Proteínas e aminoácidos. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**, 9 ed., v.1, 1951p. 2003.

MOURA, O.M. **Efeito de métodos de insensibilização e sangria sobre as características de qualidade da carne de rã-touro e perfil das indústrias de abate** (Tese de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), 208p. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2000.

MULVIHILL, B.; MORRISEY, P.A. Influence of the sulphhydryl content of animal proteins on *in vitro* bioavailability of non-heme iron. **Food Chemistry**, v.61, n.1/2, p.1-7, 1998a.

MULVIHILL, B.; KIRWAN, F.M.; MORRISEY, P.A.; FLYNN, A. Effect of myofibrillar muscle proteins on the *in vitro* bioavailability of non-heme iron. **International Journal in Food Science and Nutrition**, v.49, p.187-192, 1998b.

NOLL, I.B., LINDAU, C.F. Estudos dos Componentes Nutricionais da Carne de Rã Touro –Gigante (*Rana catesbeiana*). **Cadernos de Farmácia**:v.3, n.1/2 Porto Alegre- RS, p.29-36, 1987.

O'DELL, B.D. Bioavailability of trace elements. **Nutrition Reviews**, v.42, n.9, p.301-308, 1984

OLIVEIRA, V.M.; OLIVEIRA, G.A. Contribuição ao estudo da qualidade da carne de rã fresca (*Rana catesbeiana*). **Revista Higiene Alimentar**, v.11, n.49, p.31-35, 1997.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE **Necesidades de energia y de proteínas**. Informe de una Reunión Consultiva Conjunta FAO/OMS/UNU de Expertos OMS. Informes técnicos n.374, OMS, Ginebra, 220p., 1985.

PELUZIO, M.C.G.; FORATO, A.L.S.C.; COELHO, A.I.M.; SANT'ANA, H.M.P.; SABARENSE, C.M.; QUEIROZ, V.M.V.; AZEREDO, R.M.C.; CASTRO, F.A.F. Composição centesimal e avaliação nutricional da carne de rã. **Technofrog'95**. 3 a 8 fev. 1995. Viçosa. MG. Brasil. Anais (Vol. 1). Resumos, p.127, 1995.

RAMOS, E.M., GOMIDE, L.A.M., COUTINHO, C.M., PARREIRAS, J.F.M.; PETERNELLI, L.A. Efeito do sexo e peso vivo sobre a composição da carne de rã –touro. **Anais** (vol.4) XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza-CE, p.3.232, 2000.

REDDY, M.J.; HURRELL, R.F.; COOK, J.D. Estimation of nonheme-iron bioavailability from meal composition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, p.937-943, 2000.

ROSENBERG, I.H.; SOLOMONS, N.W. Biological availability of minerals and trace elements: a nutritional overview. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.35, n. , p.781-782, 1982.

SAGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos**, 3ed. Ed. Varela, São Paulo, il. 1996.

SILVA, M.R.; CASTRO, T.G., COSTA, N.M.B.; FERREIRA, C.L.F.; FRANCESCHINI, S.C.C.; LEAL, P.F.G.; REIS, F.P. Efeito de uma bebida láctea fermentada e fortificada com ferro sobre o estado nutricional de ferro em pré-escolares. Viçosa –MG. **Nutrire**, v.23, n.2, p.23-32, 2002.

TAYLOR, .P.G; MARTÍNEZ-TORRES, C.; ROMANO, E.L.; LAYRISSE, M. The effect of cysteine-containing peptides released during meat digestion on iron absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.43, p.68-71, 1986.

VELAZQUEZ- MELENDÉZ ,G. MARTINS, I.S.; FORNÉS, N.S.; MARUCCI, M.F.N. Consumo alimentar de vitaminas e minerais em adultos residentes em área metropolitana de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.31, n.2, p. 157-162, 1997.

ZHANG, D.; HENDRICKS,D.G.; MAHONEY, A W. Bioavailability of total iron from meat,spinach (*Spinacea olearacea* L.) and meat-spinach mixtures by anaemic and non-anaemic rats. **British Journal of Nutrition**, v.61,p.331-343, 1998.

ZIJP,I.M.; KORVER,O.; TIJBURG,L.B.M. Effect of tea and other dietary factors on iron absorption, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.40, n.5, p.371-398, 2000.

YBARRA, L.M.; COSTA,N.M.B.; FERRREIRA,C.L.L.F.. Interação cálcio e ferro.
Nutrire: Rev Brasileira de Alimentação e Nutrição, v.22, p.85-107, 2001.

WAITZBERG, D.L.; LOGULLO,P. Proteínas . In: WAITZBERG, D.L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clinica**, v. 1, p. 35-54, 928p., il., 2002.

CAPÍTULO 2

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E QUALIDADE PROTEICA DA CARNE DE RÃ-TOURO

1. INTRODUÇÃO

As proteínas são polímeros lineares de aminoácidos e representam quase 17% da massa corpórea total. Essas moléculas desempenham diversas funções de extrema importância no organismo, entre elas mantêm a estrutura (colágeno) e facilitam a mobilidade corporal (actina e miosina que atuam na contração muscular), atuam no transporte de nutrientes e de oxigênio (hemoglobina e lipoproteínas), no metabolismo, através das diversas enzimas existentes e essenciais para a utilização não só da própria proteína como também dos demais nutrientes, constituindo-se em um nutriente essencial a manutenção da vida (MAcNURLAN e GARLICK, 2000).

A maior parte da proteína corporal, cerca de 40% , encontra-se como constituinte dos tecidos musculares, de promover a locomoção e manter a estrutura, são responsáveis por suprir os aminoácidos necessários para serem metabolizados em casos de estresse metabólico. A proteínas presentes nas vísceras, representam 10% do total, enquanto outros 30% são encontrados constituindo a pele e o sangue (MAcNURLAN e GARLICK, 2000).

Uma alimentação equilibrada deve oferecer todos os nutrientes, carboidratos, lipídios, proteínas, vitaminas e minerais em quantidade em quantidade que atenda às necessidades para a manutenção da boa saúde.

Mas para que o organismo consiga utilizar o nutriente oferecido pelo alimento não basta apenas que este esteja presente, mais que também seja digerido, absorvido e finalmente metabolizado, partindo desse ponto observa-se que não só a quantidade, mas principalmente, a qualidade possui um importante papel no aproveitamento dos nutrientes, particularmente quando se fala de proteínas, vitaminas e minerais.

A qualidade está relacionada a biodisponibilidade, e esta por sua vez é determinada pela eficiência de três processos fisiológicos a digestão, a absorção e a utilização biológica (HERNANDÉZ et al., 1996).

Tratando-se de proteínas a sua biodisponibilidade é traduzida pelo termo qualidade protéica, ou seja, a habilidade de uma quantidade particular de uma proteína ou de misturas protéicas alimentares de atender às necessidades de aminoácidos corporais.

A qualidade protéica é dependente de três atributos principais da proteína sua digestibilidade, a disponibilidade e o perfil de seus aminoácidos (MACNURLAN e GARLICK, 2000). Uma proteína de boa qualidade nutricional deve ter uma alta digestibilidade e apresentar em sua composição uma mistura de aminoácidos em quantidade adequada para cumprir as suas funções de síntese e manutenção dos tecidos corporais (BÓS et al. 2000).

As proteínas dietéticas podem ser de origem vegetal ou animal, e por esse motivo apresentam graus variados de biodisponibilidade, diferindo assim em sua capacidade de atender às necessidades nutricionais (READ, 2002, MATTHEWS, 1999).

A melhor maneira de avaliar a qualidade protéica é através de ensaio biológico, utilizando-se ratos, os quais podem digerir a maioria das proteínas de forma similar ao homem (HERNÁNDEZ et al., 1996).

Os métodos que avaliam a qualidade das proteínas dietéticas recomendados pela Food Agricultural Organization (FAO) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS), têm por princípio básico a habilidade da proteína em satisfazer as necessidades dos aminoácidos indispensáveis (BOS et al., 2000).

Os alimentos de origem animal são de grande importância para o suprimento de proteína na alimentação, pois quase sempre contêm proteína de alta qualidade nutricional, tendo como exceção a gelatina (colágeno dissolvido). Os tecidos musculares em geral (boi, peixe, frango, porco, rã e outros), leite e ovos apresentam em sua composição todos os aminoácidos

indispensáveis, e quando presentes em uma refeição melhoram a qualidade nutricional da mesma, já que os cereais e leguminosas têm a qualidade da sua proteína prejudicada por baixos conteúdos de lisina, treonina, triptofano ou metionina o que reduz a biodisponibilidade dos seus aminoácidos e o valor nutricional das suas proteínas (READ, 2002).

Devido a essa grande variação entre as diferentes fontes alimentares, estudo da qualidade protéica de fontes alimentares se faz de suma importância, por permitir um melhor planejamento dietético e avaliação da qualidade do consumo alimentar da proteína.

Esse estudo teve como objetivo determinar a composição nutricional e avaliar a qualidade protéica da carne de rã em três apresentações carne de rã sem osso (RSO), carne de rã com osso (RCO) e carne de rã mecanicamente separada (CMS). Avaliou-se também o efeito do processo de cocção dessas carnes sobre a qualidade protéica.

2- MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Nutrição Experimental e de Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

2.1 Composição nutricional

Foi determinada a composição centesimal da carne de rã em três formas de apresentação carne de rã sem osso (RSO), carne de rã com osso (RCO) e carne de rã mecanicamente separada (CMS).

2.1.1. Umidade

Para determinação da umidade, cerca de 5 g de cada tipo de carne crua foi pesada em triplicata, em placas previamente taradas, e submetidas a aquecimento em estufa de ar circulante a 105°C por 24 horas, segundo metodologia da AOAC (1998).

Após a secagem as amostras foram resfriadas em dessecador com sílica gel e pesadas em balança analítica digital da marca OHAUS, com precisão de 0,0001g. A umidade foi calculada pela diferença entre a amostra úmida e seca

2.1.2 Lipídios totais

O teor de lipídios totais foi determinado pelo método de Soxhlet segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

2.1.3 Proteínas totais

As proteínas totais foram determinadas pelo micrométodo de Kjeldhal, segundo a AOAC (1998).

2.1.4 Cinzas

Para análise do teor de cinzas, cerca de 5 g das amostras secas, obtidas na análise de umidade, foram pesadas em cadinhos de porcelana previamente secos e pesados e submetidas a calcinação em forno mufla, à temperatura de 600°C, por 6 horas. Posteriormente, os cadinhos com as amostras foram resfriados em dessecador com sílica gel e novamente pesadas em balança

analítica digital da marca OHAUS. O teor de cinzas foi determinado pela diferença do peso antes e após a calcinação.

2.2 Preparo das carnes

A carne de rã foi adquirida no ranário Anfigranja Tambiu, localizado em Ponte Nova-MG, onde as rãs foram abatidas no início de Janeiro de 2003. A carne mecanicamente separada (CMS) foi produzida logo após o abate das rãs utilizando equipamento confeccionado em material inoxidável.

Após o abate, as carnes de rã foram mantidas sob temperatura de -18°C em freezer doméstico, e descongeladas conforme a necessidade de uso. O descongelamento ocorreu em refrigerador a 4°C por um período de aproximadamente 12 horas, utilizando-se vasilhames fundos, confeccionados de vidro ou aço inox previamente enxaguados com água deionizada, para que o líquido do descongelamento pudesse ser aproveitado para a secagem.

2.2.1. Carne de rã sem osso

Após o descongelamento, a rã foi desossada manualmente, utilizando-se utensílios de aço inox e polietileno, previamente lavados em água corrente e enxaguados com água deionizada. Feita a desossa, a carne foi moída em moedor de carne elétrico, marca PASIANI e, posteriormente, submetida à secagem em estufa de ar circulante, marca FANEM, modelo 320-SE, com circulação de ar mecânica, à temperatura média de $65\pm 2^{\circ}\text{C}$, por período de 10 a 12 horas.

A carne desidratada foi triturada em multiprocessador doméstico, marca ARNO, para obtenção de uma farinha. Esta foi acondicionada em sacos plásticos rotulados e mantida sob refrigeração (4°C), até o preparo das dietas.

2.2.2. Carne de rã com osso

Após o descongelamento, a rã, em sua totalidade, foi submetida à moagem, em moedor de carne elétrico, marca PASIANI e, após esse processo foi submetida à secagem, triturada e armazenada, conforme descrito para a carne de rã sem osso.

2.2.3. Carne mecanicamente separada

A carne de rã mecanicamente separada (CMS) foi adquirida de forma processada não sendo submetida à moagem, seguindo os demais procedimentos anteriormente mencionados.

2.2.4. Cozimento das carnes

Parte da carne de rã nas três formas de apresentação (RSO, RCO e CMS), foi submetida ao cozimento convencional em água, utilizando-se a proporção 1:1 entre peso da carne e volume de água. A carne foi cozida por 15 minutos a temperatura entre 96°C e 100°C. Após o cozimento as carnes foram secas, trituradas e armazenadas conforme descrito no item 2.2.1.

2.2.5. Preparo das dietas

As dietas foram preparadas, com base na dieta AIN-93G (REEVES et al., 1993), modificada para conter, em média 10% de proteína, conforme metodologia de BENDER e MILLER (1957) (Tabela 1).

Todos os ingredientes foram pesados em balança semi-analítica da marca Marte e modelo AS 5500 C. Inicialmente, foram misturados manualmente em vasilhames plásticos, previamente lavados e enxaguados com água deionizada, e a seguir em batedeira semi-industrial, marca LIEME, por um período de aproximadamente 15 minutos.

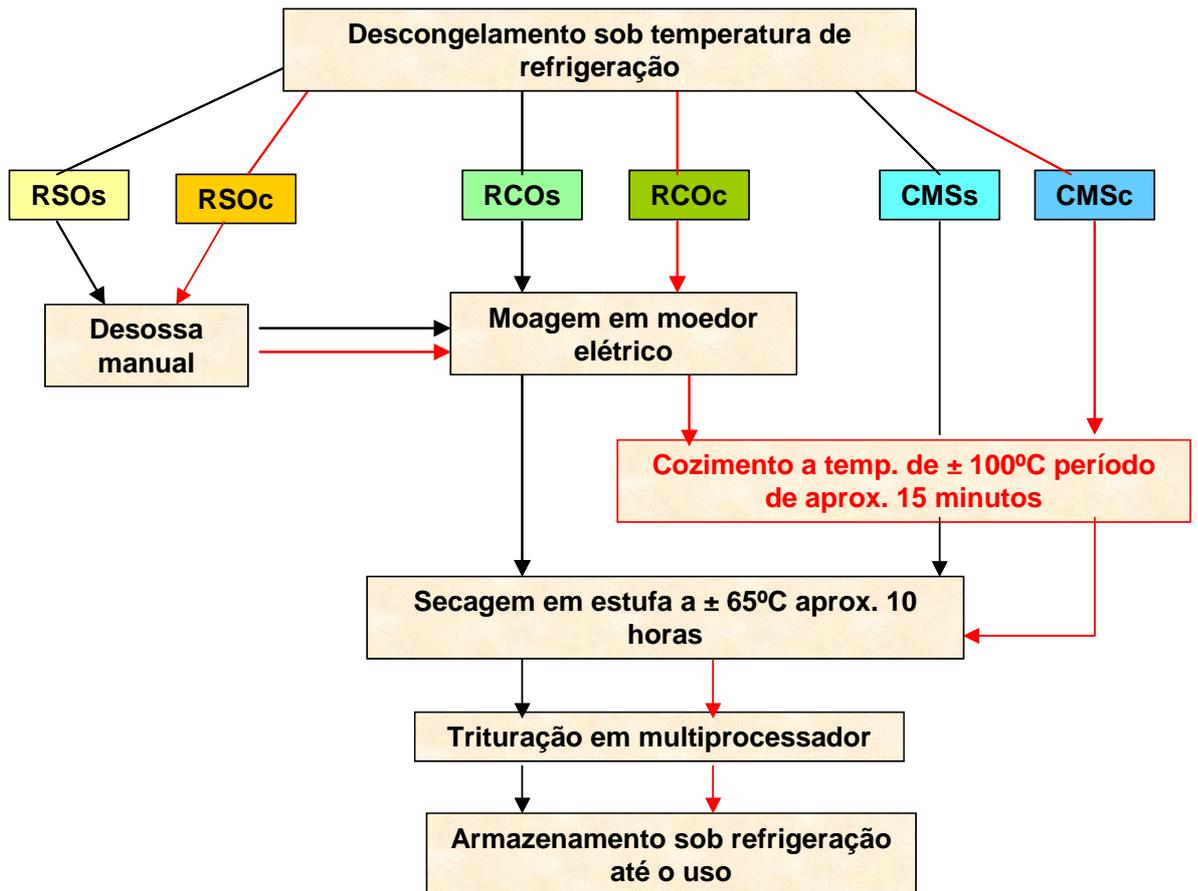


Figura 1: Fluxograma de processamento das carnes de rã para incorporação às dietas utilizadas nos ensaios biológicos.

