**AVALIAÇÃO QUÍMICA, NUTRICIONAL, BIOLÓGICA E REOLÓGICA
DAS FARÍNHAS DE TRIGO SARRACENO (*Fagopyrum esculentum*)
COM E SEM PROLAMINA E VIABILIDADE DE SEU EMPREGO
NA ALIMENTAÇÃO DE PESSOAS PORTADORAS DE
DOENÇA CELÍACA**

**MARCIA DE LOURDES PEREIRA DE FRANCISCHI
(NUTRICIONISTA)**

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jocelen Mastrodi Salgado

**Dissertação apresentada à Es-
cola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz", da Univer-
sidade de São Paulo, para ob-
tenção do título de Mestre em
Ciências, Área de Concentra-
ção: Ciência e Tecnologia de
Alimentos.**

**PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Dezembro - 1991**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

F818a Francischi, Marcia de Lourdes Pereira de
Avaliação química, nutricional, biológica e reológica das farinhas de trigo sarraceno (Fagopyrum esculentum) com e sem prolamina e viabilidade de seu emprego na alimentação de pessoas portadoras de doença celíaca. Piracicaba, 1991.
104p.

Diss. (Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Farinha de trigo sarraceno - Propriedade - Avaliação 2. Farinha de trigo sarraceno - Uso terapêutico 3. Farinha de trigo sarraceno - Valor nutritivo 4. Trigo sarraceno - Produto derivado I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CDD 664.725

AVALIAÇÃO QUÍMICA, NUTRICIONAL, BIOLÓGICA E REOLÓGICA
DAS FARÍNHAS DE TRIGO SARRACENO (*Fagopyrum esculentum*)
COM E SEM PROLAMINA E VIABILIDADE DE SEU EMPREGO
NA ALIMENTAÇÃO DE PESSOAS PORTADORAS DE
DOENÇA CELÍACA

MARCIA DE LOURDES PEREIRA DE FRANCISCHI

Aprovada em: 16/12/91

Comissão julgadora:

Prof.^o Dr.^o Jocelim Mastrodi Salgado

ESALQ/USP

Prof. Dr. Luiz Eduardo Gutierrez

ESALQ/USP

Prof. Dr. Celso Paulino da Costa

FOP/UNICAMP

Prof.^o Dr.^o Jocelim Mastrodi Salgado
Orientadora

*Aos meus pais, José e Nair pela
minha formação a qual permitiu
atingir esta etapa em minha vida,
aos meus queridos esposo e filho
José Luis e Gustavo pelo carinho,
apoio e compreensão em todos
os momentos*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Professora Dr.^a Jocelem Mastrodi Salgado pela orientação científica, pelo seu constante incentivo e apoio, pela sua amizade, compreensão e dedicação prestados no decorrer de todo o trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo apoio financeiro;

À Professora Dr.^a Maria Cristina S. Nogueira do Departamento de Matemática e Estatística, da ESALQ/USP, pela amizade e assessoria na análise estatística dos dados;

Aos Professores Dr. Eric Derbyshire e Dr.^a Maria Tereza V. Carvalho Derbyshire da Seção de Biologia de Proteínas Vegetais do CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura) pela orientação e oportunidade de realização da parte de eletroforese;

Aos Drs. Renato Ferreira de Freitas Leitão e Policarpo Vitti, pela colaboração na execução da avaliação tecnológica no Centro de Tecnologia de Farinhas e Panificação do Instituto de Tecnologia de Alimentos;

Aos Professores Dr. Celso Paulino da Costa e Dr. Guilherme Blumen da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) -Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP)- pela colaboração e facilidades para a execução do teste imunológico;

À Prof. Dr.^a Elide Guidolin da Rocha Medeiros do Departamento de Gastroenterologia Pediátrica da Escola Paulista de Medicina pela colaboração na obtenção do soro dos pacientes celíacos;

Aos técnicos de laboratório Maria de Lourdes Perin Storer, da ESALQ/USP, Marco Antonio Vilela do Centro de Tecnologia de Farinhas e Panificação do Instituto de Tecnologia de Alimentos, e à supervisora Maria Eugênia Colasante do laboratório PREVLAB, pelo valioso auxílio prestado na execução do trabalho experimental;

À Raquel Iracema da Silva, secretária do Setor de Nutrição Humana e Alimentos, da ESALQ/USP, pela amizade e serviços datilográficos prestados;

Às Bibliotecárias Beatriz Helena Giongo e Kátia Maria de Andrade Ferraz, pela atenção e auxílio na organização das referências bibliográficas;

À todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que a presente pesquisa fosse realizada.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xiii
SUMMARY	xvi
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
2.1. Trigo Sarraceno	04
2.1.1. Introdução	04
2.1.2. Características Agronômicas	06
2.1.3. Variedades	07
2.1.4. Solo e Clima	07
2.1.5. Adubação	08
2.1.6. Plantio	09
2.1.7. Colheita	09
2.1.8. Rendimento	10
2.1.9. Pragas e Doenças	10
2.1.10. Produção	11
2.1.11. Exportação	17
2.1.12. Valor nutricional	18
2.1.13. Utilizações	23
2.1.13.1. Alimentação humana	23
2.1.13.2. Alimentação animal	24
2.1.13.3. Farmacologia	25
2.1.13.4. Formas de Consumo	25

2.2. Doença Celíaca	26
2.2.1. Histórico	26
2.2.2. Gliadina	27
2.2.3. Patogênese	28
2.2.4. Incidência	31
2.2.5. Caracterização	32
2.2.6. Diagnóstico	32
2.2.7. Tratamento	36
3. MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1. Matéria prima	37
3.2. Obtenção das Farinhas	38
3.2.1. Farinha de Trigo Sarraceno	38
3.2.2. Farinha de Trigo Sarraceno sem pro- lamina	38
3.2.3. Farinha de milho opaco-2	39
3.2.4. Farinha de peixe	40
3.2.5. Farinha de Castanha do Pará (<i>Bertho- lletia excelsa</i>)	41
3.3. Análises Químicas	41
3.4. Complementação do Padrão de Aminoácidos ...	43
3.5. Ensaio Biológico	44
3.6. Análise Estatística	49
3.7. Eletroforese	50
3.7.1. Extração	51
3.7.2. Concentração	52
3.7.3. Dissociação	52
3.7.4. Aplicação das amostras no gel SDS- 12% acrilamida	53
3.7.5. Condições da corrida eletroforética	53
3.7.6. Coloração e Descoloração	54

3.8. Testes Reológicos	54
3.8.1. Determinação de Umidade	54
3.8.2. Propriedades das Farinhas no Farinógrafo (segundo AACC, 1969)	55
3.8.3. Determinação da Viscosidade (segundo AACC, 1969)	56
3.9. Teste Imunológico	57
3.9.1. Preparo dos antígenos	57
3.9.2. Técnica da Imunofluorescência Indireta	58
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.1. Farinhas	59
4.2. Análises Químicas	60
4.2.1. Análises Bromatológicas	60
4.2.2. Análise do Perfil de aminoácidos ...	64
4.2.3. Determinação de minerais	66
4.2.4. Determinação de Fatores Antinutricionais	67
4.3. Complementação do padrão de aminoácidos ...	68
4.4. Ensaio Biológico	70
4.5. Eletroforese	78
4.6. Teste reológicos	81
4.6.1. Determinação de Umidade	81
4.6.2. Propriedades das Farinhas no Farinógrafo	82
4.6.3. Determinação da Viscosidade	83
4.7. Teste Imunológico	84
4.7.1. Soro paciente	85
4.7.2. Soro controle	86
5. CONCLUSÕES	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
APÊNDICE	101

LISTA DE FIGURAS

FIGURA N.º		Página
01	Peso Semanal dos animais (referente a cada tratamento) no ensaio biológico ao nível de 10% de proteína	76
02	Peso total dos animais (referente a cada tratamento em 28 dias) adquirido durante o ensaio biológico ao nível de 10% de proteína	77
03	Padrão de bandas dos extratos etanólicos do trigo sarraceno e do trigo comum em comparação com a mistura padrão	78
04	Reatividade dos soros controle e paciente incubados com seções criostáticas de grãos de trigo comum e de trigo sarraceno	84

LISTA DE TABELAS

TABELA N°		Página
01	Produção de trigo sarraceno em várias regiões do Brasil (1975)	13
02	Variação da produção de trigo sarraceno no estado do Paraná a partir de 1959	14
03	Produção mundial do trigo sarraceno (1967/1971)	16
04	Composição média (%) do Trigo sarraceno .	18
05	Conteúdo médio de minerais e vitaminas do trigo sarraceno	18
06	Valores nutricionais de proteína do trigo sarraceno comparado com vários grãos de cereais e com a proteína total do ovo como referência	20
07	Composição química das farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina, de trigo, de milho opaco-2, de peixe e de castanha do Pará	61
08	Composição química das dietas experimentais para o ensaio biológico ao nível de 10% de proteína	63