2.3 Ensaio biológico

Foram utilizados 48 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe Rodentia), da linhagem Wistar, recém-desmamados, 21 dias de idade, oriundos do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e de Saúde da UFV, com peso inicial variando entre 52 e 63 gramas.

Os animais foram divididos em 8 grupos (n=6) recebendo os seguintes tratamentos, dieta livre de nitrogênio, dieta controle de caseína, e mais 6 dietas contendo as carnes de rã sem osso (RSO), rã com osso (RCO) e carne mecanicamente separada (CMS) somente secas em estufa ou cozidas e secas em estufa.

Os animais foram distribuídos, de acordo com o peso, de modo que não houvesse diferença entre as médias dos grupos, em gaiolas individuais de aço

inoxidável, e mantidos à temperatura de 24 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, recebendo água deionizada e dieta *ad libitum*.

O peso dos animais e o consumo alimentar foram medidos semanalmente.

2.3.1. Coeficiente de eficiência protéica (PER)

O PER foi determinado, para 14 dias, tomando-se o ganho de peso do grupo teste em relação ao consumo de proteína do grupo teste (OSBORNE et al., 1919; AOAC, 1984). Para isso, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{PER} = \frac{\text{ganho de peso (g) do grupo teste}}{\text{proteína consumida (g) pelo grupo teste}}$$

Calculou-se o PER relativo ao valor da caseína, dividindo-se o valor individual de cada animal pelo valor médio de PER do grupo com a dieta de caseína.

2.3.2. Razão Protéica Líquida (NPR)

A NPR foi determinada no 14^o dia do experimento com ratos, levando-se em consideração o ganho de peso do grupo teste, mais a perda de peso do grupo da dieta aprotéica, em relação ao consumo de proteína do grupo teste segundo BENDER e DOELL (1957).

$$\text{NPR} = \frac{\text{ganho de peso (g) grupo teste} + \text{perda de peso (g) do grupo aprotéico}}{\text{Proteína consumida (g) do grupo teste}}$$

2.3.3. Digestibilidade verdadeira

Para determinação da digestibilidade, as dietas foram marcadas com índigo carmim, na proporção de 100 mg de índigo carmim/ 100 g de dieta, e oferecidas aos animais no 7^o e 10^o dias do experimento.

As fezes foram coletadas entre os 8^o e 11^o dias, armazenadas, em recipiente individual, para cada animal, e mantidas sob refrigeração (4°C) até o período de análise.

Finalizado o experimento, as fezes foram secas em estufa a 105°C por 24 horas, resfriadas e trituradas em multiprocessador doméstico marca ARNO para a determinação dos teores de proteína.

O teor de proteína foi determinado pelo micrométodo de Kjeldhal, de acordo com metodologia do item 2.1.3, em triplicata, utilizando, em média, 25 mg da amostra (AOAC, 1984).

O cálculo da digestibilidade verdadeira (DV) foi feito de acordo com a fórmula abaixo:

$$DV(\%) = \frac{I - (F - F_k)}{I} \times 100$$

onde:

I = nitrogênio ingerido pelo grupo-teste

F = nitrogênio fecal do grupo-teste; e.

F_k = nitrogênio fecal do grupo com dieta aprotéica

Os teores de proteína da caseína, das carnes de rã, das dietas e das fezes foram determinados segundo metodologia citada no item 2.1.3. Os valores obtidos encontram-se nas Tabelas 1 e 6.

2.5. Análise estatística

Foi utilizado o desenho experimental de blocos casualizados por peso com 6 repetições.

A análise estatística foi feita utilizando o programa SAEG, versão 8.0, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram testadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

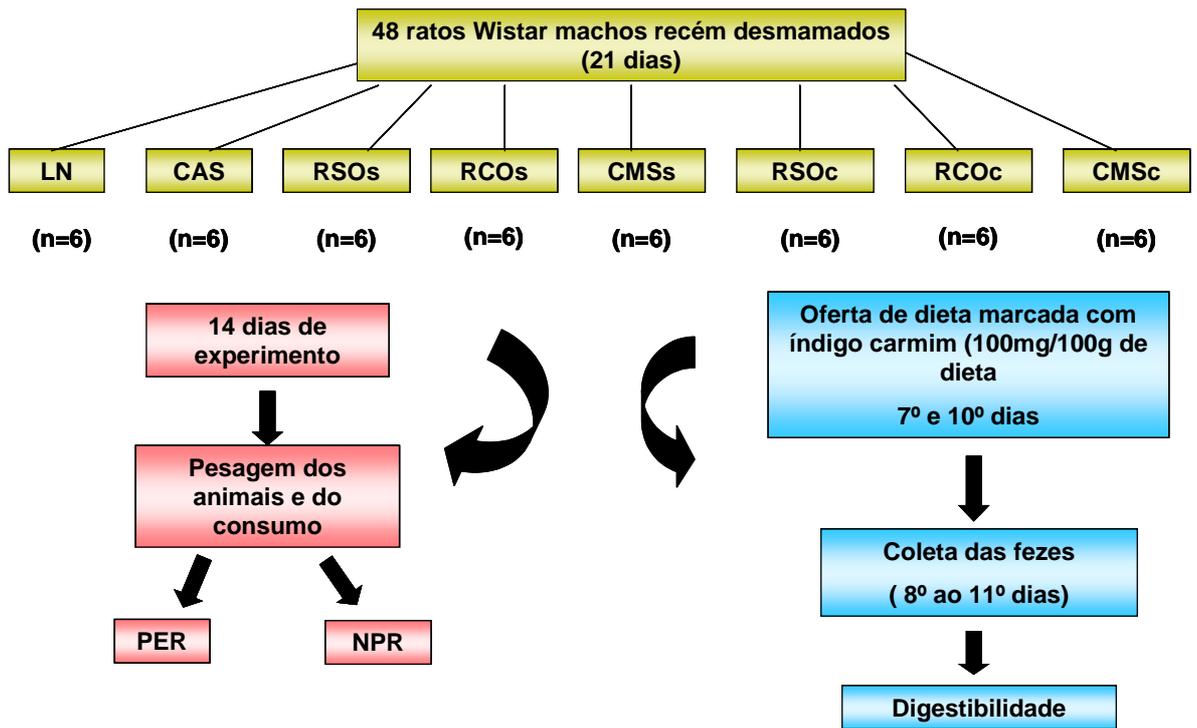


Figura 2: Desenho experimental utilizado para avaliação da qualidade protéica da carne de rã- touro

Tabela 01 – Composição das dietas experimentais.

Ingredientes	Dietas (g/ Kg de dieta)							
	LN	CAS	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Caseína	—	115,64	—	—	—	—	—	—
Rã sem osso seca	—	—	114,65	—	—	—	—	—
Rã com osso seca	—	—	—	140,74	—	—	—	—
Rã mec.separada seca	—	—	—	—	150,79	—	—	—
Rã sem osso cozida e seca	—	—	—	—	—	119,91	—	—
Rã com osso cozida e seca	—	—	—	—	—	—	139,31	—
Rã mec.separada cozida e seca	—	—	—	—	—	—	—	139,25
Amido dextrinizado	132,00	132,00	132,00	132,00	132,00	132,00	132,00	132,00
Sacarose	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Óleo de soja	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00
Celulose (fibra)	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Mistura de minerais	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Mistura de vitaminas	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
L- Cistina	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Birtatarato de colina	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Amido de milho	597,50	480,25	481,07	456,76	441,97	477,59	458,19	458,25
Proteína na dieta (g/100g)	—	9,93	9,28	9,51	10,59	9,97	9,94	9,55

Dietas: **LN** - Dieta livre de nitrogênio; **CAS** - Dieta controle de caseína; **D1**- Rã sem osso seca; **D2**- Rã com osso seca; **D3**- Rã mecanicamente separada seca; **D4**- Rã sem osso cozida e seca; **D5**- Rã com osso cozida e seca; **D6**- Rã mec separada cozida e seca.

3. RESULTADOS

Na Tabela 2 verificam-se os valores médios encontradas na avaliação composição centesimal das três apresentações da carne de rã, utilizadas, carne de rã sem osso (RSO), carne de rã com osso (RCO), carne de rã mecanicamente separada (CMS), comparados a de outros autores.

Tabela 02-Composição centesimal das carnes de rã em base úmida.

Carnes de rã	Umidade (g)	Proteína (g)	Lipídios (g)	Cinzas (g)	Fe (mg)	Ca (mg)
Carne de rã sem osso (RSO)	80,67	16,02	0,58	0,83	0,73	17,66
Carne de rã com osso (RCO)	78,06	14,81	1,90	3,35	0,67	906,44
Carne de rã mec.separada (CMS)	82,08	11,06	2,09	2,21	1,46	456,73
Estudos						
NOLL e LINDAU, 1987.*	83,68	16,52	0,31	0,89	0,61	49,19
AZEVEDO e OLIVEIRA, 1988.*	77,70	18,22	0,33	0,75	0,89	370
CÔRREA, 1988.*	82,45	15,94	0,79	0,94	—	—
RAMOS, 2000.*	79,99	17,67	1,08	1,03	—	—
CONCEIÇÃO et al., 2000.**	83,11	14,44	1,49	0,96	—	70,00

*Dados de carne de rã sem osso (RSO)

**Dados para carne de rã mecanicamente separada

Na tabela 3 são verificados os valores obtidos para as carnes de rã utilizadas no preparo das dietas experimentais. A carne de rã sem osso foi a que apresentou os valores mais próximos à proteína padrão caseína.

Tabela 03-Teor de proteína dos ingredientes

Fontes proteicas	Teor de proteína (base seca)%
Caseína	82,15
Carne de rã sem osso seca	82,86
Carne de rã sem osso cozida e seca	79,23
Carne de rã com osso seca	67,50
Carne de rã com osso cozida e seca	68,19
Carne de rã mec.separada seca	63,00
Carne de rã mec.separada cozida e seca	68,22

Fonte: análise em laboratório de Nutrição Experimental/DNS/UFV

Na Tabela 4, observam-se os valores encontrados para o Coeficiente de Eficiência Proteica (PER), parâmetro que avalia a capacidade da proteína teste na promoção do crescimento.

Verifica-se que a carne de rã sem osso seca (D1) apresentou o melhor resultado quando comparada aos outros grupos protéicos, mostrando-se significativamente superior à proteína padrão caseína.

Os demais tratamentos não diferiram da proteína padrão de caseína no que se refere ao PER. Avaliando-se o PER relativo, todas as dietas mostraram percentuais superiores a 90%, com a carne de rã sem osso seca (D1) e a carne de rã mecanicamente separada cozida (D6), com resultados acima de 100% (Tabela 4).

Na Tabela 4, também, estão apresentados os valores determinados para o Razão de Eficiência Protéica Líquida (NPR), que avalia a capacidade da proteína de prover aminoácidos para crescimento e manutenção dos tecidos corporais. Sendo também encontrados os valores de NPR relativos à caseína.

Para o método NPR, a RSO seca (D1), novamente, apresentou o melhor desempenho, quando comparada às outras dietas. Os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística da dieta padrão.

Calculando-se o NPR relativo a caseína, todas as dietas apresentaram valores maiores que 90%, sendo que as dietas que continham a RSO seca ou cozida e seca (D1 e D4) e a CMS cozida (D6) apresentaram valores superiores a 100% (Tabela 4).

A RCO cozida (D5) apresentou desempenho inferior aos demais dietas, contudo esta não diferiu estatisticamente da dieta padrão de caseína.

Tabela 04-Coeficiente de eficiência protéica absoluta (PER) e relativo (PERR), Razão protéica líquida absoluta (NPR) e relativa (NPRR).

Tratamento	PER	PERR (%)	NPR	NPRR (%)
CAS	3,83 ± 0,28 ^b	100,00 ^{bc}	4,40 ± 0,24 ^b	100,00 ^{bc}
D1	4,43 ± 0,21 ^a	115,59 ± 5,44 ^a	4,99 ± 0,19 ^a	113,46 ± 4,27 ^a
D2	3,75 ± 0,19 ^b	98,00 ± 5,09 ^{bc}	4,34 ± 0,21 ^b	98,63 ± 4,74 ^{bc}
D3	3,75 ± 0,13 ^b	97,82 ± 3,36 ^{bc}	4,27 ± 0,09 ^b	97,02 ± 1,99 ^c
D4	3,91 ± 0,20 ^b	102,08 ± 5,09 ^{bc}	4,49 ± 0,19 ^b	101,95 ± 4,34 ^{bc}
D5	3,72 ± 0,22 ^b	97,14 ± 5,67 ^c	4,26 ± 0,21 ^b	96,71 ± 4,71 ^c
D6	4,07 ± 0,15 ^{ab}	106,21 ± 3,87 ^b	4,60 ± 0,12 ^b	104,57 ± 2,82 ^b

*Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Dietas: **CAS** - Dieta controle de caseína; **D1**- Rã sem osso seca; **D2**- Rã com osso seca; **D3**- Rã mecanicamente separada seca; **D4**- Rã sem osso cozida e seca; **D5**- Rã com osso cozida e seca; **D6**- Rã mec separada cozida e seca.

Na Tabela 5, estão apresentados os dados encontrados para digestibilidade verdadeira *in vivo*, todas as dietas apresentaram valores de digestibilidade acima de 90%. As dietas que mostraram melhor digestibilidade foram a RSO seca e cozida (D1 e D4) que não diferiram estatisticamente da dieta padrão de caseína. A dieta confeccionada com CMS seca (D3) apesar de não diferir da dieta padrão de caseína, apresentou-se inferior a carne de RSO nas duas preparações. Os menores valores de digestibilidade foram observados nas dietas em que utilizaram as carnes de rã com osso (D2 e D5), independente do processamento ao qual foram submetidas.

Tabela 05- Digestibilidade verdadeira(DIG) e digestibilidade relativa.(DIGR)

Tratamento	DIG (%)	DIGR (%)
CAS	94,53 ± 2,01 ^{ab}	100,00 ^a
D1	93,38 ± 0,72 ^{abc}	98,78 ± 0,76 ^{ab}
D2	91,01 ± 1,22 ^d	96,28 ± 1,29 ^{cd}
D3	92,57 ± 0,76 ^{bcd}	97,93 ± 0,80 ^c
D4	95,01 ± 1,20 ^a	100,51 ± 1,26 ^a
D5	90,40 ± 0,86 ^d	95,63 ± 0,91 ^d
D6	91,85 ± 0,94 ^{cd}	97,16 ± 1,00 ^{bcd}

*Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Dietas: **CAS** - Dieta controle de caseína; **D1**- Rã sem osso seca; **D2**- Rã com osso seca; **D3**- Rã mecanicamente separada seca; **D4**- Rã sem osso cozida e seca; **D5**- Rã com osso cozida e seca; **D6**- Rã mec separada cozida e seca.