TABELA N°

Página

09	Comparação do conteúdo de aminoácidos essenciais das farinhas de trigo sarraceno e de trigo sarraceno sem prolamina com a proteína padrão da FAO/81	64
10	Comparação do conteúdo de aminoácidos essenciais das farinhas de trigo sarraceno e de trigo comum com a proteína padrão da FAO/81	65
11	Composição em minerais das farinhas de trigo e de trigo sarraceno	67
12	Cômputo químico da 1.ª mistura	68
13	Cômputo químico da 2.ª mistura	69
14	Cômputo químico da 3.ª mistura	69
15	Cômputo químico da 4.ª mistura	70
16	Resultados de digestibilidade (D), Utilização proteica líquida (NPU), Valor Biológico (VB), razão de eficiência proteica (PER) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) para as dietas experimentais	71
17	Determinação de umidade nas farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina e de trigo	81

TABELA N°

Página

18	Determinação da viscosidade das farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina e de trigo	83
----	--	----

AVALIAÇÃO QUÍMICA, NUTRICIONAL, BIOLÓGICA E REOLÓGICA
DAS FARÍNHAS DE TRIGO SARRACENO (*Fagopyrum esculentum*)
COM E SEM PROLAMINA E VIABILIDADE DE SEU EMPREGO
NA ALIMENTAÇÃO DE PESSOAS PORTADORAS DE
DOENÇA CELÍACA

AUTORA: MARCIA DE LOURDES PEREIRA DE FRANCISCHI

ORIENTADORA: Prof.^o Dr.^o JOCELEM MASTRODI SALGADO

Resumo

Foram estudadas as características químicas, nutricionais, biológicas e tecnológicas das farinhas de trigo sarraceno e de trigo sarraceno sem prolamina, em comparação com o trigo comum para sua utilização por pacientes celíacos.

O tratamento empregado foi a extração da fração prolamina da farinha de trigo sarraceno por solvente utilizando-se etanol a 70%.

A composição química para as amostras de farinha de trigo sarraceno foi de 9,7% para proteína, 0,78% para gordura, 3,0% para cinzas, 0,62% para fibras e 75,8% para carboidratos. As amostras de farinha de trigo sarraceno sem prolamina apresentaram valores de 8,4% para proteína, 0,83% para gordura, 3,1% para cinzas, 0,61% para fibras e 76,66% para carboidratos. A composição química para as amostras de trigo comum apresentaram os teores de 14% para proteína, 0,91% para gordura, 2,4% para cinzas, 0,64% para fibras e 71,15% para carboidratos.

A composição em aminoácidos apresentou como primeiro limitante para a farinha de trigo sarraceno a metionina + cistina (escore 61,96%) e como segundo aminoácido limitante a treonina (escore 73,25%). O perfil de aminoácidos para a farinha de trigo sarraceno sem prolamina apresentou a metionina + cistina como primeiro aminoácido limitante (escore 59,87%) e o segundo aminoácido limitante a lisina (escore 72,75%). Para a farinha de trigo comum o primeiro aminoácido limitante foi a lisina (escore 26,72%) e a treonina (escore 55,9%). Os minerais encontrados em maiores proporções na farinha de trigo sarraceno, em relação à farinha de trigo comum foram: magnésio 0,09%, cobre 8,1 (ppm) e ferro 67 (ppm).

Quanto à presença de fatores antinutricionais (hemaglutinina e tanino) os resultados mostraram que a farinha de trigo sarraceno não contém atividade hemaglutinante e, quanto ao tanino, encontrou-se um teor de 0,00090%, considerado desprezível.

A qualidade da proteína das farinhas de trigo sarraceno e de trigo sarraceno sem prolamina foi melhorada através de complementações com farinha de peixe e castanha do Pará e farinha de milho opaco-2 e peixe.

A eletroforese dos extratos etanólicos do trigo sarraceno e do trigo comum realizada em géis SDS-12% em acrilamida revelou que a fração proteica solúvel em etanol a 70% do trigo sarraceno difere da respectiva fração do trigo comum quantitativa e qualitativamente.

As propriedades reológicas das farinhas de trigo sarraceno sem prolamina, de trigo sarraceno e de trigo comum avaliadas no farinógrafo e amilógrafo mostraram que a farinha de trigo sarraceno não contém glúten.

O teste da imunofluorescência indireta revelou que a farinha de trigo sarraceno não apresenta toxidez para o paciente celíaco, não havendo formação de anticorpos anti-proteínas desse grão para o período testado de 30 dias.

Dos resultados obtidos foram apresentadas as seguintes conclusões: o valor de 56,5% de extração para obtenção da farinha de trigo sarraceno é considerado bom; a farinha de trigo sarraceno apresenta a metionina + cistina como primeiro aminoácido limitante seguido da treonina como segundo aminoácido limitante; a farinha de trigo sarraceno apresenta maior teor do aminoácido lisina do que a farinha de trigo comum; a farinha de trigo sarraceno supera a farinha de trigo comum para os minerais ferro, cobre e magnésio, a farinha de trigo sarraceno não apresenta atividade hemaglutinante, o teor de tanino é desprezível, a proteína da farinha de trigo sarraceno responde positivamente à complementação com proteína de peixe e de castanha do Pará; as farinhas de trigo sarraceno sem prolamina complementadas ou não apresentaram melhores resultados para a digestibilidade em comparação ao trigo sarraceno normal; para o parâmetro ganho em peso não houve um tratamento que superasse os demais; a eletroforese revela que a fração solúvel em etanol a 70% do trigo sarraceno difere amplamente da referida fração do trigo comum; os testes reológicos indicam que a farinha de trigo sarraceno não contém glúten; o teste imunológico demonstra que o trigo sarraceno não apresenta prolaminas tóxicas aos pacientes celíacos.

CHEMICAL, NUTRITIONAL, BIOLOGICAL AND REOLOGICAL
EVALUATION OF BUCKWHEAT (*Fagopyrum esculentum*) WITH
AND WITHOUT PROLAMINE AND VIABILITY OF USE IN CELIAC
PEOPLE NOURISHMENT

AUTHOR : MARCIA DE LOURDES PEREIRA DE FRANCISCHI

ADVISER : Prof.^a Dr.^a JOCELEM MASTRODI SALGADO

SUMMARY

Chemical, nutritional, biological and technological characteristics of buckwheat with or without prolamine in comparison to regular wheat for celiac patients use were researched.

The treatment consisted on the extraction of a prolamine fraction of buckwheat flour by solvent using ethanol at 70%.

The chemical composition for the buckwheat samples was 9.7% for protein, 0.78% for fat, 3.0% for ashes, 0.62% for fibers, and 75.8% for carbohydrates. The samples of buckwheat flour without prolamine presented values such as 8.4% for protein, 0.83% for fat, 3.1% for ashes, 0.61% for fibers, and 76.66% for carbohydrates. The chemical composition contents for the regular wheat samples were 14% for protein, 0.91% for fat, 2.4% for ashes, 0.64% for fibers, and 71.15% for carbohydrates.

The composition for aminoacids presented the methionine + cystine (61.96% score) as the first limiting aminoacid for the buckwheat flour and treonine (73.25% score) as the second limiting aminoacid. The aminoacid profile for the

buckwheat flour without prolamine presented methionine + cystine as the first limiting aminoacid (59.87% score) and lysine as the second limiting aminoacid (72.75% score). For the regular wheat flour lysine (26.72% score) was the first limiting aminoacid and treonine was the second (55.9% score).

The minerals found in the buckwheat flour in a higher proportion in comparison to the regular wheat were 0.09% magnesium, 8.1 (ppm) copper, and 67 (ppm) iron.

Concerning the presence of antinutritional factors (hemaglutinine and tanin) the results showed that the buckwheat flour does not present hemagglutinating activity and as to tanin a 0.00090% content was found and considered negligible.

Complementations with fish and Brazilian nut flours and also opaque-2 maize and fish were carried out in order to improve the protein quality of both buckwheat flour and buckwheat without prolamine.

The electrophoresis of buckwheat and regular wheat ethanolic extracts accomplished in SDS-12% gel in acrylamid revealed that the buckwheat protein fraction that is soluble in ethanol at 70% is different from the respective regular wheat fraction concerning both quantity and quality.

The reological properties of buckwheat flour without prolamine, of buckwheat and of regular wheat evaluated in the farinograph and amylograph showed that the buckwheat flour does not contain gluten.

The indirect immunofluorescence test revealed that the buckwheat flour does not present toxicity for the celiac patient and no anti-protein antibodies of the grain is present during the 30 days period tests.

The results obtained led to the following conclusions: the 56.6% extraction value to obtain buckwheat flour is considered good; the buckwheat flour presents methionine + cystine as the first limiting aminoacid followed by the treonine as the second limiting aminoacid; the buckwheat flour is superior to the regular wheat flour for such minerals as iron, copper and magnesium; the buckwheat does not present an hemagglutinating activity and the tanin content is negligible; the buckwheat flour protein responds positively to the complementation with fish and Brazilian nut proteins; complemented or not complemented buckwheat flour without prolamine presented better results regarding to digestibility in comparison to the normal buckwheat, concerning the gain of weight parameter no treatment was surpassed; the electrophoresis reveals that the buckwheat fraction that is soluble in ethanol at 70% is very different from the regular wheat fraction; reological tests indicate that the buckwheat flour does not contain gluten; the immunological test shows that the buckwheat does not present toxic prolamines to celiac patients.

1. INTRODUÇÃO

A doença celíaca, também conhecida como enteropatia sensível ao glúten, espru-celiaco ou espru não tropical, é uma doença caracterizada por danos à mucosa do intestino delgado e má absorção; o que compromete a utilização de vários nutrientes pelo organismo (COLE & KAGNOFF, 1985).

É uma enfermidade de caráter genético que é ativada, em indivíduos susceptíveis, pela ingestão do glúten de trigo e proteínas similares (prolaminas) de outros cereais como a aveia, centeio, cevada. Mais precisamente, é a fração gliadina contida no glúten a responsável por distúrbios no metabolismo das células epiteliais do intestino delgado produzindo uma alteração funcional global das mesmas através de mecanismos ainda não esclarecidos (CERVETTO, 1983).

Os sintomas clássicos da doença incluem: pouco crescimento, perda de peso, má nutrição, diarreia, esteatorreia, podendo ainda o indivíduo manifestar uma série de outros sintomas e sinais, tais como distúrbios de

Como a doença é desencadeada pelo glúten o tratamento dietético é fundamental, e, de certa forma problemático, pois requer a exclusão da dieta, de alimentos a base de cereais que são habituais na alimentação do brasileiro e de custo relativamente baixo tais como: pão, macarrão, biscoitos entre outros. Além disso, a exclusão do glúten da dieta pode se tornar difícil devido à sua inclusão como aditivo, em uma grande variedade de alimentos processados (BALDO & WRIGLEY, 1984).

Tendo em vista essa dificuldade em manter uma dieta livre de glúten e que os pacientes celíacos apresentam-se desnutridos em diferentes graus de severidade, a presente pesquisa volta-se então, para buscar novos alimentos adequados e viáveis aos pacientes celíacos, utilizando como principal matéria-prima o trigo sarraceno, também denominado de mourisco ou preto.

O trigo sarraceno, botanicamente não é um cereal, e, portanto, não se espera que contenha prolaminas tóxicas (CAMPBELL, 1987).

Além disso, sua principal proteína é uma globulina, e, análises químicas indicam que sua composição em aminoácidos é nutricionalmente superior à dos cereais (contém alto teor em lisina), segundo POMERANZ & ROBBINS (1972) e TAIRA (1974).

De acordo com TAIRA (1974) o trigo sarraceno pode ser moído e sua farinha utilizada para a confecção de macarrão, panquecas e sopas.

Os principais estados produtores de trigo sarraceno no Brasil são, por ordem de produção: O Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, São Paulo e Mato Grosso do Sul. O produto é utilizado na fabricação de farinha para panificação, alimentação animal, fonte de néctar para a produção de mel e como fornecedor de massa verde para adubação do solo (AGROPECUÁRIA, 1979).

Diante do exposto e tendo em vista a disponibilidade do trigo sarraceno no Brasil, aliado ao seu valor nutricional e possível ausência de toxidez para celíacos; a necessidade de exclusão total e definitiva do glúten da dieta de celíacos, é que se propôs a desenvolver esta pesquisa, tendo por objetivos: avaliar as propriedades nutricionais, biológicas e tecnológicas da farinha de trigo sarraceno com e sem a fração prolamina; comparar através de eletroforese a fração proteica solúvel em etanol a 70% (prolamina) do trigo sarraceno com a do trigo comum; avaliar a utilização da farinha de trigo sarraceno sob o ponto de vista clínico (imunológico).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Trigo Sarraceno

2.1.1. Introdução

O trigo sarraceno, também denominado trigo mourisco, mouro, ou preto é tido como espontâneo na Mandchúria, nas margens do Rio Amur, espalhando-se para a Ásia Central, Índia e ao Japão (PACE, 1964).

A sua denominação está ligada à sua origem na Europa, sabendo-se que os árabes (mourros) o introduziram na Península e na França, durante as invasões através do Estreito de Gibraltar, no século VIII (PACE, 1964).

Não se sabe exatamente como o trigo sarraceno foi introduzido no Brasil, mas, provavelmente, ele tenha sido trazido inicialmente, pelos imigrantes poloneses, russos, alemães e outros (PACE, 1964). As primeiras culturas foram estabelecidas no Rio Grande do Sul, em cujas terras se aclimatou favoravelmente (ALMEIDA, 1978).

Nos dias atuais, o sarraceno vem sendo cultivado no Paraná, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul, radicando-se particularmente nas áreas de cultivo do trigo branco ou comum (ALMEIDA, 1978).

O sarraceno é planta dotada de grande rusticidade, muito resistente ao ataque de pragas e moléstias das lavouras, e que se adapta facilmente aos solos menos férteis. Por outro aspecto, apresenta baixo custo de produção, podendo ainda oferecer excelente produtividade por hectare quando racionalmente cultivado. Empregado na alimentação humana como farinha panificável, é largamente utilizado sob a forma de ração animal (ALMEIDA, 1978).

No Brasil, o sarraceno ainda não encontrou um rumo definido como cultura de prática permanente, seja para consumo interno, seja com objetivo de exportação, permanecendo a exploração agrícola do produto apenas voltada para o consumo a nível de propriedade rural (alimentação do gado), ou realizando reduzidas exportações para a Europa e Japão (ALMEIDA, 1978).

Entretanto, dentro da problemática que tem caracterizado os esforços para chegar-se a auto suficiência no abastecimento de trigo, é bastante possível encontrar na expansão das culturas de sarraceno, uma opção no sentido de atenuar os efeitos das importações daquele produto sobre a balança comercial. Isto porque o sarraceno, além de ser

capaz de contribuir para a redução do déficit na produção de trigo nacional, como sucedâneo daquele, se incluído na composição da farinha panificável, ainda se presta como produto francamente exportável sob a forma de grãos (ALMEIDA, 1978).

2.1.2. Características Agronômicas

O trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum*, Moench) é uma planta herbácea da família das poligonáceas e não possui qualquer afinidade com a das gramíneas, embora impropriamente denominada "trigo", com o qual nenhuma analogia apresenta, quer pela coloração, quer pela conformação do grão (noz triangular) (PACE, 1964).

A observação do trigo sarraceno como um cereal é devido a similaridade das características do seu grão com a dos cereais típicos, a predominância do teor amiláceo e a destinação alimentar dada aos grãos, tipificam-no cereal, independentemente de sua classificação botânica. A errônea denominação "trigo", ocorre certamente pela qualidade panificável da farinha sarracena, o que tem levado a muitos erros (PACE, 1964).

2.1.3. Variedades

O trigo sarraceno é uma planta dicotiledônea da família das poligonáceas. Possui folhas largas e flores de tonalidade branca. Apresenta sementes de forma triangular, de cor marrom escura, com capa externa fibrosa e miolo farináceo, contendo cerca de 80% do peso do grão. Devido a composição química e utilização de seus grãos, semelhante à dos cereais, o trigo sarraceno é, considerado também como um cereal (ALMEIDA, 1978).

No Brasil, cultivava-se principalmente a variedade denominada japonesa de cor pardo-escura. Existem, outras variedades como a prateada, de sementes menores que a anterior, de casca lustrosa e cor cinzento-prateada. Outra variedade cultivada no país é a chamada comum, resultado do cruzamento das duas já citadas. Atualmente, uma nova variedade, de origem japonesa, denominada botan, está sendo introduzida no Paraná (ALMEIDA, 1978).

2.1.4. Solo e Clima

O sarraceno é uma planta rústica e pouco exigente, encontrando condições satisfatórias de desenvolvimento quando o clima decorre úmido e fresco. É contudo, sensível às geadas, suportando porém as secas.

Desenvolve-se de modo compensador em terrenos pobres, de solos ácidos, mas desde que sejam de boa permeabilidade e providos de humus. Suas raízes fasciculadas absorvem com facilidade os nutrientes. A temperatura ideal para o cultivo do sarraceno varia em torno de 20 a 25 °C, requerendo até o começo da floração tempo seco e, durante a floração, tempo nublado e umidade regular (ALMEIDA, 1978).

O ciclo vegetativo do sarraceno é de cerca de 80 a 95 dias e a época de plantio varia de outubro a fevereiro, sendo possível fazer-se duas plantações durante o ano, no mesmo local. A lavoura semeada no começo de outubro é colhida em fins de dezembro, e a que é plantada em fevereiro pode ser colhida em abril (ALMEIDA, 1978).