4.DISSCUSSÃO

Quanto à composição centesimal da carne de rã sem osso, os valores obtidos no experimento estão condizentes com os dados encontrados na literatura (NOLL e LINDAU, 1987; AZEVEDO e OLIVEIRA, 1988; CORRÊA, 1988; RAMOS, 2000).

Os valores de lipídios são os que apresentaram maior variação, mas essa diferença pode ser justificada pela metodologia utilizada para determinação, que variou entre os estudos, com exceção de RAMOS (2000), que utilizou a técnica de Bligh and Dyer, todos os demais utilizaram a metodologia de extração por éter em Soxhlet.

Não foram encontrados estudos ou dados referentes à composição centesimal da carne de rã com osso (RCO).

CONCEIÇÃO et al. (2000) realizaram estudo da composição centesimal da carne retirada do dorso das rãs, ou seja, a CMS (Tabela 2). Comparando-se com os valores obtidos no experimento tem-se que o CMS utilizado nesse experimento apresentou 1,03% e 3,38% a menos de umidade e proteína respectivamente, 0,60% e 1,61% a mais de lipídios e cinzas na sua composição.

No que se refere a qualidade protéica da carne de rã, NOLL e LINDAU (1987) realizaram um estudo da digestibilidade *in vitro*, utilizando carne de rã crua e cozida, e encontraram como resultado respectivamente 91,95% e 83,91%.

JONG e NOLL (1988), avaliaram a qualidade protéica da carne de rã, obtendo os valores de 82,16% para o PER relativo (PERR), 91,71% para o NPR relativo (NPRR) e uma digestibilidade *in vivo* de 90,74%. Nesse mesmo estudo também avaliaram qualidade protéica da carne de peixe (corvina) e encontraram PERR e NPRR iguais a 99,17% e 92,63% respectivamente e digestibilidade de 95,49%.

No presente experimento, os valores encontrados para as carnes de rã RSO e RCO, quanto aos parâmetros PER e NPR, foram superiores aos encontrados na literatura, enquanto que os valores de digestibilidade foram semelhantes variando de 90 a 95%.

MAcNEIL et al. (1978) avaliaram o coeficiente de eficiência protéica (PER) em carne de frango mecanicamente separada frango (CFMS), retiradas do pescoço ou do dorso assadas sem pele, utilizando-as em separado e um

grupo onde foi oferecida uma mistura das duas partes. Eles encontraram que para a dieta feita com CFMS do pescoço valor para o PERR de 105,54%, para a carne retirada do dorso 76,00% e para a mistura das duas o PERR de 99,38%.

BABJI et al. (1980) avaliaram a qualidade protéica de carnes mecanicamente separadas do pescoço de dorso de frango assado (CMPD), de carne da carcaça de frango cozida (CFMS) e carne mecanicamente separada da carcaça de peru (CPMS). A avaliação da qualidade protéica foi feita por medida do PER e da digestibilidade *in vitro* e *in vivo* aparente. Foram encontrados para as carnes CMPD, CFMS e CPMS respectivamente, os valores de 93,48%, 96,58% e 103,73% para o PERR, 89,33%, 90,00%, 88,65% para a digestibilidade *in vitro* e na *in vivo* aparente 89,92%, 90,11%, 87,04%.

Segundo a OMS (1985), a digestibilidade verdadeira, no homem, é de 97±3% para a proteína do ovo, 95±3% para as proteínas do leite e/ou queijo e de 94±3% para as proteínas de carne e/ou peixe.

Os resultados obtidos pela avaliação da qualidade protéica das carnes de rã, quando comparada aos estudos supracitados, apresentaram valores superiores nos parâmetros de PER e NPR em valores absolutos, mas semelhantes quando se comparam os valores de PER e NPR relativos. Para os dados de digestibilidade os resultados mostraram-se superiores e/ou equivalentes aos dados encontrados na literatura para carne de rã e outras carnes brancas, como frango, peru e peixe.

5-CONCLUSÕES

Conclui-se que, pelos valores apresentados, a carne de rã é uma fonte de proteína de alto valor biológico, com elevada digestibilidade, acima de 90%, apresentando bom desempenho tanto para o crescimento quanto para a manutenção das funções protéicas.

Além de ser uma fonte de proteína de alto valor biológico a carne de rã apresenta, visto a sua composição nutricional, um baixo teor de lipídios, tanto para a carne de rã sem osso, como na carne separada mecanicamente do dorso, podendo ser recomendada como fonte protéica em dietas de restrição lipídica.

6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS **Official Methods of Analysis**, 18th ed., AOAC, Washington, 1998.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS **Official Methods of Analysis**, 15th ed., AOAC, Washington, 1984.

AZEVEDO, S.; OLIVEIRA,C.C. Composição química e análise microbiológica de carne de rã (*Rana catesbeiana*). VI ENAR - Encontro Nacional de Ranicultura. Rio de Janeiro: Associação dos Ranicultores do Rio de Janeiro, **Anais**, p.262-270, 1988.

BABJI,A.S.; FRONING,G.W.; SATTERLEE, L.D. Protein nutritional quality of mechanically deboned poultry meat as predicted by the C-PER assay. **Journal in the Food Science**, v.45, p.441-443, 1980.

BENDER, A.E.; DOELL, B.H. Biological evaluation of proteins: a new aspect. **British Journal of Nutrition**, v.11, n.2, p.140-148, 1957.

BOS, C.; GAUDICHON, C.; TOMÉ, D. Nutritional and physiological criteria in the assessment of milk protein for humans. **Journal of the American College of Nutrition**, v.19, n.2, p.191S-205S, 2000.

CONCEIÇÃO, C.; FURTADO, A.A.L.; SILVA, A.T.; DELIZA, R. Patê de carne de rã (*Rana catesbeiana*).Formulação e aceitabilidade. XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Anais**, v.3, p.11.75, 2000

CORRÊA, A.L.S. **Avaliação composicional de diferentes espécies de rãs e efeitos do armazenamento a -18°C sobre as frações protéicas e lipídicas do músculo da rã touro (*Rana catesbeiana*)**, Dissertação de Mestrado. Ciência de alimentos, Campinas- SP, Unicamp 1988

HERNÁNDEZ, T.; HERNÁNDEZ, A.; MARTÍNEZ, R. Calidad de proteínas. Conceptos y evaluacion. **Alimentaria**, n.27, p.26-37, 1996.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas**. 3ed São Paulo, v.1, 533p., 1985.

JONG, E.V., NOLL, I.B. Determinação do valor nutritivo da carne de rã: valor biológico da proteína. VI ENAR - Encontro Nacional de Ranicultura. Rio de Janeiro: Associação dos Ranicultores do Rio de Janeiro, **Anais**, p.293-298, 1988.

MAcNEIL, J.H.; MAST, M.G.; LEACH, R.M. Protein efficiency ratio and levels of selected nutrients in mechanically deboned poultry meat. **Journal in Food Science**, v.43, p.864-865, 1978.

MAcNURLAN, M.A.; GARLICK, P.J. Proteins synthesis and degradation. In: STIPANUK, M.H. **Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition**, W.B.Saunders Company, p.212, 2000.

MATTHEWS, D.E. Proteínas e aminoácidos. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**, 9 ed., v.1, 1951p. 2003.

NOLL, I.B.; LINDAU, C.F. Aspectos da composição em nutrientes da carne de rã –touro gigante (*Rana catesbeiana*). **Cadernos de Farmácia**, Porto Alegre, v.3, n.1/2, p.29-36, 1987.

PELUZIO, M.C.G.; FORATO, A.L.S.C.; COELHO, A.I.M.; SANT'ANA, H.M.P.; SABARENSE, C.M.; QUEIROZ, V.M.V.; AZEREDO, R.M.C.; CASTRO, F.A.F. Composição centesimal e avaliação nutricional da carne de rã. **Technofrog'95**. 3 a 8 fev. 1995. Viçosa. MG. Brasil. Anais (Vol. 1). Resumos, p.127, 1995.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M.; PARREIRAS, J.F.M.; LIMA, S.L.; PETERNELLI, L. Effect of sex and live weight on bullfrog (*Rana catesbeiana*) meat composition. II Brazilian Congress of Meat Science and Tecnology, p.29-30, 2003.

READ, R.S.D. Macronutrient innovations and their educational implications: proteins, peptides and amino acids. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.11, supp.6, p.S174-S183, 2002.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of The American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **Journal of Nutrition**, v.123, p.1939-1951, 1993.

SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 8.0, Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. (Software).

CAPÍTULO 3

BIODISPONIBILIDADE DE FERRO EM CARNE DE RÃ –TOURO

1. INTRODUÇÃO

O ferro, embora seja um nutriente indispensável, encontra-se em pequena quantidade no organismo. O conteúdo total de ferro, para um indivíduo referência com peso de 70 Kg, é de 4 a 5 g. Destes, 60% encontram-se na hemoglobina presente nos eritrócitos, que desempenha importante papel no transporte de oxigênio para todas as células do corpo. Cerca de 5% encontram-se na mioglobina, nos tecidos musculares, e 5% atuam como componentes de enzimas, conferindo a estas propriedades oxidativas, importantes no metabolismo energético e no funcionamento do sistema imune. O restante do ferro encontra-se na forma de reserva como ferritina e hemossiderina ou ligado a transferrina no plasma e fluidos corporais. O ferro não é encontrado livre no organismo, estando sempre ligado a proteínas de transporte ou de reserva, o que exerce um efeito protetor contra a formação de radicais livres, cuja reação é favorecida pela presença de íons livres de ferro (LYNCH, 1997; MARTÍNEZ et al., 1999; ZIJP et al., 2000).

Apesar do ferro estar amplamente distribuído na natureza, é o segundo mineral em abundância na crosta terrestre, a anemia por deficiência de ferro é um dos mais comuns problemas de deficiência nutricional no mundo, atingindo tanto países desenvolvidos, como os países em desenvolvimento (MONSEN, 1999).

A anemia ferropriva atinge, atualmente, cerca de meio bilhão de pessoas em nível mundial abrangendo todos os segmentos da população, inclusive os

homens, mas tem nas crianças, adolescentes, gestantes, lactentes e mulheres em idade fértil os principais atingidos (BEARD, 1996; PAIVA et al., 2000; MACPHAIL, 2001).

A deficiência de ferro é decorrente do baixo consumo do mineral ou do uso de uma dieta básica contendo ferro de baixa biodisponibilidade (ZHANG et al., 1988), o que é observado principalmente nos países em desenvolvimento, onde as dietas têm por base os grãos e cereais (MACPHAIL, 2001).

No esforço de reduzir esse quadro, principalmente nos países em desenvolvimento, a fortificação de matérias-primas alimentares básicas de amplo consumo tem sido considerada, como a abordagem mais eficiente e mais barata para a correção da deficiência de ferro, objetivando um efeito a longo prazo. Além disso, estudos têm sido realizados para o desenvolvimento de novos produtos fortificados com ferro, tentando oferecer uma forma de ferro de maior biodisponibilidade (MACPHAIL, 2001).

Apesar da sua ampla distribuição nos alimentos, pois o ferro é encontrado tanto em alimentos de origem animal como vegetal, e dependendo da forma como é encontrado no alimento, este apresenta diferenças na sua biodisponibilidade (LYNCH, 1997; MARTÍNEZ et al., 1999).

O ferro é encontrado nos alimentos em duas formas básicas, ferro heme e ferro não heme. O ferro heme é aquele ligado à proteína e presente somente nos tecidos musculares de animais, ou seja, as carnes de uma forma geral. O ferro não heme, encontra-se na forma inorgânica ou ionizada (Fe^{+2} e Fe^{+3}), e está presente tanto em alimentos de origem animal quanto vegetal. O ferro heme apresenta maior biodisponibilidade por não sofrer interferências de componentes antinutricionais como fitatos, oxalatos, taninos, entre outros, na sua absorção. Enquanto o ferro não heme, além de sofrer a atuação destes fatores, tem sua melhor absorção quando se encontra na sua forma reduzida ou íon ferroso Fe^{+2} (HURREL, 1997; ZIJP et al., 2000).

O estudo da biodisponibilidade de ferro nos alimentos possibilita estimar a quantidade de ferro alimentar biologicamente disponível, o que influenciará em um melhor planejamento alimentar e em intervenções dietéticas mais eficientes no tratamento da anemia ferropriva.

A carne de rã tem sido citada como uma boa fonte protéica e com baixo valor calórico, sendo indicada para o tratamento de patologias que requeiram restrição calórica e no tratamento de alergias alimentares. Contudo, são

poucos os estudos feitos com relação às propriedades nutricionais da referida carne, principalmente no que se refere à biodisponibilidade de minerais.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a biodisponibilidade do ferro presente na carne de rã, em três apresentações: carne de rã sem osso (RSO), carne de rã com osso (RCO) e carne de rã mecanicamente separada (CMS).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparo das carnes de rã

A carne de rã foi adquirida no ranário Anfigranja Tambiu, localizado em Ponte Nova - MG, onde as rãs foram abatidas no início de Janeiro de 2003. A carne mecanicamente separada (CMS), foi produzida logo após o abate das rãs utilizando equipamento confeccionado em material inoxidável.

Após o abate, as carnes de rã foram mantidas sob temperatura -18°C em freezer doméstico, e descongeladas conforme a necessidade de uso. O descongelamento ocorreu em refrigerador a 4°C , por período de aproximadamente 12 horas, utilizando-se vasilhames fundos, confeccionados de vidro ou aço inox, previamente enxaguados com água deionizada, para que o líquido do descongelamento pudesse ser aproveitado para a secagem.

2.1.1. Carne de rã sem osso

Após o descongelamento, a rã foi desossada manualmente, utilizando-se utensílios de aço inox e polietileno, previamente lavados em água corrente e enxaguados com água deionizada. Feita a desossa, a carne foi moída em moedor de carne elétrico, marca PASIANI e, posteriormente, submetida à secagem em estufa de ar circulante, marca FANEM, modelo 320-SE, com circulação de ar mecânica, à temperatura média de $65 \pm 2^{\circ}\text{C}$, por período de 8 a 10 horas.

A carne desidratada foi triturada em multiprocessador doméstico, marca ARNO, para obtenção de uma farinha. Esta foi acondicionada em sacos plásticos rotulados e mantida sob refrigeração (4°C), até o preparo das dietas.

2.1.2. Carne de rã com osso

Após o descongelamento, a rã, em sua totalidade, foi submetida à moagem, em moedor de carne elétrico, marca PASIANI e, após esse processo, foi submetida à secagem, triturada e armazenada, conforme descrito para a carne de rã sem osso.

2.1.3. Carne mecanicamente separada

A carne de rã mecanicamente separada (CMS) foi adquirida de forma processada, não sendo submetida à moagem, seguindo os procedimentos anteriormente mencionados.

2.1.4. Preparo das dietas

As dietas foram preparadas de acordo com AIN-93G (REEVES et al., 1993), indicada para animais em fase de crescimento. Os ingredientes foram pesados, individualmente, em balança semi-analítica da marca Marte e modelo AS 5500 C. Inicialmente foram misturados manualmente em vasilhames plásticos previamente lavados e enxaguados com água deionizada, e a seguir em batedeira semi-industrial, marca LIEME, por um período de aproximadamente 15 minutos.

2.2 Ensaio biológico

Este experimento foi realizado nos laboratórios de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde e de Espectrometria de Absorção Atômica do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Foram utilizados 96 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe Rodentia), da linhagem Wistar, recém-desmamados, com 21 dias de idade, oriundos do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e de Saúde da UFV, com peso inicial variando entre 47 e 57 gramas.

Os animais foram submetidos a uma fase inicial de depleção de ferro seguida de uma fase de repleção, segundo metodologia adaptada da AOAC (1984).

2.2.1. Fase de depleção

A fase de depleção teve duração de 21 dias. Nesse período, os animais receberam dieta AIN-93G (REEVES et al., 1993), modificada conforme Tabela 1, utilizando mistura de minerais isenta de ferro (Tabela 2) e água deionizada *ad libitum* para a promoção da anemia.

Os animais foram mantidos em gaiolas de aço inoxidável, à temperatura de 22°C e fotoperíodo de 12 horas.

No início dessa fase foi retirado sangue de sete ratos escolhidos aleatoriamente para estimar a dosagem de hemoglobina basal.

O ganho de peso dos animais e o consumo alimentar foram avaliados semanalmente.

Tabela 1- Composição da dieta para a fase de depleção com base na AIN-93 G

Ingredientes	g/Kg de dieta
Caseína (\geq 85% proteína)	200,00
Amido dextrinizado (90-94%tetrassacarídeos)	132,00
Sacarose	100,00
Óleo de soja	70,00
Fibra (celulose)	50,00
Mix de minerais (AIN-93G) sem ferro	35,00
Mix vitamínico (AIN-93)	10,00
L-Cistina	3,00
Bitartarato de colina	2,50
Amido de milho	397,50

Fonte: REEVES et al., 1993.

2.2.2 Fase de repleção

Após o período de depleção e avaliação dos níveis de hemoglobina, os animais foram divididos em 12 blocos de modo que os níveis médios de hemoglobina e de peso fossem os mais próximos possíveis entre os grupos. Foram utilizadas quatro diferentes fontes de ferro, sulfato ferroso (FeSO_4), carne de rã sem osso (RSO), carne de rã com osso (RCO), carne de rã mecanicamente separada (CMS), e utilizando para cada tratamento três níveis de ferro: 6,12 e 24 ppm em grupos com 8 repetições. Os animais receberam água deionizada *ad libitum* e dieta controlada, pesada diariamente, por um período de 14 dias.

A composição das dietas utilizadas durante a fase de repleção encontra-se na Tabela 3.

Tabela 2 – Composição da mistura de minerais sem ferro.

Ingredientes	g/Kg de mistura
Elementos minerais essenciais	
Carbonato de cálcio anidro	357,00
Fosfato de Potássio monobásico	196,00
Citrato de Potássio, tri-potássio, monohidratado	70,78
Cloreto de sódio	74,00
Sulfato de potássio	46,60
Óxido de Magnésio	24,00
Carbonato de zinco	1,65
Carbonato de manganês	0,63
Carbonato de cobre	0,30
Iodato de potássio	0,01
Selenato de sódio anidro	0,01025
Paramolibdato de amônio 4 hidrato	0,00795
Elementos minerais potencialmente benéficos	
Meta Silicato de sódio anidro	1,45
Sulfato de cromo e potássio 12 hidrato	0,275
Cloreto de lítio	0,0174
Ácido bórico	0,0815
Fluoreto de sódio	0,0635
Carbonato de níquel	0,0318
Vanadato de amônio	0,0066
Sacarose	227,086 (completar 1kg)

Fonte: REEVES et al., 1993.

Tabela 3 - Composição das dietas na fase de repleção (g/Kg).

Ingredientes	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12
Caseína	160,30	350,29	641,19	—	—	—	—	—	—	104,79	209,58	419,17
Carne rã s/osso*	—	—	—	158,73	317,46	634,92	—	—	—	—	—	—
Carne rã c/osso*	—	—	—	—	—	—	196,72	393,44	786,89	—	—	—
Carne mec.separada*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	72,29	144,58	289,17
Amido dextrinizado	132,00	132,00	107,11	132,00	132,00	110,71	132,00	132,00	24,24	132,00	132,00	68,93
Sacarose	100,00	100,00	81,14	100,00	100,00	83,87	100,00	100,00	18,37	100,00	100,00	52,23
Óleo de soja	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00
Celulose microfina	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Sulfato Ferroso	0,0157	0,0312	0,0625	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mistura salina **	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Mistura vitamínica	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
L-cistina	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Bitartarato de colina	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Amido de milho	437,19	276,88	—	438,77	280,04	—	400,78	204,06	—	420,42	243,33	—

* Teor de ferro nas carnes de rã, em base seca, RSO = 3,05 mg/100g M.S., RCO = 3,78 mg/100 M.S, CMS = 8,30 mg/100 M.S., Caseína = 1,78 mg de Fe/100g

** Mistura de minerais AIN-93G isenta de ferro.

D1- Dieta sulfato ferroso 6 ppm; **D2**- Dieta sulfato ferroso 12 ppm; **D3**- Dieta sulfato ferroso 24 ppm; **D4**- Dieta carne de rã s/ osso 6 ppm; **D5**- Dieta carne de rã s/ osso 12 ppm; **D6**- Dieta carne de rã s/ osso 24 ppm; **D7**- Dieta carne de rã c/ osso 6 ppm; **D8** – Dieta carne de rã c/ osso 12 ppm; **D9**- Dieta carne de rã c/ osso 24 ppm; **D10** – Dieta rã mec. separada 6 ppm; **D11**- Dieta rã mec. separada 12 ppm; **D12** – Dieta rã mec. separada 24 ppm.

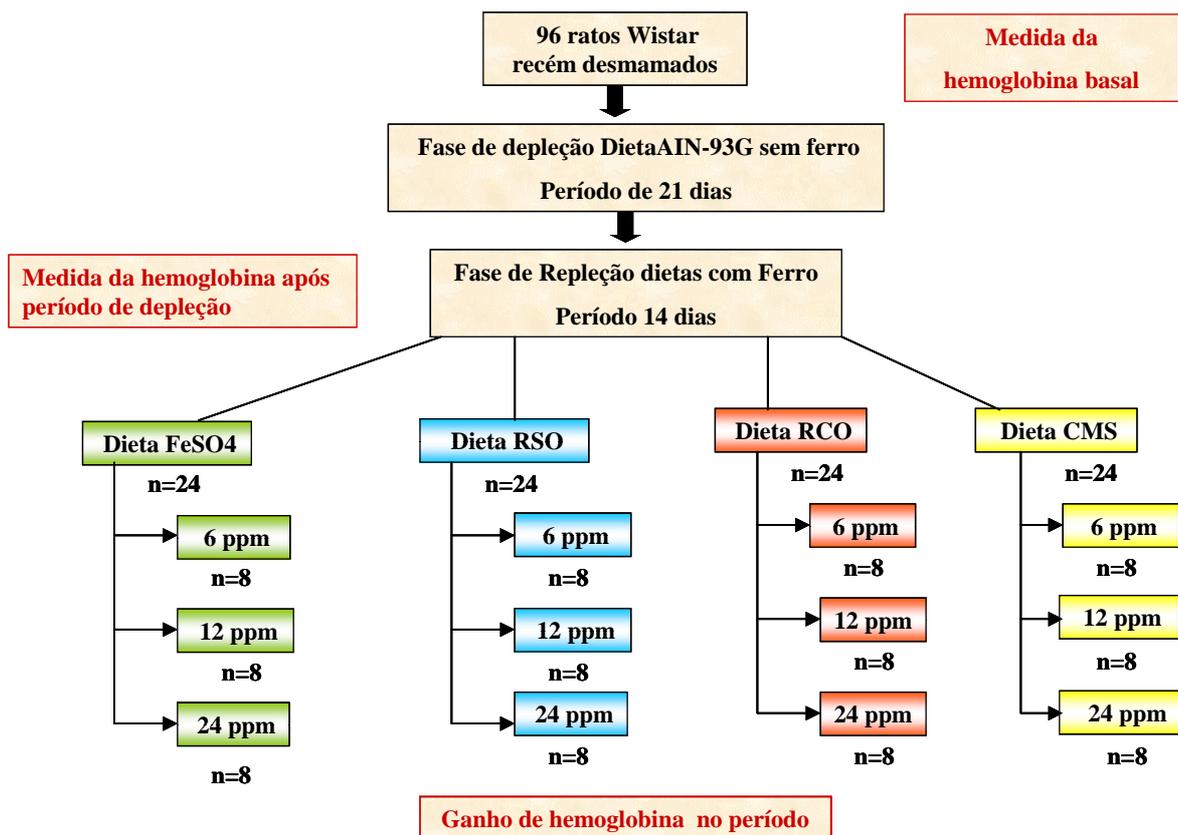


Figura 1: Desenho experimental do ensaio biológico para avaliação da biodisponibilidade de ferro em carnes de rã –touro.

2.3 Determinação de hemoglobina

A hemoglobina foi dosada pelo método da cianometahemoglobina, utilizando kit da Analisa Diagnóstico. O sangue foi coletado em vidro de relógio, após incisão na porção terminal da cauda do animal. Deste, foram retirados 20 μ L, que foram misturados a 5 mL do reagente de cor Solução de Drabkin, composta de cianeto de potássio e ácido cianídrico. Esse método baseia-se em reação colorimétrica, com a reação entre o ferro presente na hemoglobina e o cianeto da solução de Drabkin, formando cianometahemoglobina, de coloração vermelha, cuja intensidade varia conforme o teor de ferro presente no sangue analisado.

A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV-Visível, marca SHIMADZU UV-1601, no comprimento de onda de 540 nm.

Para o cálculo da concentração de hemoglobina das amostras de sangue foi utilizado como referência, o valor de leitura da absorbância de uma solução padrão de hemoglobina de concentração correspondente a 10g/dL.

2.4. Determinação do teor de ferro.

O teor de ferro das carnes de rã, caseína e das dietas experimentais foi determinado, por digestão via úmida de 0,5 g da amostra, utilizando 5 mL da mistura digestora nítrico-pérlórica 3:1 e submetida à temperatura de 150°C, por período de aproximadamente 3 horas, em bloco digestor Kjeldhaltherm-Gerhart, modelo KB 40S, ou até a obtenção de solução límpida de coloração amarela, sem presença de resíduos.

A solução obtida foi diluída para 25 mL com água deionizada e a leitura feita em espectrofotômetro de absorção atômica com aspiração direta em chama de ar/acetileno, modelo GBC 908 AA, no comprimento de onda de 248,3 nm.

Toda a vidraria utilizada para análise foi desmineralizada, por imersão do material em solução de HCl a 20%, por período mínimo de 24 horas, e posterior enxágüe, por 3 vezes, com água deionizada.

2.5. Análise estatística

Utilizou-se o desenho experimental de delineamento em blocos casualizados, com 8 repetições, no esquema fatorial 4X3, sendo 4 tratamentos e 3 níveis de ferro.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SAEG versão 8.0. Foi feita análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, para comparação das médias onde houve significância em nível de 5% de significância. Para avaliação do efeito dos níveis de ferro utilizados fez-se análise de regressão, utilizando-se o programa Excel para Windons versão 2000.

3-RESULTADOS

Na análise do teor de ferro dos ingredientes da dieta foram obtidos os valores, em base úmida, de 0,73 mg/ 100g; 0,67 mg/ 100g e 1,46mg/ 100g para RSO, RCO e CMS respectivamente.

De acordo com a Tabela 4, o grupo que recebeu a dieta RSO 24 ppm apresentou o maior ganho de hemoglobina, sendo superior em valor absoluto, mas não diferindo estatisticamente da dieta padrão de sulfato ferroso, no mesmo nível de ferro. A dieta contendo sulfato ferroso 12 ppm apresentou um ganho intermediário não diferindo estatisticamente do padrão sulfato ferroso 24 ppm, nem das demais dietas. Enquanto, nas dietas com sulfato ferroso 6 ppm, e CMS 6 e 12 ppm foi observada a redução dos níveis de hemoglobina.

Na Figura 1, observam –se às curvas de regressão linear do ganho de hemoglobina em função do tratamento e dos níveis de ferro das dietas. Foi verificado que os tratamentos contendo como fonte de ferro a RSO e o sulfato ferroso apresentaram um ganho de hemoglobina proporcional ao nível de ferro na dieta. Enquanto que as dietas RCO e CMS apresentaram valores de ganho de hemoglobina semelhantes, independente da concentração de ferro fornecida.

Nas dietas RCO e CMS, não foi verificado aumento, significativo dos níveis de hemoglobina ($p>0,05$). E as duas dietas não foram capazes de recuperar os níveis basais de hemoglobina de 11,76 g/dL, conforme os valores encontrados para hemoglobina final (Tabela 5)

Na Tabela 5, observa-se que os níveis iniciais de hemoglobina, do período de depleção, não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$), demonstrando que não havia variação entre as médias de hemoglobina dos grupos e, portanto que estes não tiveram influência nos resultados obtidos.

Com relação aos níveis de hemoglobina no final do período de repleção, os grupos que receberam as dietas RSO e sulfato ferroso na concentração de 24 ppm foram os que obtiveram maiores níveis de hemoglobina final, com valores estatisticamente superiores aos demais tratamentos.

Avaliando-se o ganho de peso final dos animais, a dieta RSO 24 ppm apresentou média superior estatisticamente aos demais grupos, mas diferiu somente das dietas, com sulfato ferroso 24 ppm e RCO 6 e 24 ppm.

O coeficiente de eficiência alimentar (CEA) foi avaliado somente no período de repleção, pois durante a primeira fase todos receberam o mesmo

tipo de dieta. Contudo, apesar da diferença encontrada no ganho de peso final, o mesmo não foi observado para CEA onde não foi observada diferença ($p < 0,05$) entre os grupos.

Tabela 04 – Ganho de hemoglobina na fase de repleção nos diferentes tratamentos nos três níveis de ferro.

Tratamentos	Níveis de ferro		
	6 ppm	12 ppm	24 ppm
FeSO₄	-0,02± 1,38 ^c	1,96± 1,46 ^{bc}	4,32± 2,10 ^{ab}
RSO	0,28± 1,73 ^c	0,71±1,92 ^c	5,96± 2,88 ^a
RCO	0,58± 1,80 ^c	0,09± 1,10 ^c	0,76± 2,01 ^c
RMS	-0,21± 1,78 ^c	-0,22± 1,31 ^c	0,54± 1,74 ^c

*Valores seguidos por uma mesma letra não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RSO= rã sem osso, **RCO**= rã com osso, **RMS**= carne mecanicamente separada.

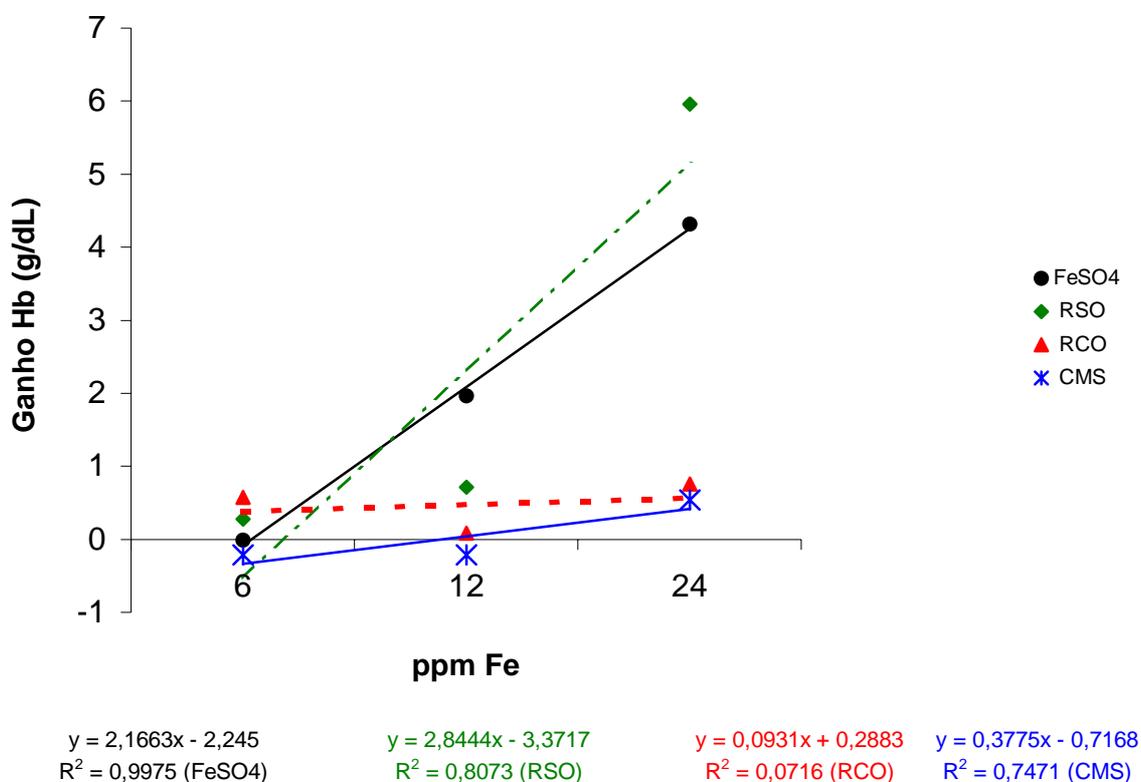


Figura 1 –Regressão do ganho de hemoglobina (Hb) nos três níveis de ferro.