2.1.5. Adubação

O sarraceno muitas vezes rende satisfatoriamente em terrenos poucos adubados. Entretanto, para obter-se melhor germinação das sementes, a cultura dessa poligonácea exige um bom preparo da terra, pois suas raízes, normalmente superficiais, se reduzem ainda mais em condições desfavoráveis de solos não adubados, diminuindo a resistência das plantas. O uso de fertilizantes minerais é prática recomendável, com emprego de produtos fosforados, baixo nível de nitrogênio e pequeno teor de potássio. Os adubos podem variar em torno de 50 a 150 quilos por hectare

A acidez do terreno deve ser controlada apenas quando o pH estiver acima de 5,0. Nas terras com pH inferior a esse nível, recomenda-se empregar cerca de 1.200 a 1.600 quilos de calcário por hectare antes da sementeira (ALMEIDA, 1978).

2.1.6. Plantio

A quantidade de sementes a ser empregada varia segundo as condições do terreno. De modo geral, recomenda-se semear 40 a 50 quilos de sementes por hectare, quando se trata de sementeira mecânica e de 60 a 70 quilos, quando esta se fizer a lanço. O plantio a máquina se faz com espaçamento de 18 a 20 cm entre as linhas (ALMEIDA, 1978).

2.1.7. Colheita

Esta deve ser iniciada quando 75 a 80% dos grãos estiverem maduros, decorridos 85 a 95 dias da sementeira. A colheita do sarraceno pode ser feita manual ou mecanicamente, com o emprego de colheitadeiras automotrizes. Após a colheita, é sempre necessário proceder a secagem dos grãos até 24 horas depois dessa operação, o que pode ser feito em secadores automáticos, a uma temperatura abaixo de 90°C. A umidade deve ser reduzida até 13 a 14% (ALMEIDA, 1978).

2.1.8. Rendimento

Segundo ALMEIDA (1978), a base de produtividade do trigo sarraceno está em torno de 1.200 a 1.700 quilos por hectare, podendo atingir até 2.000 quilos por hectare conforme a variedade e tipo de solo empregados.

Porém, DARIO & DARIO (1990) plantando trigo sarraceno na ESALQ/Piracicaba, S.P., alcançaram uma produção de 1.000 quilos por hectare, semeando no período de março a julho, com um bom desenvolvimento da cultura e sem problemas fitossanitários.

2.1.9. Pragas e Doenças

O sarraceno praticamente desconhece o ataque de pragas ou doenças que o afetem causando danos mais sérios. Os tratos culturais nesse sentido exigem apenas a utilização de formicidas para combater possíveis ataques da formiga cortadeira, que pode prejudicá-lo entre os primeiros 40 dias do ciclo vegetativo (ALMEIDA, 1978).

2.1.10. Produção

Áreas Produtoras - Brasil

Acredita-se que no Brasil o trigo sarraceno tenha sido introduzido há cerca de meio século pelos imigrantes alemães, poloneses e russos, estabelecendo-se as primeiras culturas no Estado do Rio Grande do Sul, tendo por objetivo principal a alimentação do gado e como processo de atração das abelhas, nas áreas rurais onde se pratica a apicultura. Posteriormente, as culturas se radicaram na região de Lagoa Vermelha, que é até hoje a maior área de produção do sarraceno naquele estado e mesmo no país (ALMEIDA, 1978).

Entretanto, o sarraceno é ainda praticamente desconhecido como produto agrícola, capaz de competir com outros cereais em poder nutritivo, bem como por sua rusticidade e elevado rendimento econômico, se comparado com outras culturas tradicionais (ALMEIDA, 1978).

Posteriormente, outras áreas de cultivo no extremo-sul do país foram se incorporando à produção do sarraceno, resultando hoje o cultivo racional do produto em Santa Catarina, Paraná e Mato Grosso do Sul, havendo possibilidade de se estabelecerem culturas rentáveis também ao sul de São Paulo (vale do Paraíba) e Minas Gerais (Triângulo Mineiro) (ALMEIDA, 1978).

No Paraná, as informações disponíveis dão conta de que, por volta de 1928 a 1930, quando se estabeleceram os primeiros imigrantes eslavos, ao sul do Estado, a produção obtida girava em torno de 4.500 toneladas anuais, não havendo notícias sobre a área então cultivada, bem como quanto ao rendimento obtido. A partir de 1959, a produção passou a oscilar entre 2.000 a 5.000 toneladas, chegando a 12.000 toneladas/ano em 1975 (ALMEIDA, 1978).

A expansão do sarraceno a partir de 1962 se deve à fixação, por parte do Governo Federal, de normas facultando a adição de sucedâneos à farinha de trigo destinada à panificação, em até 4% de farinha de sarraceno, e ainda ao estabelecimento de preço mínimo para o produto. Assim, o estabelecimento daquelas normas propiciou uma abertura maior de mercado para o sarraceno que, ajudado pela estabilidade de preços, recebeu a incorporação de novas áreas de plantio, notadamente, nas regiões de Ponta Grossa, Guarapuava, Palmeira, Porto Amazonas, Castro e Piraí do Sul. Um outro fato, representado pela instalação de uma indústria exclusivamente para moagem de sarraceno naquela região do Estado, veio a contribuir grandemente na época para a expansão das culturas existentes (ALMEIDA, 1978).

Entretanto, as disposições de origem legal que vinham beneficiando a produção do sarraceno vieram a

sofrer solução de continuidade, passando-se a substituir o adicional à farinha para panificação, por outros produtos como o fubá de milho e raspa de mandioca, sob a alegação de não existirem instalações suficientes para moagem de sarraceno em quantidade capaz de atender à demanda de farinha panificável (ALMEIDA, 1978).

Tecnicamente, entretanto, é possível adicionar até 20% de sarraceno à farinha mista, com o objetivo de obter-se pão de melhor qualidade, com economia nas importações do trigo, segundo estudos procedidos pelo antigo Departamento de Produção Vegetal da Secretaria de Agricultura do Paraná (ALMEIDA, 1978).

A produção do trigo sarraceno no Brasil, pode ser vista pelos dados apresentados na tabela 1:

Tabela - 01: Produção de trigo sarraceno em várias regiões do Brasil (1975).

Estados e Municípios	Produção (toneladas)
RIO GRANDE DO SUL	41.000
Barracão	4.000
S.J. Ouro	4.000
Machadinho	1.000
Vacaria	7.500
Lagoa Vermelha	14.500
Sananduva	7.000
Ibiraías	3.000
PARANÁ	12.000
Ponta Grossa	5.000
Castro	1.000
Palmeira	2.000
Guarapuava	4.000
TOTAL	53.000

FONTE: MAK BROS (Ponta Grossa)
(ALMEIDA, 1978)

Quanto à produção de trigo sarraceno, é possível informar que vem-se mantendo, ao longo dos últimos anos, com uma média em torno de 4.000 a 6.000 toneladas anuais, chegando a atingir 12.000 toneladas nos anos de 1962 e 1975. O incremento na produção de trigo sarraceno a partir de 1959, pode ser observado na tabela 2.

Tabela - 02: Variação da produção de trigo sarraceno no estado do Paraná a partir de 1959.

Ano	Toneladas
1959	2.000
1960	3.000
1961	5.000
1962	12.000
1963	7.000
1964	6.000
1965	5.000
1966	4.000
1967	4.000
1968	6.000
1969	5.000
1970	3.000
1971	2.000
1972	2.500
1973	3.000
1974	3.500
1975	12.000
1976	5.000
1977 (*)	8.000

FONTE: Levantamento MAK BROS
 Ponta Grossa - PR.
 (*) estimativa
 (ALMEIDA, 1978)

Dados mais recentes indicam que a produção brasileira de mourisco chegou a alcançar 55.000 toneladas em 1982, mas começou a decrescer nos anos subsequentes. Em 1985 esperava-se pequeno incremento na produção, mas a seca prolongada frustrou esse objetivo, conservando as últimas estimativas o patamar de 15.000 toneladas segundo o artigo MOURISCO um trigo diferente¹.

A produção mundial do trigo sarraceno no período de 1967 a 1971 pode ser vista na tabela 3:

¹ MOURISCO um trigo diferente (Cooperativa Tritícola Mista Vacariense, Vacaria) correspondência pessoal, 1989.

Tabela - 03: Produção mundial de trigo sarraceno
(1967/1971)

Países	Anos	Área (1000 ha)	Produção (1000 t)	Rendimento (kg/ha)
França	1967	22	22	1.200
	1968	18	22	1.200
	1969	17	21	1.200
	1970	16	19	1.170
	1971	14	18	1.220
Polônia	1967	54	45	830
	1968	45	42	930
	1969	63	53	840
	1970	61	52	850
	1971	60	53	880
U.R.S.S.	1967	1.722	1.175	680
	1968	1.703	1.472	860
	1969	2.043	1.375	670
	1970	1.897	1.081	580
	1971	2.000	1.500	750
Canadá	1967	31	28	920
	1968	33	30	918
	1969	40	37	925
	1970	61	62	1.000
	1971	42	46	1.100
Japão	1967	25	28	1.100
	1968	24	22	920
	1969	20	22	1.100
	1970	18	17	940
	1971	18	18	1.000

FONTE: MAK-BROS (Ponta Grossa)
(ALMEIDA, 1978)

2.1.11. Exportações

O sarraceno vem participando das exportações brasileiras de grãos há longos anos, mas as quantidades exportadas apresentam flutuações em função da concorrência dos preços oferecidos a outros produtos agrícolas no mercado externo. Ultimamente os altos preços da soja, por exemplo, têm contribuído para uma consenquente redução da produção e exportação do produto (ALMEIDA, 1978).