Tabela 5 – Níveis de hemoglobina (Hb) do período de repleção (inicial e final), ganho de peso (GP) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA).

Dietas	Hb inicial (Med±DP)	Hb final (Med±DP)	GP (Med±DP)	CEA (Med±DP)
D1	5,70 ± 1,65 ^{ns}	5,69 ± 0,71 ^c	168,13 ± 11,58 ^{ab}	27,87 ± 3,40 ^{ns}
D2	5,69 ± 1,49 ^{ns}	7,66 ± 0,54 ^b	177,13 ± 8,69 ^{ab}	27,83 ± 3,76 ^{ns}
D3	5,72 ± 1,44 ^{ns}	10,03 ± 1,68 ^a	164,50 ± 13,63 ^b	29,05 ± 2,38 ^{ns}
D4	5,71 ± 1,41 ^{ns}	5,99 ± 0,81 ^{bc}	177,13 ± 7,68 ^{ab}	26,82 ± 2,18 ^{ns}
D5	5,69 ± 1,37 ^{ns}	6,40 ± 0,82 ^{bc}	179,00 ± 10,52 ^{ab}	28,60 ± 4,28 ^{ns}
D6	5,67 ± 1,33 ^{ns}	11,63 ± 2,04 ^a	184,75 ± 5,92 ^a	30,16 ± 3,24 ^{ns}
D7	5,68 ± 1,24 ^{ns}	6,26 ± 1,09 ^{bc}	162,25 ± 7,96 ^b	26,44 ± 4,79 ^{ns}
D8	5,68 ± 1,22 ^{ns}	5,77 ± 0,67 ^c	169,75 ± 7,46 ^{ab}	29,21 ± 4,45 ^{ns}
D9	5,67 ± 1,04 ^{ns}	6,43 ± 1,28 ^{bc}	161,88 ± 10,71 ^b	25,10 ± 2,32 ^{ns}
D10	5,67 ± 1,21 ^{ns}	5,46 ± 1,00 ^c	167,88 ± 13,94 ^{ab}	25,96 ± 1,64 ^{ns}
D11	5,68 ± 1,23 ^{ns}	5,46 ± 0,54 ^c	173,5 ± 8,99 ^{ab}	27,26 ± 3,05 ^{ns}
D12	5,69 ± 1,23 ^{ns}	6,23 ± 0,91 ^{bc}	167,75 ± 19,18 ^{ab}	23,85 ± 6,47 ^{ns}

n.s. não significativo pelo teste “F” ao nível de 5% de probabilidade.

Valores seguidos pela mesma letra não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade

D1- Dieta sulfato ferroso 6 ppm; **D2**- Dieta sulfato ferroso 12 ppm; **D3**- Dieta sulfato ferroso 24 ppm; **D4**- Dieta carne de rã s/ osso 6 ppm; **D5**- Dieta carne de rã s/ osso 12 ppm; **D6**- Dieta carne de rã s/ osso 24 ppm; **D7**- Dieta carne de rã c/ osso 6 ppm; **D8** – Dieta carne de rã c/ osso 12 ppm; **D9**- Dieta carne de rã c/ osso 24 ppm; **D10** – Dieta rã mec. separada 6 ppm; **D11**- Dieta rã mec. separada 12 ppm; **D12** – Dieta rã mec. separada 24 ppm.

4-DISCUSSÃO

Os tecidos musculares, de uma forma geral, são tidos como boas fontes de ferro com elevada biodisponibilidade, principalmente por apresentar o ferro na forma heme mais biodisponível, mas também, pelo efeito do “fator carne”, que chega a aumentar de 2 a 4 vezes a absorção do ferro não heme presente em uma determinada refeição (COOK e MONSEN, 1976, HALLBERG et al., 2000, ZIJP et al., 2000).

A carne de rã sem osso (RSO) apresentou-se como uma fonte de ferro de alta biodisponibilidade, capaz de promover um ganho de hemoglobina nos ratos, levando-os a alcançar um valor de hemoglobina final (11,63 g/dL), semelhante aos valores basais avaliados no início do experimento de 11,76 g/dL.

A baixa biodisponibilidade do ferro apresentada pelas dietas que utilizaram RCO e CMS pode ser justificada pelo elevado teor de cálcio presente nas carnes, o que deve ter impedido a eficiente absorção do ferro e, em consequência, reduzindo a sua biodisponibilidade.

Diversos estudos têm demonstrado a interação negativa entre o cálcio e o ferro. Esse efeito, em geral, guarda uma relação dose dependente, ou seja, quanto maior a dose de cálcio mais acentuada a redução na absorção do ferro, até o valor máximo de 300 mg de cálcio, valor a partir do qual não foi observada redução adicional com relação à absorção de ferro (WHITING e WOOD, 1997, LYNCH, 2000; YBARRA et al., 2001;).

BARTON et al. (1983) avaliaram a absorção do ferro não heme em nível de duodeno e jejuno, quando do fornecimento concomitante de uma solução de cloreto ferroso (FeCl_2) e cloreto de cálcio (CaCl_2). O estudo foi feito com ratos anêmicos e não anêmicos, sendo que em ambos, foram utilizados um grupo controle com níveis normais de cálcio e um grupo recebendo doses elevadas de cálcio, na forma de uma solução 200mM.

Encontrou-se para o grupo não anêmico, uma redução significativa de 23,2% na absorção do ferro em nível de duodeno e de 9,3 % no jejuno nos ratos que receberam a dieta suplementada com cálcio em relação ao controle. Para o grupo anêmico a redução na absorção foi de $51,9 \pm 2,4\%$ no grupo controle e de $29,7 \pm 2,4\%$ nos ratos recebendo a dose elevada de cálcio (BARTON et al., 1983).

SHAB et al. (1990) avaliaram o efeito da adição de diferentes doses de cálcio na absorção do ferro e outros minerais. Neste estudo eles ofereceram três níveis diferentes de cálcio, 0,26%, 0,52% e 2,08%, durante seis semanas com a avaliação dos níveis de ferro na terceira e na última semana. Observou-se uma redução significativa da absorção do ferro da dieta com teor elevado de cálcio (2,08%). Os valores observados para a absorção de ferro na última semana foi menor ($p < 0,01$) do que os da terceira semana para todos os níveis e a para a dieta 2,08% menor que as demais dietas ($p < 0,05$).

HALLBERG et al. (1991), em estudo com humanos, utilizaram, como fonte de ferro heme, pães fortificados com cloreto de férrico (FeCl_3) e com a adição conjunta de doses de 40 a 600 mg de cálcio, sob a forma de cloreto de cálcio (CaCl_2), tanto na massa de preparo do pão como após o seu preparo. No primeiro caso, encontrou-se que quando adicionado à massa, o acréscimo de 40 mg de cálcio reduziu a absorção de ferro em 40%. A redução foi equivalente ao aumento da dose de cálcio até a concentração de 300 mg, com uma redução de 75%. A partir da concentração de 300 mg até 600 mg o aumento da dose não acarretou em redução significativa da absorção de ferro.

Quando a da adição do cloreto de cálcio foi feita após preparo da massa do pão, a redução mostrou-se menor, não apresentando efeito na concentração de 40 mg de cálcio. Com o aumento dos níveis de cálcio adicionados, como no primeiro teste foi observada uma redução da absorção de ferro dose-dependente, até o máximo de 300 mg de cálcio adicionado atingindo o valor máximo de 60% (HALLBERG et al., 1991).

Ao testar a absorção do ferro, quando da oferta de pãezinhos juntamente com leite ou queijo, onde as fontes alimentares contribuíam com 165 mg de cálcio, foram encontrados valores de redução na absorção do ferro de 57% com o leite e 46% com o queijo. (HALLBERG et al., 1991).

Em estudo avaliando a influência do teor de cálcio, em refeições contendo carne, HALLBERG et al. (1991) ofereceram aos indivíduos hambúrguer juntamente com 165 mg de cálcio na forma de CaCl_2 , verificando-se uma redução significativa da absorção do ferro. Ao final dos diversos estudos os autores concluíram que o cálcio afeta a biodisponibilidade do ferro nas duas formas dietéticas do ferro.

O mecanismo pelo qual a interação entre esses minerais ocorre, ainda não está bem esclarecido, mas, acredita-se que esta se dê na etapa de

transferência do ferro absorvido dos enterócitos, pela membrana basolateral, para a circulação sanguínea, etapa esta indistinta para ambas apresentações do ferro dietético (HALLBERG et al., 1991).

COOK e MONSEN (1991) estudaram o efeito da adição de três sais cálcio, carbonato, fosfato e citrato de cálcio, na absorção do ferro não heme em humanos, quando este foi oferecido no café da manhã e em uma refeição contendo hambúrguer. Foi encontrada uma redução da absorção do ferro, na refeição com hambúrguer de 32% ($p < 0,001$) para o carbonato de cálcio, 39% para o fosfato de cálcio ($p < 0,03$), mas de somente 11% para o citrato de cálcio ($p > 0,10$). O grau inibição para a absorção do ferro observado foi semelhante para os três sais, ao avaliar-se o café da manhã. Encontraram-se valores de 32% para o carbonato ($p < 0,05$), 57% para o citrato ($p < 0,01$) e 63% para o fosfato, não sendo observada diferença entre os sais.

Em estudo para avaliar a interferência do cálcio na absorção do ferro heme, em humanos, HALLBERG et al. (1992a) ofereceram aos voluntários, refeições com ferro heme, na forma de hambúrgueres ou pãezinhos fortificados com hemoglobina, juntamente com 165 mg de cálcio na forma de cloreto de cálcio. Encontraram uma redução na absorção de ferro heme de 41% e 48%, respectivamente, não havendo diferença ($p > 0,05$), com relação à inibição da absorção do ferro quando comparados os grupos. Concluiu-se que o cálcio inibe a absorção do ferro heme, independente da presença da carne na refeição.

Em outro estudo, HALLBERG et al. (1992b) avaliaram em humanos o efeito na absorção do ferro, quando do consumo de refeições como pizza e hambúrguer, acompanhados ou adicionados de milkshake, leite ou queijo e verificou-se uma redução de 50 a 60 % da absorção do ferro. Nesse estudo concluiu-se que os produtos lácteos reduziram ($p < 0,0001$) a absorção do ferro não heme dessas refeições.

GLEERUP et al. (1995) mediram a absorção de ferro não heme em mulheres durante o período de 10 dias, quando da oferta de 937 mg de cálcio/dia pelo consumo de queijo ou leite, distribuído somente no almoço ou jantar, ou ao longo das refeições do dia. Foi encontrado que houve um aumento de cerca de 30% a 50% quando o almoço ou jantar foi servido sem o acréscimo do queijo ou leite.

Dessa forma, em diversos estudos, o cálcio tem mostrado apresentar um efeito inibitório importante na biodisponibilidade do ferro dietético, esteja este na forma heme ou não-heme, contudo não impede totalmente a sua absorção, o que foi verificado neste estudo.

A carne de rã sem osso (RSO) apresentou uma recuperação linear da hemoglobina de acordo com o aumento do teor de ferro da dieta, tendo um comportamento comparável ao do sulfato ferroso, no nível de 24 ppm.

Contudo, o baixo conteúdo de ferro apresentado pela carne de rã faria necessário o consumo de uma quantidade diária de carne muito elevada para que se pudesse recuperar um estado de anemia, mas se esta for oferecida dentro de uma dieta equilibrada, contendo todos os grupos alimentares, constitui-se numa fonte de ferro de boa qualidade, por ser uma fonte de origem animal e favorecer a absorção do ferro não heme.

Enquanto as carnes de rã com osso (RCO) e mecanicamente separada (CMS), apesar de não terem recuperado os valores basais de hemoglobina, conseguiram manter os níveis de hemoglobina encontrados no período inicial da repleção, demonstrando que parte do ferro fornecido por essas carnes foi absorvido. Portanto, os elevados níveis de cálcio encontrados nessas carnes interferiram na absorção do ferro, impedindo o seu adequado aproveitamento e conseqüentemente, a recuperação dos níveis basais de hemoglobina nos ratos.

5. CONCLUSÃO

Apesar da carne de rã apresentar teor de ferro inferior ao da carne vermelha, ao ser utilizada como opção de proteína na alimentação poderá oferecer ferro de boa biodisponibilidade. Isso poderá ocorrer desde que, dentro de uma dieta variada e equilibrada vindo a contribuir para a manutenção das reservas corporais de ferro, como no caso da carne de rã sem osso (RSO).

Contudo, diante dos resultados obtidos, somente na concentração de 24 ppm, a RSO, obteve comportamento comparável ao padrão sulfato ferroso. Considerando-se os baixos teores de ferro apresentados pela carne de rã, seria necessário o consumo de grande quantidade desta, para obtenção do mineral em níveis suficientes para a recuperação de um estado de anemia.

As carnes RCO e CMS mostraram-se inferiores, independente do teor de ferro em recuperar os níveis de hemoglobina dos animais aos valores basais. Contudo, pode-se observar que estas conseguiram manter os níveis de hemoglobina encontrados no período inicial da fase de repleção. Portanto, as carnes RCO e CMS foram capazes de preservar os estoques de ferro, evitando uma maior redução das reservas corporais.

Pode-se, então, afirmar que parte do ferro presente nas carnes RCO e CMS encontra-se disponível, no entanto, estas não devem ser recomendadas nas dietas para recuperação de quadros de deficiência de ferro, tanto pelo baixo teor de ferro apresentado, como pelos elevados teores de cálcio que, como foi observado, reduziu de forma importante a biodisponibilidade do ferro presente nessas carnes.

6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS **Official Methods Of Analysis**, 18th ed., AOAC, Washington, 1998.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS **Official Methods Of Analysis**, 13th ed., AOAC, Washington, 1984.

BARTON,J.C.; CONRAD,M.E.; PARMLEY, R.T. Calcium inhibition of inorganic iron absorption in rats. **Gastroenterology**, n.84, p.90-101, 1983.

BEARD, J.L.; DAWSON, H.; PIÑERO, D.J. Iron metabolism: A Comprehensive Review. **Nutrition Reviews**, v.54, n.10, p.295-317, 1996.

COOK, J.D.; MONSEN, E.R. Food iron absorption in humans subjects. III Comparasion of the effect of animal proteins on nonheme iron absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.29, p.859-867, 1976.

COOK, J.D.; DASSENKO, S.A.; WHITTAKER, P. Calcium supplemetation: effect on iron absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.53, p.106-111, 1991.

GLEERUP, A.; ROSSANDER –HÚLTHEN, L.; GRAMATKOVSKI, E.; HALLBERG,L. Iron absorption from the whole diet: comparasion of the effect of two different distributions of daily calcium intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.61, n.1,.p.97-104, 1995.

HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ERLANDSSON, M.; SANDBERG, A.; ROSSANDER-HULTEN, L. Calcium: effect of different amounts on nonheme and heme-iron absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.53, p.112-119, 1991.

HALLBERG,L.;ROSSADER-HÚLTEN,L.;BRUNE,M.;GLEERUP,A. Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. **British Journal of Nutrition**, v.69, p.533-540, 1992a.

HALLBERG, L.; ROSSANDER-HÚLTHEN, L.; BRUNE, M. GLEERUP,A. Calcium and iron absorption mechanism of action and nutritional importance. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.49, p.317-327, 1992b.

HALLBERG,L.; HÚLTHEN, L. Prediction of dietary iron absorption; na algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, p. 1147-1160, 2000.

HURREL, R.F. Bioavailability of iron. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.51, suppl.1, p.S4-S8, 1997.

LYNCH, S.R. Interaction of Iron With Other Nutrients. **Nutrition Reviews**, v.55, n.4, p.102-110, 1997.

LYNCH, S.R. The effect of calcium on iron absorption. **Nutrition Research Reviews**, v.13, p.141-158, 2000.

MAcPHAIL,A.P. Iron deficiency and the developing world. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Suppl, v.51, n.1, p.2-6, 2001.

MARTÍNEZ, C.; ROS, G.; PERIAGO, M.J.; LÓPEZ, G. Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.49, n.2, p.106-113,1999.

MONSEN, E.R. The ironies of iron. **American Journal of Clinical Nutrition**, n.69, p.831-832, 1999.

PAIVA, A.A.; RONDÓ, P.H.C.; GUERRA-SHINOHARA, E.M. Parameters for the assessment of iron status. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.4, p.421-426, 2000.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of The American Institute of Nutriton Ad Hoc

Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **Journal of Nutrition**, v.123, p.1939-1951, 1993.

SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 8.0, Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. (Software).

ZHANG, D.; HENDRICKS,D.G.; MAHONEY, A W. Bioavailability of total iron from meat,spinach (*Spinacea olearacea* L.) and meat-spinach mixtures by anaemic and non-anaemic rats. **British Journal of Nutrition**, v.61,p.331-343, 1998.

ZHANG, D.; HENDRICKS,D.G.; MAHONEY, A W. Bioavailability of total iron from meat, spinach (*Spinacea olearacea* L.) and meat-spinach mixtures by anaemic and non-anaemic rats. **British Journal of Nutrition**, v.61,p.331-343, 1998.

ZIJP, I.M.; KORVER ,O.; TIJBURG ,L.B.M. Effect of tea and other dietary factors on iron absorption, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.40, n.5, p.371-398, 2000.

YBARRA, L.M.; COSTA,N.M.B.; FERRREIRA,C.L.L.F. Interação cálcio e ferro. **Nutrire: Revista Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v.22, p.85-107, 2001.

WHITING, S.J.; WOOD, R.J. Adverse effects of high-calcium diets in humans. **Nutrition Reviews**, v.55, n.1, p.1-9, 1997.

CAPITULO 4

BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO EM CARNE DE RÃ –TOURO

1. INTRODUÇÃO

O cálcio representa de 1 a 2 % do peso corpóreo de um humano adulto. Destes, cerca de 99% encontram-se como componente de dentes e ossos e, o restante, encontra-se distribuído no sangue, fluido extracelular, músculo e outros tecidos, onde desempenha funções como mediador, nas secreções glandulares, vasodilatação, contração muscular, transmissão de impulsos nervosos, mitose e motilidade celular (IOM, 1997; YBARRA et al., 2001).

Portanto, principal função do cálcio constitui-se na formação e renovação do tecido ósseo, que além do seu papel estrutural, atua também como reservatório de cálcio para o organismo (IOM, 1997).

O cálcio é encontrado nos ossos, principalmente na forma de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), que representa quase 40% do seu conteúdo. O osso pode ser definido como um tecido dinâmico que está constantemente submetido à ressorção óssea pelos osteoclastos e formação óssea pelos osteoblastos. As taxas de ressorção e formação óssea variam conforme a faixa etária. Durante a infância a formação óssea excede a ressorção, ocorrendo o contrário após a menopausa e com o envelhecimento. A cada ano uma parte do esqueleto é remodelada, ou seja, reabsorvido e substituído por osso novo, podendo ser maior que 50% por ano em crianças e de cerca de 5 % ao ano em adultos (IOM, 1997).

A suplementação de cálcio na forma de vários sais tem sido utilizada em humanos e animais experimentais para retardar a perda óssea e na redução da pressão sanguínea (PATWARDHAN et al., 2001).

Tanto cientistas como a população em geral estão cada vez mais se conscientizando da importância do cálcio da dieta. Isto se deve, principalmente, a muitas pesquisas estarem demonstrando relação entre a ingestão de cálcio e doenças prevalentes como osteoporose, hipertensão arterial e câncer do cólon. Apesar destas apresentarem uma etiologia multifatorial, tem-se reconhecido que o aumento na ingestão de cálcio ajuda a preveni-las (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000).

Isso tem levado a um aumento, em nível mundial, de vários estudos objetivando encontrar fontes alternativas de cálcio, e na avaliação da biodisponibilidade deste tanto das fontes alimentares, assim como de diversos sais de cálcio que possam ser utilizados na suplementação de alimentos.

As principais fontes alimentares de cálcio, até então conhecidos, são o leite e seus derivados. Os produtos de leite são os alimentos com maior densidade de cálcio nas dietas ocidentais (IOM, 1997), contribuindo com 70% do consumo do cálcio da dieta (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000). Cerca de 16% do cálcio dietético é fornecido pelas fontes vegetais como a couve, o brócolis e o repolho chinês. No entanto, essas fontes, geralmente, são também ricas em oxalato e fósforo, que reduzem a biodisponibilidade do cálcio presente nesses alimentos.

Para os indivíduos que não consomem leite e derivados, seja por hábito alimentar ou por alergia e/ou intolerância à proteína do leite e lactose, apresentam, em geral, ingestão inadequada de cálcio tendo, portanto, consumo abaixo das recomendações. Nesse sentido, a carne de rã e alguns peixes que apresentam alto teor de cálcio podem, futuramente, se constituir numa fonte alternativa desse mineral, porém, pouco se sabe se o cálcio presente nessas carnes se encontra numa forma biodisponível.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a biodisponibilidade do cálcio na carne de rã touro. Para isso, foram conduzidos dois ensaios biológicos, utilizando ratos em duas fases, ratos recém desmamados e adultos, como modelo experimental.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Experimento I – Biodisponibilidade de cálcio da carne de rã em ratos adultos utilizando radiotraçador ⁴⁵Ca.

2.1.1. Preparo das carnes de rã

A carne de rã foi adquirida no ranário Anfigranja Tambiu, localizado em Ponte Nova-MG, onde as rãs foram abatidas no início de Janeiro de 2003. A carne mecanicamente separada (CMS), foi produzida logo após o abate das rãs, utilizando equipamento confeccionado em material inoxidável.

Após o abate, as carnes de rã foram mantidas sob temperatura de – 18°C em freezer doméstico, e descongeladas conforme a necessidade de uso. O descongelamento ocorreu em refrigerador a 4°C por período de aproximadamente 12 horas, utilizando-se vasilhames fundos, confeccionados de vidro ou aço inox previamente enxaguados com água deionizada, para que o líquido do descongelamento pudesse ser aproveitado para a secagem.

2.1.1.1 Carne de rã sem osso

Após o descongelamento, a rã foi desossada manualmente, utilizando-se utensílios de aço inox e polietileno, previamente lavados em água corrente e enxaguados com água deionizada. Feita a desossa, a carne foi moída em moedor de carne elétrico, marca PASIANI e, posteriormente, submetida à secagem em estufa de ar circulante, marca FANEM, modelo 320-SE, com circulação de ar mecânica, à temperatura média de 65±2°C, por um período de 8 a 10 horas.

A carne desidratada foi triturada em multiprocessador doméstico, marca ARNO, para obtenção de uma farinha. Esta foi acondicionada em sacos plásticos rotulados e mantida sob refrigeração (4°C), até o preparo das dietas.

2.1.1.2. Carne de rã com osso

Após o descongelamento, a rã, em sua totalidade, foi submetida à moagem, em moedor de carne elétrico, marca PASIANI e, após esse processo, foi submetida à secagem, triturada e armazenada, conforme descrito para a carne de rã sem osso.

2.1.1.3. Carne mecanicamente separada

A carne de rã mecanicamente separada (CMS) foi adquirida de forma processada não sendo submetida à moagem, seguindo os demais procedimentos anteriormente mencionados.

2.1.1.4. Preparo das dietas

As dietas foram preparadas de acordo com AIN-93M (REEVES et al., 1993), indicada para animais na fase adulta (Tabela 1).

Todos os ingredientes foram pesados em balança semi-analítica da marca Marte e modelo AS 5500 C. Inicialmente foram misturados manualmente em vasilhames plásticos previamente lavados e enxaguados com água deionizada, e a seguir em batedeira semi-industrial, marca LIEME, por um período de aproximadamente 15 minutos.

2.1.1.5. Preparo das doses radioativas

As doses de cálcio foram preparadas no laboratório de Aplicação de Radioisótopos do Departamento de Biologia Geral. As soluções radioativas foram preparadas a partir de uma solução de $^{45}\text{CaCl}_2$, com uma atividade de 3 mCi e atividade específica de $4\mu\text{Ci}/\text{mg}$ de Ca. Para o cálculo da diluição, considerou-se a data de produção do cálcio radioativo e a decaída da radioatividade de forma que no dia da aplicação cada animal recebesse, via oral $10\mu\text{Ci}$ de ^{45}Ca / 0,5 mL de solução ou por via intraperitoneal, $10\mu\text{Ci}$ de ^{45}Ca / 0,3 mL de solução salina.

Tabela1- Dieta AIN-93M formulada para fase de manutenção

Ingredientes	g/ Kg de dieta
Caseína (\geq 85% proteína)	140,00
Amido dextrinizado (90-94%tetrassacarídeos)	132,00
Sacarose	100,00
Óleo de soja	40,00
Fibra (celulose)	50,00
Mix de minerais (AIN-93M)	35,00
Mix vitamínico (AIN-93)	10,00
L-Cistina	1,80
Bitartarato de colina	2,50
Amido de milho	465,70

Fonte: Reeves et al., 1993.

2.1.2 Ensaio biológico

O experimento foi realizado nos laboratórios de Nutrição Experimental, do Departamento de Nutrição e Saúde, de Aplicação de Radioisótopos, do Departamento de Biologia Geral e de Espectrometria de Absorção Atômica, do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Foram utilizados 40 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*), da linhagem Wistar, adultos, com 11 semanas de idade, oriundos do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFV, com peso inicial variando entre 249 a 325 gramas. Os animais foram divididos em quatro grupos, um controle e três experimentais, de acordo com o peso, de forma que os grupos apresentassem valores de peso aproximados.

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais confeccionadas em aço inox, a temperatura média de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, recebendo durante a primeira semana dieta padrão AIN-93M (Tabela 1), e água deionizada *ad libitum*, para adaptação. O controle do peso e do consumo alimentar foi feito semanalmente.

No oitavo dia do ensaio, após um período de jejum de 12 horas, os grupos, receberam 25 mg de cálcio provenientes da carne de rã sem osso (RSO), carne de rã com osso (RCO) e carne de rã mecanicamente separada (CMS), adicionadas, por gotejamento da solução, da dose oral de $10\mu\text{Ci}$ de ^{45}Ca , em 3g da dieta. A composição das dietas oferecidas com as doses

encontra-se na Tabela 2. Na dieta com a RSO foram adicionados 22,4 mg de cálcio, sob a forma de CaCO_3 , para nivelar a dose de cálcio ofertada pelos demais tratamentos. O grupo controle recebeu uma dose intraperitoneal de ^{45}Ca mais 3 g de dieta, utilizando mistura de minerais sem cálcio (Tabela 3), acrescida de 25 mg de cálcio sob a forma de CaCO_3 .

Para garantir que toda a dieta contendo a dose fosse consumida, os animais foram submetidos a um treinamento nos 3 dias anteriores ao fornecimento da dose com ^{45}Ca . Neste treinamento, os animais foram mantidos em jejum de 12 horas e após esse período receberam 3 g de dieta, sendo que após o consumo desta quantidade eles retornavam a dieta *ad libitum*.

Transcorridas 48 horas do fornecimento da dose, os ratos foram sacrificados por inalação de CO_2 , e foi retirado o fêmur direito para análise da retenção do ^{45}Ca , por contagem de radiação em contador de cintilação líquida.

Tabela 2- Composição das dietas oferecidas com a dose de ^{45}Ca .

Ingredientes	Dietas			
	RSO	RCO	CMS	IP
Dieta AIN-93M s/cálcio*	—	2,058g	1,757g	2,55g
Amido de milho	—	0,332g	0,283g	0,3875g
CaCO_3	0,056g	—	—	0,0625g
Carne de rã sem osso	3,00g	—	—	—
Carne de rã com osso	—	0,61g	—	—
Carne mecanicamente separada (CMS)	—	—	0,96g	—
Total	3,056g	3,00g	3,00g	3,00g

*Fonte: REEVES et al., 1993.

Tabela 3- Composição da mistura de minerais sem cálcio.

Ingredientes	g/Kg de mistura mineral
Elementos minerais essenciais	
Fosfato de potássio monobásico	250,00
Cloreto de sódio	74,00
Sulfato de potássio	46,60
Citrato de potássio tri-potássio	28,00
Óxido de magnésio	24,00
Citrato férrico	6,06
Carbonato de zinco	1,65
Carbonato de manganês	0,63
Carbonato cúprico	0,30
Iodato de potássio	0,01
Selenito de sódio	0,01025
Paramolibdato de amônio	0,0795
Elementos minerais potencialmente benéficos	
Metasilicato de sódio	1,45
Sulfato de cromo e potássio	0,275
Ácido Bórico	0,0815
Fluoreto de sódio	0,0635
Carbonato de níquel	0,0318
Cloreto de lítio	0,0174
Vanadato de amônio	0,0066
Sacarose	566,806

Fonte: Reeves et al., 1993.

2.1.3-Análise da retenção do ⁴⁵Ca no fêmur

Os fêmures retirados dos ratos foram digeridos, com 3 mL de solução de ácido nítrico concentrada, a frio, por período de 16 horas. As soluções obtidas foram diluídas com água deionizada para 25 mL. De cada amostra foram retiradas duas alíquotas de 0,5 mL e transferidas para frascos de cintilação, adicionando-se 5 mL de coquetel de cintilação (2,5 g de difeniloxazol (PPO); 50 g naftaleno e dioxana q.s.p 500 mL).

Os frascos foram levados para leitura da radiação, em contador de cintilação líquida, marca Beckman, modelo LS 6500 utilizando-se 5 minutos de contagem por amostra.