O Brasil vem realizando constantes exportações de sarraceno, sendo o produto muito procurado pelos mercados de vários países europeus e também pelo Japão onde se verifica a existência de um amplo mercado consumidor (ALMEIDA, 1978).

A comercialização do trigo mourisco é feita em grãos ou em farinha. De acordo com o artigo MOURISCO um trigo diferente² o produto brasileiro de exportação apresenta-se em grãos, com máximo de 14% de umidade e 1% de impurezas.

² MOURISCO um trigo diferente (Cooperativa Tritícola Mista Vacariense, Vacaria) correspondência pessoal, 1989.

2.1.12. Valor Nutricional

A composição do grão inteiro, do grão descorticado e das cascas, bem como o conteúdo em vitaminas e minerais do grão inteiro, podem ser vistos nas tabelas 4 e 5 respectivamente.

Tabela - 04: Composição média (%) do Trigo Sarraceno

	Umidade	Cinza	Proteína	Gordura	Fibra	N-Livre
Grão inteiro	10,0	1,8	11,0	2,4	11,0	64,0
Cascas	6,4	2,0	2,9	0,8	49,4	38,5
Grão descorticado	11,1	1,7	12,6	2,8	0,8	71,0

FONTE: POMERANZ, Y. (1983).

Tabela - 05: Conteúdo médio de minerais e vitaminas do Trigo Sarraceno

Minerais (mg/100 g)		Vitaminas (mg/1000 g)	
Ca	100,00	Tiamina	3,3
Fe	4,00	Riboflavina	1,2
Mg	390,00	Ácido Pantotênico	11,0
P	330,00	Niacina	18,0
K	450,00	Piridoxina	1,5
Cu	0,95	Tocoferóis	40,0

FONTE: POMERANZ, Y. (1983).

A composição química do grão inteiro e descorticado foi determinada por KIRILENKO & SARKISOVA (1978) observando que os grãos descorticados apresentaram alto teor de amido, proteína e tiamina e baixo teor em celulose. Verificaram que os aminoácidos essenciais compreendem 36,75% da proteína total, sendo que os aminoácidos lisina, histidina, valina e leucina foram presentes em quantidades maiores e metionina, triptofano e fenilalanina teores menores nas proteínas do grão inteiro.

Os experimentos alimentares realizados por SURE (1955) mostraram que as proteínas do trigo sarraceno são uma das melhores fontes de proteínas de alto valor biológico no reino vegetal.

Segundo TAIRA (1974) o principal carboidrato do trigo sarraceno é o amido cujos grãos tem aproximadamente 4-15 μ em diâmetro e são facilmente sacarificados. Afirma ainda o autor que a principal proteína do trigo sarraceno é uma globulina e que análises da sua composição em aminoácidos essenciais mostram o seu alto conteúdo de lisina e baixo em metionina quando comparado com cereais pertencendo à família das gramíneas.

Conforme determinado por POMERANZ & ROBBINS (1972), as proteínas do trigo sarraceno foram particularmente ricas em lisina e apresentaram menos ácido glutâmico e prolina e mais arginina e ácido aspártico em relação as proteínas dos cereais. Nesse mesmo estudo,

comparou-se o padrão de aminoácidos essenciais no trigo sarraceno com o dos grãos de cereais e como padrão de referência a proteína do ovo (tabela 6).

Tabela - 06: Valores nutricionais de proteínas do trigo sarraceno comparado com vários grãos de cereais e com a proteína total do ovo como referência.

* Valores E/T

Aminoácido Essencial	Padrão de Ref do ovo	Trigo	Aveia	Sarraceno	Milho	
					Normal	Opaco-2
	3,22	1,99	2,38	2,41	2,65	2,54

**Valores A/TE

Isoleucina	129	122(95)	102(79)	99(77)	94(73)	93(72)
Leucina	172	213	194	166	328	241
Lisina	125	82(66)	110(88)	158	66(53)	116(93)
Tirosina e Fenilalanina	195	243	220	179(92)	217	206
Cistina e Metionina	107	196	107	106	76(71)	81(76)
Treonina	99	93(94)	86(87)	101	85(86)	96
Triptofano	31	41	42	60	17(55)	32
Valina	141	150	139	132(94)	118(84)	135

* Gramas de aminoácidos essenciais por grama de N total

** Miligramas de aminoácido específico por grama de aminoácidos essenciais totais

FONTE: POMERANZ & ROBBINS (1972)

O valor nutricional das proteínas do sarraceno foram comprovadas por Lockhart & Neshein³ que

³ LOCKHART, H.B. & NESHEIN, R.O. Nutritional quality of cereal grains. In: POMERANZ, Y., ed. Cereals '78; better nutrition for the world's millions. St. Paul, American Association Cereal Chemistry, 1978. p.201.

estimaram um PER (Protein Efficiency Ratio) de 1,8 para as proteínas do sarraceno, e por Javornik⁴ e colaboradores citados por POMERANZ (1983), que estudaram a composição química, qualidade proteica dos grãos descascados de sarraceno variedade tartárico. Comparando esses grãos descascados com o grão inteiro através de experimentos de balanço nitrogenado com ratos, verificaram que a qualidade das proteínas dos grãos descorticados foram muito altas, com um valor biológico acima de 90%. A digestibilidade dos grãos descorticados foi cerca de 10% maior do que o grão inteiro provavelmente devido ao menor conteúdo de fibras e taninos nesses grãos.

Conforme já citado anteriormente, o fruto do trigo sarraceno assemelha-se aos grãos de cereais com um endosperma amiláceo e embrião oleoso, e sua proteína tem um valor biológico elevado. É tido comercialmente como um cereal, o que tem levado a alguma confusão à respeito do seu uso na enteropatia induzida pelo glúten ou doença celíaca (SKERRIT, 1986).

Um estudo comparativo das proteínas solúveis em álcool do trigo comum e do trigo sarraceno, realizado

⁴JAVORNIK, B.; EGGUM, B.O.; KREFT, I. Studies on protein fractions and protein quality of buckwheat. Genetika, 13(2): 115, 1981.

por SKERRIT (1986), demonstrou que a composição aminoacídica de sarraceno solúvel em etanol 70% foi diferente nos conteúdos de lisina, arginina e glicina que foram muito maiores do que as prolaminas do trigo ou de qualquer outro cereal, e, afirma: nenhuma das prolaminas das gramíneas tiveram a combinação de altos níveis de lisina, arginina e glicina encontradas em proteínas solúveis em etanol do sarraceno. Nesse mesmo estudo, o soro de três pacientes celíacos contendo altos níveis de anticorpo anti-gliadina reagiram fortemente com extratos de uréia e etanol da farinha de trigo, mas, fracamente e não com todos os respectivos extratos do sarraceno.

Concluindo, SKERRIT (1986) afirma: composição aminoacídica, eletroforese e análises imunológicas revelaram pouca similaridade entre proteínas no endosperma do trigo e do sarraceno. Em adição, as proporções relativas de proteínas solúveis em solução salina e solúveis em álcool no trigo e no sarraceno, diferem vastamente, sendo que a última forma constitui somente uma menor porção da proteína do endosperma no sarraceno. Portanto, sua inclusão na dieta de indivíduos sensíveis ao glúten poderia levar a melhora no teor proteico da dieta.

2.1.13. Utilizações

2.1.13.1. Alimentação Humana

Suas qualidades potenciais ainda não estão devidamente exploradas por falta de iniciativas mais firmes no sentido de se desenvolverem pesquisas mais aprofundadas a respeito. Sabe-se, entretanto, que os grãos, por exemplo, podem ser utilizados como substitutivos do arroz, ou no preparo de sopas, mingaus, caldos, condimentos e molhos. Sob a forma de farinha, o sarraceno pode ser usado no fábriço do pão, biscoito, tortas, panquecas, etc., mais apreciados por alguns grupos étnicos como os eslavos, árabes e israelitas (ALMEIDA, 1978).

Em 1977, LEITÃO e colaboradores desenvolveram pesquisa utilizando a farinha de trigo mourisco em pastas alimentícias e concluíram que o macarrão feito com 10% de farinha de trigo mourisco era de bom aspecto e bem aceito, embora deficiente em alguns aminoácidos; que o uso de trigo mourisco na elaboração de massas alimentícias contribui para uma redução no consumo de trigo, e também, que para processar esse macarrão com farinha mista, não havia a necessidade de alterações substanciais no processo existente nas indústrias de pastifícios.

2.1.13.2. Alimentação Animal

No arraçoamento de animais, o sarraceno destaca-se por ser planta de baixo custo de produção e elevada produtividade em diversos tipos de solos constituindo elemento nutritivo empregado com vantagem na fabricação de rações para suínos, bovinos, aves e outros animais. Particularmente, na criação de suínos, o sarraceno demonstra excelentes qualidades produzindo carcaças com menor porcentagem de gordura ao contrário do que sucede com os animais alimentados habitualmente com milho (ALMEIDA, 1978).