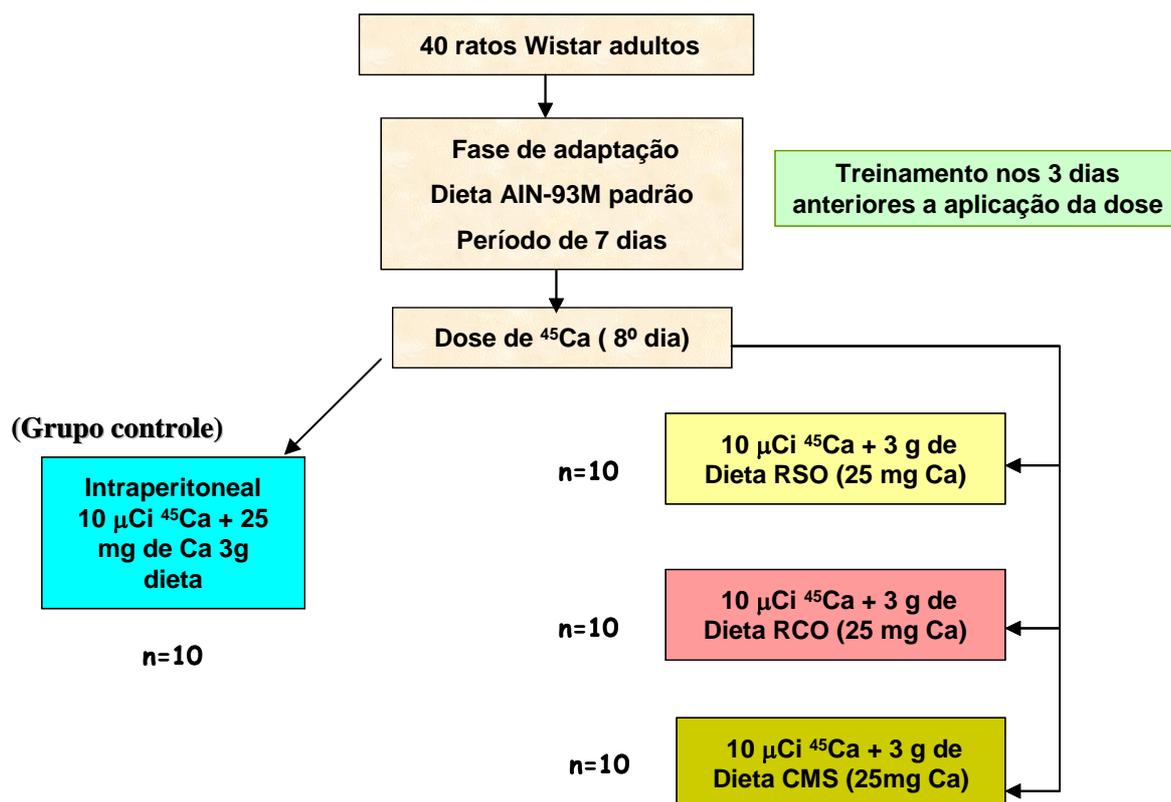


Figura 1: Desenho experimental utilizado para a avaliação da biodisponibilidade de cálcio da carne de rã, em ratos Wistar adultos, utilizando radiotraçador ^{45}Ca .

2.1.4.Cálculo da absorção fracional

Após a leitura da radiação dos fêmures procedeu-se a razão entre a os valores encontrados para o grupo controle e os grupos testes, obtendo-se a absorção fracional, conforme fórmula abaixo:

$$\text{ABS Fracional} = \frac{\text{leitura em cpm de } ^{45}\text{Ca do grupo teste/fêmur}}{\text{leitura em cpm de } ^{45}\text{Ca do grupo intraperitoneal/ fêmur}}$$

2.1.5.Determinação do teor de cálcio.

O teor de cálcio das carnes de rã e da caseína foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica. As amostras foram submetidas à digestão via úmida, utilizando 5 mL de mistura digestora nítrico-pérlórica 3:1, e levadas à temperatura de 150°C , em bloco digestor Kjeldhaltherm – Gerhart, modelo KB 40S, por um período de aproximadamente 3 horas ou até a obtenção de solução límpida e sem resíduos, de coloração amarelada. A

solução assim obtida foi diluída, em balão volumétrico para 25 mL com água deionizada.

Devido à elevada concentração de cálcio das amostras, fez-se necessário efetuar outras diluições adicionais, para possibilitar adequação à curva padrão utilizada para leitura. Na última diluição, adicionou-se na proporção de 10% do volume final, solução de cloreto de estrôncio (SrCl_2) na concentração de 49g/ L para reduzir a ação de interferentes.

A leitura foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica do Departamento de Solos da UFV, modelo GBC 480 AA, com aspiração direta em chama de ar/acetileno no comprimento de onda de 422,7 nm.

2.2. Experimento II – Retenção de cálcio em ratos Wistar em fase de crescimento alimentados com carne de rã-touro.

2.2.1. Preparo das carnes de rã e das dietas

As carnes de rã sem osso, com osso e mecanicamente separada, bem como as dietas experimentais, foram preparadas conforme descrito no Experimento I.

2.2.2 Ensaio biológico

O experimento foi desenvolvido nos laboratórios de Nutrição Experimental, do Departamento de Nutrição e Saúde e de Espectrometria de Absorção Atômica, do Departamento de Solos da UFV.

Foram utilizados 24 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*) da linhagem Wistar, recém-desmamados, oriundos do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFV, com peso inicial entre 52 e 63 gramas.

O experimento teve duração de 28 dias e durante este período, os animais receberam água e dieta *ad libitum*. Foram mantidos em gaiolas individuais, confeccionadas em aço inox, em ambiente com temperatura de $24\pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas controlados. O consumo alimentar e o peso dos animais foram medidos semanalmente.

Os animais foram divididos em 4 grupos (n=6), tendo como fonte protéica carne de rã sem osso (RSO), carne de rã com osso (RCO), carne de

rã mecanicamente separada (CMS) e caseína, que representavam 10% de proteína bruta/Kg da dieta e continham 5,8% de cálcio (Tabela 4).

Para que todas as dietas oferecessem o mesmo nível de cálcio por grama de dieta consumida, as dietas contendo RSO, CMS e caseína foram acrescidas de carbonato de cálcio (CaCO_3), na quantidade necessária para atingir o teor de cálcio da dieta de maior concentração, RCO, que não sofreu adição de CaCO_3 .

Ao final do período experimental, após sacrifício dos animais por inalação de dióxido de carbono (CO_2), foram extraídos os fêmures direitos. Em seguida, estes foram limpos, para a retirada de todo o tecido muscular presente, sendo também padronizada a retirada da cartilagem localizada na região proximal do fêmur.

Foram avaliados o peso, o comprimento e a espessura externa dos fêmures de todos os animais.

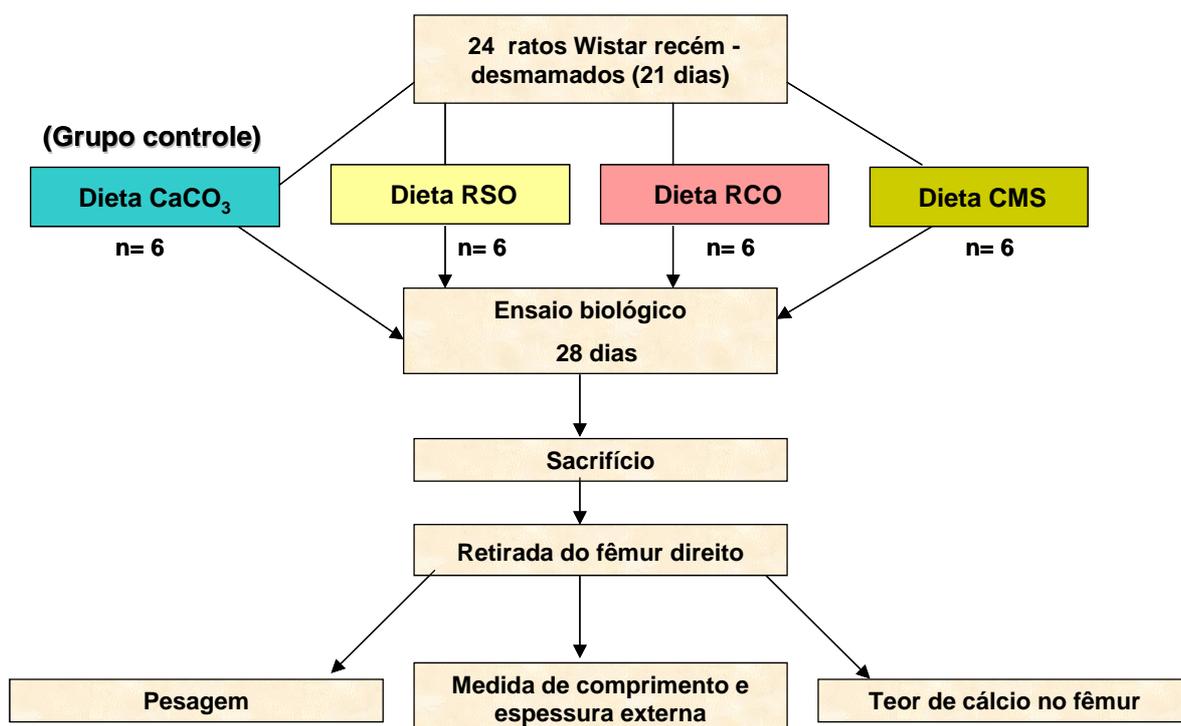


Figura 2: Desenho experimental utilizado para avaliação da biodisponibilidade de cálcio da carne de rã –touro em ratos na fase de crescimento.

Tabela 4- Composição das dietas experimentais

Ingredientes	Quantidade (g/kg de dieta)			
	RSO	RCO	CMS	Padrão
Caseína	—	—	—	115,64
Carne de rã sem osso	114,65	—	—	—
Carne de rã com osso	—	211,11	—	—
Carne mecanicamente separada (CMS)	—	—	150,79	—
CaCO ₃ (carbonato de Ca)	1,78	—	4,70	1,61
Amido dextrinizado	132,00	132,00	132,00	132,00
Sacarose	100,00	100,00	100,00	100,00
Óleo de soja	70,00	70,00	70,00	70,00
Celulose microfina	50,00	50,00	50,00	50,00
Mistura de minerais AIN 93G*	35,00	—	—	35,00
Mistura de minerais sem cálcio	—	35,00	35,00	—
Mistura de vitaminas	10,00	10,00	10,00	10,00
L-Cistina	3,00	3,00	3,00	3,00
Bitartarato de colina	2,50	2,50	2,50	2,50
Amido de milho	481,07	456,76	441,97	480,26

*A mistura mineral padrão oferece 5 g de cálcio na forma de carbonato de cálcio

Fonte: REEVES et al., 1993.

2.2.3. Pesagem e medidas do comprimento e espessura do fêmur

Os ossos foram pesados em balança analítica digital da marca OHAUS, com precisão de 0,0001g, o comprimento e a espessura externa do fêmur foram medidos utilizando um paquímetro de alta precisão da marca MITUTOYO (Japão), cada medida foi repetida 4 vezes para cada animal e utilizada a média utilizada para os cálculos.

2.4. Determinação da retenção de cálcio no fêmur

Após as avaliações métricas do fêmur direito, este foi submetido a digestão úmida com solução nítrico - perclórica na proporção de 3:1, em bloco digestor Kjeldhaltherm- Gerhart modelo KB 40S, à temperatura de 150°C, por um período de aproximadamente 3 horas ou até a obtenção de solução límpida e sem resíduos.

Feita a digestão, a solução obtida foi transferida quantitativamente para um balão de 25 mL. Deste volume foi retirada uma alíquota de 1 mL adicionados de 10 mL da solução de cloreto de estrôncio(49 g/L) e o volume completado para 100 mL com água deionizada.

A determinação do teor de cálcio da amostras foi realizada por espectrofotômetro de absorção atômica, modelo GBC 480 AA, com aspiração direta em chama de ar/acetileno, no comprimento de onda de 422,7 nm.

2.3.Desmineralização da vidraria

Toda a vidraria utilizada para as análises foi previamente desmineralizada, por imersão do material em solução de HCl 20% por período mínimo de 24 horas e posterior enxágüe com água deionizada.

2.4. Análise estatística

Para os experimentos utilizou-se o desenho experimental em blocos casualizados, os animais foram divididos em blocos de peso e as dietas distribuídas nos blocos.

Os dados foram analisados utilizando-se o programa SAEG versão 8.0, da Universidade Federal de Viçosa, os dados foram submetidos à análise de variância e às médias testadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância.

3. RESULTADOS

3.1 Experimento I

Os valores encontrados para o teor de cálcio nas carnes, em base úmida, foram 17,66 mg/100 g; 456,73 mg/100 g, 906,44 mg/100g para as carnes RSO, CMS e RCO respectivamente.

Conforme pode ser observado na Tabela 5, a RSO mostrou-se superior ($p < 0,05$) aos demais tipos de carne Não foi observada diferença ($p > 0,05$) entre os grupos RCO e CMS.

Tabela 5- Absorção fracional do ^{45}Ca no fêmur.

Dieta	Leitura em contagens por minuto (cpm)	Absorção fracional (%) (Média±DP)
Intraperitoneal	11396,79	100
Rã sem osso (RSO)	5112,73	44,86±10,67 ^a
Rã com osso (RCO)	2661,45	23,35±4,49 ^b
Rã mec. Separada (CMS)	2998,54	26,31±5,25 ^b

*Médias, na mesma coluna, seguidas da mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

3.2 Experimento II

Os resultados obtidos para o peso, comprimento e espessura externa dos fêmures dos animais estão apresentados na Tabela 6. Os valores encontrados para peso e comprimento foram menores para a dieta RCO, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Quanto à espessura externa não foi encontrada diferença ($p > 0,05$) entre os grupos.

Com relação ao comprimento do fêmur as dietas RCO e CMS não diferiram estatisticamente sendo, no entanto, inferiores às dietas padrão e RSO (Tabela 6).

Na Tabela 7 encontram-se os dados relativos ao teor de cálcio no fêmur, e a relação entre o peso do fêmur e o peso corpóreo do animal.

O grupo da dieta padrão, utilizando CaCO_3 como fonte de cálcio, apresentou retenção de cálcio estatisticamente inferior às dietas RSO e CMS, mas não diferiu da dieta RCO, esta por sua vez também não diferiu dos demais tratamentos (Tabela 7). Enquanto que, a razão peso do fêmur e peso corpóreo não apresentou diferença entre tratamentos ($p > 0,05$) (Tabela 7).

Ao serem avaliados os parâmetros ganho de peso, peso do animal no final dos 28 dias não foi encontrada diferença estatística entre os grupos (Tabelas 8).

Avaliando-se o coeficiente de eficiência alimentar (CEA), a RCO apresentou o menor resultado, diferindo das dietas padrão (caseína) e da RSO (Tabela 8).

Tabela 6- Avaliação métrica do fêmur parâmetros peso, comprimento e espessura externa.

Dieta	Peso (g)	Comprimento (cm)	Espessura externa (cm)
Padrão (CaCO₃)	0,4179± 0,01 ^a	2,537± 0,07 ^a	0,371± 0,01 ^{n.s.}
Rã sem osso (RSO)	0,4344± 0,02 ^a	2,534± 0,04 ^a	0,371± 0,04 ^{n.s.}
Rã com osso (RCO)	0,3883± 0,02 ^b	2,419± 0,05 ^b	0,371± 0,01 ^{n.s.}
Rã mec. Separada (CMS)	0,4183± 0,02 ^a	2,475± 0,06 ^{ab}	0,384± 0,02 ^{n.s.}

*Médias, na mesma coluna, seguidas da mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.
n.s. não significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade .

Tabela 7- Teor de cálcio no fêmur determinado por espectrofotometria de absorção atômica e razão peso de fêmur e peso corpóreo final.

Dieta	Ca no Fêmur (mg/100g)	Fêmur /peso corpóreo (mg/g)
Padrão (CaCO₃)	8,32±0,99 ^b	1,90±0,19 ^{n.s.}
Rã sem osso (RSO)	9,30±0,49 ^a	1,90±0,15 ^{n.s.}
Rã com osso (RCO)	9,16±0,22 ^{ab}	1,91±0,13 ^{n.s.}
Rã mec. Separada (CMS)	9,31±0,39 ^a	1,92±0,18 ^{n.s.}

*Médias, na mesma coluna, seguidas da mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.
n.s. não significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade .

Tabela 8- Peso corpóreo final, ganho de peso (28 dias) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA)

Dieta	Peso final(g)	Ganho de peso (g)	CEA (%)
Padrão (CaCO₃)	222,00±25,71n.s	163,83±24,56 ^{n.s}	36,13±2,00 ^a
Rã sem osso (RSO)	229,17±16,99n.s	171,17±18,05 ^{n.s}	36,64±2,38 ^a
Rã com osso (RCO)	204,17±14,12n.s	146,17±12,54 ^{n.s}	32,37±2,19 ^b
Rã mec. Separada (CMS)	220,33±26,69n.s	162,17±25,11 ^{n.s}	35,52±1,86 ^{ab}

*Médias na mesma coluna seguidas da mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.
n.s. não significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

Os tecidos musculares, de um modo geral, não são reconhecidos como fontes alimentares primárias do cálcio. O cálcio dietético é obtido, principalmente, dos produtos lácteos e dos alimentos vegetais folhosos de cor verde escura, como a couve, o brócolis, entre outros (ALLEN, 1992; IOM, 1997). Por esse motivo, a maior parte dos estudos encontrados na literatura com relação à biodisponibilidade de cálcio enfatizam alimentos recomendados, historicamente, como fonte deste mineral.

No entanto, avaliando-se a utilização biológica de cálcio, os produtos lácteos oferecem um cálcio de maior biodisponibilidade por não apresentarem componentes inibidores da absorção desse mineral, como os fitatos e oxalatos, que reduzem a absorção do cálcio dietético proveniente das fontes vegetais (ALLEN, 1982).

Com o aumento da prevalência da osteoporose e outras patologias relacionadas à baixa ingestão de cálcio, tem crescido o interesse pelo estudo de fontes alternativas de cálcio, como sais que possam ser utilizados para a fortificação de alimentos (GUÉGUEN, L.; POINTLLARD, A., 2000; CASHMAN, 2002), e de outras fontes de origem animal, incluindo os tecidos musculares, mas esses ainda são escassos na literatura, dificultando a discussão dos dados

Estudo realizado por NOLL e LINDAU (1987) citou a carne de rã como um alimento rico em cálcio, fazendo surgir a possibilidade de uso desta carne como substituto do leite e derivados, principalmente pelos indivíduos que apresentam intolerância e/ou alergia a estes produtos.

No presente estudo foi observado que a carne de rã sem osso (RSO), não apresenta teor elevado de cálcio, 17,66mg/100g de carne fresca, quando comparada às fontes alimentares tradicionais deste mineral, como o leite (119,00mg/100ml), e queijo (517 mg/100g) (PHILLIP, 2001). A carne de rã mecanicamente separada, no entanto, apresentou teor de cálcio bastante elevado de 456,73mg /100g de carne fresca.

Tanto a RCO como a CMS apresentaram valores de absorção fracional equivalente à de alimentos fontes de cálcio e de sais de cálcio utilizados na fortificação de alimentos. A RSO, apesar de ter apresentado valor

de absorção fracional superior ao encontrado na literatura, pode ter tido o seu resultado influenciado pela adição do carbonato de cálcio.

SHEIK et al. (1987) em estudo com humanos, obtiveram valores de absorção líquida de $32\pm 4\%$ para o acetato de cálcio, $27\pm 3\%$ para o gluconato de cálcio, $30\pm 3\%$ para o citrato de cálcio e $39\pm 3\%$ para o carbonato de cálcio, comparados com o leite integral, que apresentou uma absorção de cálcio de $31\pm 3\%$. Não sendo encontrada, no referido estudo, diferença estatística entre as fontes de cálcio avaliadas de acordo com análise de variância.

Em estudo realizado por NICKEL et al. (1996), para se avaliar a biodisponibilidade de cálcio de leite e produtos lácteos utilizando marcação com isótopos estáveis em humanos, foram encontrados valores cálcio $32,2\pm 4,0\%$; $37,4\pm 9,2\%$; $33,0\pm 4,3\%$; $24,2\pm 3,4\%$ e $28,8\pm 4,3\%$, para a absorção do cálcio em leite, queijo Cheddar, queijo processado, iogurte e um análogo não lácteo do queijo, respectivamente, não sendo encontrada diferença ($p>0,05$) entre os produtos avaliados.

HANSEN et al. (1998) estudaram a absorção de cálcio, em humanos, utilizando como fonte carne de peixe "Bengali" com osso (397 mg de Ca) e leite desnatado como controle (377 mg de Ca), a absorção foi avaliada pela contagem de ^{47}Ca medida por leitura de corpo inteiro nos dias 8,12,15 e 19 após o recebimento da dose de ^{47}Ca . Os valores para a absorção do cálcio no estudo foram $23,8 \pm 5,6\%$ para a refeição com peixe e $21,8\pm 6,1\%$ da refeição contendo leite, não sendo encontrada diferença significativa entre os dois grupos.

WEAVER et al. (2002), em estudo com ratos, avaliando a biodisponibilidade de diferentes sais de cálcio, utilizando a técnica de marcação com ^{45}Ca em ratos, encontraram absorção fracional de $30,09 \pm 1,02\%$; $29,13\pm 1,65\%$; $28,06\pm 1,58\%$; $28,69 \pm 2,25\%$; $27,42\pm 3,09\%$ para os sais fumarato, fumarato-malato, citrato-malato, citrato e carbonato de cálcio, respectivamente.

KRUGER et al. (2003) avaliaram a biodisponibilidade do cálcio do leite comparado com leite desnatado fortificado com carbonato de cálcio (CaCO_3) em ensaio biológico com ratos em fase de crescimento e encontraram um percentual de absorção do cálcio de $37,42\pm 8,73\%$ para o leite sem CaCO_3 e de $44,96\pm 5,91\%$ para o grupo do leite fortificado com CaCO_3 .

As formas de carne de rã que não sofreram acréscimo de carbonato de cálcio na dieta, RCO e CMS, apresentaram valores médios de absorção fracional de $23,35 \pm 4,49\%$ e $26,31 \pm 5,25\%$, próximos aos valores encontrados na literatura para os alimentos habitualmente utilizados como fonte de cálcio e para sais de cálcio utilizados na suplementação de alimentos com vistas ao aumento na oferta do cálcio dietético.

A dieta RSO apresentou um valor de absorção fracional superior ($p < 0,05$) às demais dietas, resultado que pode ser atribuído à adição do CaCO_3 , observando que o resultado obtido foi semelhante ao encontrado por KRUGER et al. (2003) para o leite desnatado fortificado com CaCO_3 .

Segundo ANDERSON (1991), a absorção fracional verdadeira do cálcio dietético em adultos humanos é de cerca de 25 a 35%. Portanto, os valores encontrados nesse estudo encontram-se próximos aos habitualmente encontrados para a absorção do cálcio dietético proveniente de diversas fontes alimentares, tanto em estudos com animais quanto em humanos.

Os estudos de absorção de cálcio em geral têm encontrado valores de absorção de cálcio entre 20% e 30%, tanto para sais de cálcio utilizados para fortificação de alimentos, assim como para o leite e seus derivados, as principais fontes de cálcio alimentar. No estudo realizado por HANSEN et al (1998), foram encontrados valores de absorção semelhantes aos observados para a carne de rã.

LARSEN et al. (2000) estudaram a biodisponibilidade de cálcio de um pequeno peixe, vulgarmente denominado “mola” (*Amblypharyngodon mola*), oferecido com osso, em estudo com ratos machos Wistar, recém desmamados, durante 28 dias e dieta com teor de proteína bruta de 10% e teor de cálcio de 6,9%. Como controle foi utilizado um grupo alimentado com leite desnatado. Dentre outros fatores, foram avaliados o peso dos ossos dos fêmures, a razão peso do fêmur e peso corpóreo final e teor de cálcio nos fêmures. Os valores médios encontrados para as dietas de leite e peixe, foram respectivamente, $0,38 \pm 0,03\text{g}$ e $0,36 \pm 0,03\text{g}$ para o peso dos fêmures, $2,14 \pm 0,10$ e $2,06 \pm 0,10$ mg/g para a razão entre o peso do fêmur e o peso corpóreo e uma média $15,30\%$ e $15,35\%$ de teor cálcio nos fêmures.

Comparando-se com os resultados obtidos no segundo experimento deste estudo com o trabalho de LARSEN et al. (2000), com exceção da dieta RCO, todos os outros tratamentos apresentaram, em relação ao peso do

fêmur, valores superiores aos encontrados tanto na dieta utilizando peixe com osso quanto na dieta com leite.

Avaliando à razão entre o peso dos fêmures e o peso corpóreo, as dietas deste estudo apresentaram valores similares aos apresentados pelo estudo de LARSEN et al. (2000).

O teor de cálcio no fêmur encontrado no presente experimento teve uma média de 9,02%, portanto, inferior ao encontrado em relação à dieta do estudo de peixe com osso, mas pode ser justificado pela diferença no teor de cálcio nas dietas entre os dois estudos de 5,8% para as dietas de carne de rã e 6,9% na dieta de peixe com osso.

Portanto, pode-se dizer que a carne de rã apresenta cálcio com boa biodisponibilidade, podendo vir a ser utilizada como fonte do mineral, nos casos de alergia e/ou intolerância ao leite e derivados, ou por populações que não tenham o hábito do consumo de leite e seus derivados e em dietas que necessitem de restrição lipídica, considerando que a carne de rã possui um baixo teor de lipídios, inferior a 1 g /100 g de carne fresca e de colesterol.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que a carne de rã , nas três formas avaliadas, apresentou cálcio de boa biodisponibilidade, com absorção equivalente a encontrada para o leite e seus derivados, melhores fontes de cálcio atualmente conhecidas, e também aos sais de cálcio utilizados para fortificação de alimentos.

No segundo experimento foi observado que a carne de rã , foi capaz de promover o crescimento ósseo dos animais não apresentando diferença ($p>0,05$) em relação ao padrão de CaCO_3 , e com retenção de cálcio no fêmur superior ($p<0,05$) ao mesmo padrão.

Portanto a carne de rã apresenta-se como uma fonte potencial de cálcio, podendo ser utilizada como fonte deste nutriente, principalmente, pelos indivíduos que apresentam restrições ao consumo de leite e seus derivados, seja por alergia a proteína ou intolerância a lactose. Considerando-se que o substituto natural do leite de vaca tem sido o leite de soja e que a carne de rã é uma fonte de proteína de origem animal e, portanto de melhor qualidade nutricional. No entanto mais estudos comparando a carne de rã com outras carnes quanto a biodisponibilidade de cálcio se fazem necessários.

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J.J.B. Nutritional biochemistry of calcium and phosphorus. **Journal of Nutritional Biochemistry**, n.2, p.300-307, 1991.

ALLEN, I.H. Calcium bioavailability and absorption:a review. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.35, p.783-808, 1982.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS **Official Methods of Analysis**, 18th ed., AOAC, Washington, 1998.

CASHMAN, K.D. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. **British Journal of Nutrition**, v.87, supp.2, p.S169-S177.

GUÉGUEN, L.; POINTLLARD, A. The Bioavailability of Dietary Calcium. **Journal of the American College of Nutrition**, v.19, n.2, p.119S-136S, 2000.

HANSEN, M.; THILSTED,S.H.; SANDSTRON, B.; KONGSBK, K.; LARSEN, T.; JENSEN, M.; SORENSEN, S.S. Calcium absorption from small soft- boned fish. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.12, n.3, p.148-154, 1998.

INSTITUTE OF MEDICINE. Calcium . In: **Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus , Magnesium, Vitamin D and Fluoride**. National Academy Press. 432p., il, 1997.

KRUGER, M.C.; GALLAHER, B.W.; SCHOLLUM, L.M. Bioavailability of calcium is equivalent from milk fortified with either calcium carbonate or milk calcium in growing male rats. **Nutrition Research**, v.23, p.1229-1237, 2003.

LARSEN, T.;THILSTED, S.H.; KONGSBK, K.; HANSEN, M. Whole small fish as a rich calcium source. **British Journal of Nutrition**, v.3, p.191-196, 2000.

NICKEL, K.P.; MARTIN, B.R.; SMITH, D.L.; SMITH, J.B.; MILLER, G.D.; WEAVER, C.M. Calcium bioavailability from bovine milk and dairy products in

premenopausal women using intrinsic and extrinsic labeling techniques. **Journal of Nutrition**, v.126, p.1406-1411, 1996.

PATWARDHAN, U.N.; PAHUJA, D.N.; SAMUEL, A. M. Calcium bioavailability: an in vivo assessment. **Nutrition Research**, v.21, p.667-675, 2001.

PHILLIP, S.T. **Tabela de composição dos alimentos**, Editora USP, São Paulo, 2001.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of The American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **Journal of Nutrition**, v.123, p.1939-1951, 1993.

SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 8.0, Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. (Software).

SHEIKH, M.S.; SANTA'ANA, C.A.; NICAR, M.J. SCHILLER, L.R.; FORDTRAN, J.S. Gastrointestinal absorption of calcium from milk and calcium salts. **New England Journal of Medicine**, v.317, p.532-536, 1987.

YBARRA, L.M.; COSTA,N.M.B.; FERREIRA,C.L.L.F. Interação cálcio e ferro. **Nutrire: Revista Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v.22, p.85-107, 2001.

WEAVER, C.M.; MARTIN, B.R.; COSTA, N.M.B.; SALLES, F.Z.; HUTH, P.J. Absorption of Calcium Fumarate to Other Calcium Salts When Measured in the Rat Model. **Journal of Agricultural in Food Chemistry**, v.50, p.4974-4975, 2002.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo objetivou avaliar a composição centesimal, a qualidade protéica e a biodisponibilidade de ferro e cálcio em carne de rã –touro (*Rana catesbeiana*) em três formas de apresentação, carne sem osso (RSO), com osso (RCO) e mecanicamente separada (CMS).

Com relação à composição centesimal, as carnes de rã apresentaram teores elevados de umidade e proteína, e baixo conteúdo de lipídios.

Para qualidade protéica, os resultados demonstraram que as carnes RSO, RCO e CMS são fontes de proteína de alto valor biológico, apresentando digestibilidade superior a 90%, e com habilidade para a promoção do crescimento dos animais e para a manutenção das reservas, encontrando-se valores similares ou superiores aos observados para a proteína da caseína utilizada como referência, mesmo depois de submetidas a processo de cocção.

O ferro da RSO mostrou-se de boa biodisponibilidade, quando comparado a um padrão de sulfato ferroso. No entanto, as carnes RCO e CMS não apresentaram o mesmo resultado, não sendo observado ganho de hemoglobina, independente da concentração de ferro da dieta, podendo os elevados teores de cálcio destas carnes ter reduzido a disponibilidade do ferro presente.

Todas as carnes avaliadas apresentaram cálcio de boa biodisponibilidade, com valores de absorção fracional similares aos encontrados para alimentos fontes desse mineral como leite e derivados e sais de cálcio utilizados para fortificação de alimentos, além de promover crescimento ósseo e retenção de cálcio de modo similar ou superior a um padrão de carbonato de cálcio.

O consumo de 100 g da carne de rã mecanicamente separada (CMS) ou da carne de rã com osso (RCO) fornece metade ou atinge as recomendações diárias de cálcio (IOM, 1997).

Os resultados levam à conclusão, que a carne de rã sem osso (RSO) pode fornecer proteína de alto valor biológico e contém ferro e cálcio de boa biodisponibilidade, além de como outras carnes favorecer a absorção do ferro não heme da refeição, sendo indicada como fonte protéica para dietas necessitem de restrição calórica e lipídica.

Os estudos sobre a biodisponibilidade dos minerais dos alimentos, de modo geral, ainda são escassos tanto em animais quanto no homem. Diversos alimentos consumidos como alternativos e/ou terapêuticos, como a carne de rã- touro, necessitam ser estudados quanto à sua composição e características nutricionais e funcionais, a fim de se dar suporte ao seu consumo e à sua recomendação no planejamento alimentar e no tratamento dietoterápico.

ANEXOS

Anexo 1 – Ganho de hemoglobina na fase de repleção nos diferentes tratamentos nos três níveis de ferro.