Na apicultura verifica-se um fato interessante ao constatar-se que a cultura do sarraceno atinge seu melhor desenvolvimento quando, no período da floração, as plantas passam a atrair as abelhas devido ao seu abundante néctar o que favorece a polinização das florescências, produzindo sementes mais férteis e ainda porque, essa fase dura em torno de 40 dias. Assim, a criação de abelhas nas proximidades das culturas de sarraceno representa um duplo benefício, garantindo melhor rendimento em termos agrícolas e propiciando à exploração da apicultura na obtenção de mel de melhor qualidade (ALMEIDA, 1978).

2.1.13.3. Farmacologia

Sabe-se que os grãos de sarraceno contêm um elemento químico-farmacêutico denominado rutina, possuidor de numerosas aplicações terapêuticas, principalmente empregado pela medicina como anti-hemorrágico e no tratamento de lesões por queimaduras (ALMEIDA, 1978).

2.1.13.4. Formas de Consumo

Os grãos, farinha ou pasto são as formas sob as quais o trigo mourisco é consumido. O uso dos grãos é recomendável na alimentação de coelhos, bovinos, inclusive vacas leiteiras, equinos, suínos, caprinos e aves de postura e de corte. A massa verde dá ótima forragem, sendo usada também como pasto para abelhas. Na alimentação humana o mourisco é utilizado sob a forma de farinha ou como grão descascado, sendo também usado na alimentação macrobiótica. Sua farinha destina-se ao preparo de biscoitos, tortas, pães, etc., geralmente misturada com farinhas de outros cereais, água, leite e um agente de fermentação. Mas, o maior uso do trigo mourisco é mesmo para a confecção do tradicional macarrão oriental, tipo soba. Como grão descascado é um ótimo alimento, podendo ser utilizado em substituição ao arroz e em todas as iguarias em que entre esse cereal. No Brasil, seu uso na alimentação humana é ainda

muito limitado. Pequenas quantidades de farinha são usadas para a confecção de pão sírio e de panquecas, segundo o artigo MOURISCO um trigo diferente⁵.

2.2. Doença Celíaca

2.2.1. Histórico

De acordo com CAMPBELL (1987), o nome celíaco deriva da palavra grega "Koiliakos" que significa sofrendo dos intestinos.

Esta doença foi descrita no início do segundo século AD e, séculos mais tarde Gee⁶ citado por DAVIDSON & BRIDGES (1987) associou os sintomas com a ingestão de farináceos. Entretanto, o reconhecimento definitivo da toxicidade do trigo ocorreu somente com a pesquisa de DICKE et alii (1953) que notaram um declínio da incidência de doença celíaca na Holanda durante os anos de privação dos grãos da II Guerra Mundial. Desde então, a doença celíaca tem sido tratada pela restrição da ingestão do glúten (gliadina).

⁵ MOURISCO um trigo diferente (Cooperativa Triticola Mista Vacariense, Vacaria) Correspondência pessoal, 1989.

⁶ GEE, S. On the coeliac affection. St. Bart. Hosp. Rep., 24: 17-20, 1888.

2.2.2. Gliadina

Segundo DAVIDSON & BRIDGES (1987), a proteína do glúten de trigo pode ser dividida de acordo com a sua solubilidade em etanol, em frações aproximadamente iguais em peso, de glutenina e gliadina. Com base nisso, os resultados da hidrólise do glúten mostram: 50% fração insolúvel em álcool: glutenina (inócua) e 50% fração solúvel em álcool: gliadina (tóxica) (SOLÁ, 1981).

Na verdade, a gliadina, que pertence à classe das prolaminas, é uma mistura complexa de proteínas que contém no mínimo 40 componentes diferentes em uma única variedade de trigo (LEVENSON et alii, 1985). Baseado na sua mobilidade eletroforética em géis de amido, as gliadinas são divididas em 4 grupos: α , β , γ e ω gliadinas, sendo a fração α a que apresenta maior mobilidade e a ω a menor (PATEY, 1974). KENDALL et alii (1972) utilizando cromatografia de troca iônica, dividiram o glúten em 12 subfrações e testaram sua toxidez usando a técnica oral de xilose e concluíram que a toxidade da gliadina parecia estar confinada à fração α . De acordo com LEVENSON et alii (1985), as frações de gliadina de trigo que podem ativar a doença permanece uma questão em aberto, com exceção das frações α e talvez β .

2.2.3. Patogênese

KUMAR (1985) afirma não existirem dúvidas de que o glúten é central à patogênese da doença celíaca, apesar de ainda permanecer um enigma sobre o mecanismo exato pelo qual ele cause danos à mucosa do intestino delgado.

O estudo da patogenia da doença celíaca através dos anos têm se concentrado em duas principais hipóteses: uma hipótese sugere que a doença seria devido à ausência de uma enzima específica para a digestão do glúten e, a outra sugere uma causa imunológica (CERVETO, 1983).

A primeira hipótese afirma que com a deficiência enzimática, haveria um acúmulo de peptídeos que seriam lesivos à mucosa intestinal (CERVETO, 1983).

Porém, o efeito do glúten parcialmente digerido foi analisado por FRAZER et alii (1959), que submeteram o glúten de trigo à digestão "in vitro" com pepsina e tripsina para verificar o seu efeito deletério, e, concluíram que mesmo metabolizado, este continuava sendo lesivo aos pacientes com enteropatia induzida pelo glúten.

Conforme observado em relação à teoria enzimática é que a maioria das anormalidades jejunais retornam ao normal depois do tratamento com uma dieta livre de glúten (KUMAR, 1985).

Os déficits enzimáticos de peptidases e dissacaridases são secundários e não primários, uma vez que as atividades dessas enzimas retornam ao normal com o tratamento (CERVETO, 1983).

A hipótese imunológica afirma que a doença celíaca é causada por uma resposta imune anormal determinada geneticamente ao glúten de trigo (gliadina) e outras proteínas de cereais estruturalmente relacionadas (ex: prolaminas de centeio e cevada) segundo FALCHUK & STROBER (1974). Afirmam também que a doença celíaca está associada com o sistema de histocompatibilidade HLA-DR, bem como com um número de alterações na atividade das células T e B, sugerindo a existência de um defeito básico na imunoregulação.

A designação HLA ("Human Leucocyte Antigens") refere-se a um conjunto de glicoproteínas antigênicas encontradas na superfície de todas as células humanas, estudadas em linfócitos por maior facilidade, e que são o resultado da ação de gens distribuídos em loci ao longo do braço curto do cromossomo 6. Esses gens se localizam especificamente em 4 loci, salvo no linfócito B, que possui um quinto locus: o DR. Os gens HLA são os responsáveis pela regulação de um conjunto de respostas imunes. Esses genes, determinariam a existência de receptores para a gliadina na superfície das células epiteliais e/ou nos linfócitos T ou B, os quais passariam à circulação

transportando a mensagem e, regressariam contra a mucosa, causando a morte prematura das células (CERVETO, 1983).

A susceptibilidade à doença está, de algum modo, relacionada aos genes intimamente associados com o principal complexo de histocompatibilidade, especialmente a região HLA - D, localizada no cromossomo 6 humano. Os genes nesta região estão particularmente envolvidos com enfermidades suspeitas de possuírem um componente imunológico. Portanto, acredita-se que esta região carrega os genes da resposta imune (JAWETZ et alii, 1980).

Apoiando esta teoria ROSENTHAL et alii (1984) observa que mecanismos imunológicos fazem um importante papel na patogênese dos danos à mucosa jejunal induzidos pelo glúten e que os pacientes celíacos apresentam frequência elevada de antígenos de histocompatibilidade HLA - B8 e outros antígenos HLA. Afirma ainda que anticorpos circulantes às frações do glúten tem sido detectados na maioria dos pacientes com doença celíaca durante a ingestão de glúten.

Segundo SKERRIT (1988), vários grupos de pesquisadores têm encontrado níveis elevados de anticorpos as proteínas do glúten no soro de celíacos, especialmente em indivíduos na fase aguda. Os anticorpos séricos do tipo IgA podem ter um importante papel na doença celíaca quando presentes em títulos elevados, sendo quase específicos para a doença.

A especificidade do anticorpo anti-gliadina foi estudada por LEVENSON et alii (1985) através de um ensaio radioimune com 30 pacientes celíacos. Eles encontraram em 17 dos 30 pacientes, anticorpos anti-gliadina para uma ou mais frações da gliadina (α , β , γ , ω), mesmo esses pacientes estando em uma dieta livre de glúten por 18 meses.

Ainda permanece um enigma a patogênese da doença celíaca, apesar de numerosas tentativas realizadas com o objetivo de elucidá-la. A doença celíaca representa um modelo de doença governada por fatores genéticos, imunológicos e ambientais e deveria haver esforços significantes para definir precisamente a sua etiopatogênese.

2.2.4. Incidência

A incidência da doença celíaca parece ser muito baixa em negros, chineses e japoneses, que também tem baixa prevalência de HLABs e DRs. A doença celíaca mostra níveis variáveis de prevalência em europeus, é moderadamente comum entre alguns grupos árabes e é relativamente incomum em norte-americanos (MCNICHOLL, 1986).

2.2.5. Caracterização

Segundo MURAHOVSKI (1984), a doença celíaca caracteriza-se por: anormalidades histológicas das mucosas duodenal e jejunal; evidências clínicas e bioquímicas de má absorção quando o glúten é introduzido na dieta; remissão clínica e histológica após a retirada do glúten da dieta recidiva clínica e histológica após a reintrodução do glúten. O quadro clínico completo da doença celíaca abrange diarreia crônica com evacuações volumosas 3 a 6 vezes ao dia, com fezes esteatorréicas, perda acentuada de peso; estatura normal na primeira infância e prejudicada nas outras fases da vida, abdome globoso, tecido celular escasso e massas musculares (especialmente das nádegas) fundidas. Ocorrem também alterações consequentes à desnutrição grave (deficiências vitamínicas, anemias, edema de membros inferiores) bem como irritabilidade.

2.2.6. Diagnóstico

A doença celíaca não é de fácil diagnóstico, pois pode-se ter formas incompletas de manifestação, por isso podem ser utilizados para o diagnóstico critérios como: o quadro clínico clássico. Os testes que caracterizam uma síndrome de má absorção (segundo MURAHOVSKI, 1984), como a prova de absorção da D-Xilose (Método Roe e Rice pa-

como a prova de absorção da D-Xilose (Método Roe e Rice para determinar pentose) e medida da esteatorréia (Método de Van der Kamer) podem ser empregados.

Outro critério para diagnóstico seria a dosagem de anticorpos anti-gliadina (JONSSON & SHILING, 1981; ROSENTHAL et alii, 1984; LEVENSON et alii, 1985); mas o que sela o diagnóstico da doença celíaca é a histologia do intestino delgado (CERVETO, 1983). Essa observação também foi verificada por DAVIDSON & BRIDGES (1987) que afirmaram ser geralmente aceito, que as alterações bioquímicas e clínicas em indivíduos celíacos podem ser mínimas e o diagnóstico depende da demonstração das mudanças morfológicas na mucosa intestinal e que os critérios propostos pela Sociedade Européia de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição são largamente aceitos. Esses critérios requerem a demonstração de:

anormalidade da mucosa por biópsia oral usualmente feita próxima ao ligamento de Treitz, em um paciente com evidência de má absorção; evidência de melhora com dieta livre de glúten por clínica e biópsia e, relapso depois da reintrodução do glúten à dieta, ou seja, deve-se realizar 3 biópsias para confirmar o diagnóstico.

A biópsia jejunal, entretanto, é desagradável, demorada, e, portanto, é necessário um teste sensível e que possa ser utilizado em larga escala da população.

Um teste para determinação da doença celíaca, deveria ser sensível, específico, de baixo custo e fácil de ser executado (JUBY et alii, 1989).

Há portanto, a necessidade da realização de outros testes que possam ser facilmente reproduzidos, auxiliando e simplificando o diagnóstico da doença celíaca.

JONSSON & SCHILINGS, em 1981, determinaram anticorpos à gliadina pela técnica indireta de imunofluorescência usando cortes congelados de grãos de trigo ou película de gliadina em "sepharose" e verificaram que a técnica de corte do grão foi mais discriminativa para pequenas variações na concentração de anticorpos do que a outra técnica.

ROSENTHAL et alii (1984) utilizaram um método indireto de imunofluorescência denominado teste de anticorpo anti-glúten. Compararam 6 grupos de pacientes, sendo que todos os pacientes com doença celíaca e que estavam recebendo dieta contendo glúten apresentaram títulos de 1:40 a 1:80 na classe Ig G, enquanto que outros pacientes tiveram um título de 1:10 a 1:40 na classe Ig M principalmente. Concluíram que esse teste é uma ferramenta eficaz para pacientes com doença celíaca e pode servir como um índice prático da isenção dietética de glúten.

KELLY et alii em 1987 avaliaram o valor diagnóstico da medida de anticorpos anti α -gliadina em crianças com suspeita de doença celíaca. Realizaram

biópsia jejunal e 20 crianças apresentaram lesão histológica típica de doença celíaca, e, elevadas concentrações de anticorpos Ig G anti α -gliadina foram encontrados em 19 crianças (95%). De 57 pacientes que apresentaram uma mucosa jejunal normal, 50 tiveram concentrações normais de anticorpos anti α -gliadina. Os autores concluíram indicando que a medida dos anticorpos anti α -gliadina é um teste altamente sensível e específico para crianças com doença celíaca.

KILANDER et alii (1987) determinaram anticorpos séricos à gliadina das classes Ig A e Ig G, por difusão em ELISA (DIG-ELISA) em 10 pacientes adultos com atrofia vilositária da mucosa intestinal. Verificaram que depois da introdução em uma dieta livre de glúten ocorreu um decréscimo gradual nos níveis de anticorpos séricos à gliadina, alcançando significativa estatisticamente em 3 meses de tratamento para a classe Ig A e em 6 meses para a classe Ig G. Concluem que esse decréscimo nos níveis de anticorpos séricos à gliadina depois da retirada do glúten foi relacionado à uma melhora na mucosa intestinal e deveria assim ser indicativo se o paciente está seguindo as recomendações dietéticas.

JUBY et alii em 1989 propuseram a utilização de um teste lactulose/manitol para detectar a doença celíaca.

Todos esses trabalhos recentes demonstram bons resultados, permitindo uma maior certeza no diagnóstico, facilitando a execução e aplicação em larga escala e, possivelmente, reduzindo o número de biópsias.

2.2.7. Tratamento

De acordo com CERVETO (1983), o tratamento da doença celíaca apresenta três aspectos fundamentais: tratamento dos distúrbios hidroeletrolíticos e minerais; tratamento das carências; e tratamento dietético (não administrar o glúten tóxico contido no trigo, aveia, cevada, centeio).

A manutenção de uma dieta isenta de glúten é um desafio. Segundo McNICHOL (1986) a dieta isenta de glúten é fácil de ser mantida em crianças quando a faixa de alimentos pode ser limitada, mas torna-se difícil com o passar dos anos, com uma dieta mais variada e uma tendência rebelde natural do adolescente.

Após a instituição de uma dieta livre de glúten, melhoras clínicas começam dentro de dias ou semanas. Se isto não ocorrer, três possibilidades deverão ser consideradas: pouca conformidade dietética; presença de uma doença associada ou complicação; e erro de diagnóstico (COLE & KAGNOFF, 1985).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Matéria prima

A matéria prima utilizada no presente trabalho foi o trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum*) cujas sementes foram cedidas pela Cooperativa Tritícola Mista Vacariense Ltda, de Vacaria, Rio Grande do Sul (COOPerval).

Para efeito de enriquecimento e complementação do padrão de aminoácidos da farinha de trigo sarraceno, foram utilizadas farinhas de milho opaco-2 (cujos grãos foram cedidos pelo Departamento de Genética da ESALQ/USP provenientes da safra 1990), farinha de peixe e de castanha do Pará. A farinha de trigo comum comercial foi adquirida em moinho e utilizada como padrão de comparação.

3.2. Obtenção das Farinhas

3.2.1. Farinha de Trigo Sarraceno

A moagem dos grãos de trigo sarraceno foi efetuada em moinho-piloto de trigo BUHLER-MIAG, pneumático modelo MLV-202, o qual separou a farinha em seis frações e em farelos finos e grossos obtendo-se assim, uma farinha de trigo sarraceno mais branca, uma vez que pequenas partículas da casca poderiam acompanhar a farinha, influenciando na sua coloração (LEITÃO et alii, 1977).

Essa atividade foi realizada no Centro de Tecnologia de Farinhas e Panificação do Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, Campinas.

3.2.2. Farinha de Trigo Sarraceno sem prolamina

As prolaminas pertencem à uma classe de proteínas solúveis em etanol, e, para a extração dessa fração proteica da farinha de trigo sarraceno empregou-se como solvente etanol a 70% (SKERRIT, 1986).

A farinha de trigo sarraceno foi submetida à duas extrações sucessivas diretas com etanol a 70%, na proporção 1:20, ou seja, para cada grama de farinha, utilizou-se 20 ml de etanol a 70%. Cada extração foi feita com agitação em agitador do tipo pá marca "LAVILL" por uma hora à temperatura ambiente. Após cada extração, deixou-se em repouso por 30 minutos para a decantação da farinha e o etanol foi extraído por sifonação.

Após a segunda extração, a farinha foi colocada em finas camadas sobre bandejas e levadas para estufa com circulação forçada à temperatura de 55°C por aproximadamente 12 horas, para secagem e evaporação do etanol.

Depois da secagem, moeu-se novamente, e, obteve-se assim uma farinha de trigo sarraceno sem prolamina (fração proteica solúvel em etanol 70%).

3.2.3. Farinha de milho opaco 2

Os grãos de milho opaco-2 foram parcialmente desintegrados em liquidificador tipo industrial, marca SIRE e, posteriormente moídos em moinho de martelo, marca TECNAL. A farinha obtida foi armazenada em sacos plásticos hermeticamente fechados e mantidos em refrigerador.

3.2.4. Farinha de Peixe (segundo SALGADO & CHIEUS, 1988)

Foram utilizados peixes da espécie "cascudo" provenientes do comércio local. Os peixes foram descongelados ao ambiente, lavados com água corrente. Utilizou-se somente as partes ventrais dos peixes, sem espinha, sem nadadeiras. Posteriormente, foram cortados em pedaços de forma cúbica, com aproximadamente 1,5 cm de lado.

Os pedaços foram postos a macerar por 2 horas em álcool a 95 °GL. A proporção entre peixe e álcool foi de 1:1,5. Após a maceração foi feito o aquecimento (em panelas, utilizando-se tela de amianto). Após atingir a temperatura de 70 °C, manteve-se essa temperatura por 30 minutos. Depois desse aquecimento, os pedaços de peixe foram peneirados, e, em seguida prensados em prensa hidráulica modelo TE 098, tipo manual, para extrair cerca de 10% da gordura. A extração da gordura foi complementada, em aparelho soxhlet, tipo industrial, com N-hexano por 8 horas. Depois disso, os pedaços de peixe foram levados para estufa de circulação forçada com temperatura controlada a 55 °C por 16 horas.

Após a secagem o material foi moído em moinho de facas e armazenado em sacos plásticos hermeticamente fechados, no refrigerador.

3.2.5. Farinha de Castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*)

Para o preparo da farinha, utilizou-se 800 gramas de castanha do Pará, que foram moídas em liquidificador tipo industrial marca SIRE e, posteriormente submetidas à vapor d'água por uma hora e trinta minutos (para facilitar a extração do óleo).

Depois disso, os pedaços de castanha foram prensados em prensa hidráulica, modelo TE 098, tipo manual, para extração parcial do óleo. A torta obtida foi desengordurada em aparelho soxhlet, tipo industrial, com N-Hexano, por 8 horas. Depois, esse material desengordurado foi levado para estufa de circulação forçada com temperatura controlada a 55 °C por 16 horas. Após a secagem o material foi moído e a farinha armazenada em sacos plásticos hermeticamente fechados mantidos em refrigerador.

3.3. Análises Químicas

Foram feitas análises químicas na farinha de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina, de trigo,

farinha de peixe, farinha de milho opaco 2 e farinha de castanha do Pará, e, nas dietas preparadas para o ensaio biológico, de acordo com a metodologia indicada pela AOAC (1975) para proteína bruta (N * 6,25), cinza, fibra bruta, umidade, extrato etéreo. Os carboidratos foram obtidos por diferença.

O perfil de aminoácidos nas farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina e de trigo foi determinado em analisador automático (Beckman Aminoacid Analyser) usando as técnicas descritas para esse tipo de análise, realizada no Centro de Proteínas na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

O triptofano foi determinado pela hidrólise alcalina de HUGLI & MOORE (1972); a cisteína pelo procedimento do ácido cisteico de MOORE (1963) e a lisina pelo método de KAKADE & LIENER (1969). Comparando-se os valores obtidos com a proteína padrão da FAO (1981) foi obtido o escore de aminoácidos (EAA) conforme a fórmula abaixo:

$$EAA = \frac{\text{mg aminoácido da proteína testada}}{\text{mg aminoácido da proteína padrão FAO}} \times 100$$

Os minerais foram determinados nas farinhas de trigo sarraceno e de trigo pelo método de SARRUGE & HAAG (1975).

A atividade hemaglutinante foi determinada na farinha de trigo sarraceno de acordo com o método extraído de JUNQUEIRA & SGARBIERI (1981) e LIMA & SILVA (1970), utilizando-se para tal hemácias bovinas tripsinizadas.

O teor de tanino das amostras de farinha de trigo sarraceno e de trigo comum foi determinado pelo método de PRICE et alii (1978).

3.4. Complementação do Padrão de Aminoácidos

Com a finalidade de melhorar o valor nutricional da farinha de trigo sarraceno foi realizada a complementação do padrão de aminoácidos, com proteínas de alto teor nos aminoácidos lisina e metionina extraídos de alimentos permitidos a pacientes celíacos. Com base nisso, complementou-se a proteína do trigo sarraceno com a proteína da farinha de peixe, milho opaco-2 e castanha do Pará, seguindo o padrão de aminoácidos recomendado pela FAO (1981). Através do cálculo químico dos aminoácidos essenciais do trigo sarraceno, da farinha de peixe, de milho opaco-2 e da castanha do Pará, concluiu-se que o melhor escore foi conseguido, utilizando-se as seguintes misturas e proporções:

- 1.^a mistura $\left[\begin{array}{l} \text{farinha de trigo sarraceno (50\%)} \\ \text{farinha de peixe (45\%)} \\ \text{farinha de castanha do Pará (5\%);} \end{array} \right.$
- 2.^a mistura $\left[\begin{array}{l} \text{farinha de trigo sarraceno sem prolamina (50\%)} \\ \text{farinha de peixe (45\%)} \\ \text{farinha de castanha do Pará (5\%);} \end{array} \right.$
- 3.^a mistura $\left[\begin{array}{l} \text{farinha de trigo sarraceno (50\%)} \\ \text{farinha de milho opaco-2 (30\%)} \\ \text{farinha de peixe (20\%);} \end{array} \right.$
- 4.^a mistura $\left[\begin{array}{l} \text{farinha de trigo sarraceno sem prolamina (50\%)} \\ \text{farinha de milho opaco-2 (30\%)} \\ \text{farinha de peixe (20\%).} \end{array} \right.$

3.5. Ensaio Biológico

Foram utilizados no presente trabalho ratos machos (*Rattus norvergicus*), variedade *albinus*, linhagem Wistar obtidos de cruzamentos sucessivos no biotério do Setor de Nutrição Humana e Alimentos da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo. Os animais tinham de 21-23 dias de idade (recém-desmamados) com uma variação de peso até 5 gramas entre os grupos e entre os animais dentro do mesmo grupo. Cada grupo composto de 6 animais constituiu-se em um bloco no total de

7 blocos, no qual cada bloco recebeu um tratamento diferente, sendo um grupo de animais alimentados com dieta aprotéica e outro com dieta de caseína como padrão de comparação, como se detalha a seguir:

- Tratamento I: farinha de trigo sarraceno;
- Tratamento II: farinha de trigo sarraceno sem prolamina;
- Tratamento III: farinha de trigo sarraceno sem prolamina;
(50%) + farinha de peixe (45%) + farinha
de castanha-do-Pará (5%);
- Tratamento IV: farinha de trigo sarraceno sem prolamina;
(50%) + farinha de milho opaco-2 (30%) +
farinha de peixe (20%);
- Tratamento V: caseína;
- Tratamento VI: farinha de trigo sarraceno normal (50%) +
farinha de peixe (45%) + farinha de
castanha do Pará (5%);
- Tratamento VII: farinha de trigo sarraceno normal (50%) +
farinha de milho opaco-2 (30%) + farinha
de peixe (20%).

Os animais ficaram em gaiolas individuais e receberam água e alimentos "ad libitum", sendo o peso e o consumo dos alimentos registrados três vezes por semana durante 28 dias de duração do experimento. As fezes totais excretadas pelos ratos foram coletadas todos os dias do experimento, secas em estufa a 105°C durante 72 horas, moídas e pesadas. Uma amostra de cada grupo foi retirada para analisar o teor de nitrogênio, a fim de se calcular a digestibilidade. No 28.º dia do experimento, após jejum de 12 horas, todos os animais foram sacrificados. As cavidades abdominal, torácica e craniana foram abertas e secas em estufa a 105°C, até peso constante (aproximadamente 72 horas). As carcaças foram moídas e o nitrogênio foi determinado para o cálculo de NPU ("Net Protein Utilization").

O nitrogênio das fezes e das carcaças foi determinado pela técnica descrita pela AOAC (1975).

A formulação de todas as dietas foi feita de acordo com o estabelecido pela AOAC (1975), ou seja, ao nível de 10% de proteína, 8% de óleo de milho, 4% de mistura salina, 1% de mistura vitamínica e completada até 100% com amido de milho (maizena).

A fim de corrigir a proteína consumida e eliminada, incluiu-se uma dieta apteica, para cálculo da digestibilidade e NPU.

O ensaio biológico permitiu avaliar os seguintes parâmetros:

-Digestibilidade % (D%):

$$D\% = \frac{\left[\begin{array}{c} \text{proteína} \\ \text{consumida} \\ \text{em} \\ 24 \text{ horas} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{proteína} \\ \text{excretada} \\ \text{em} \\ 24 \text{ horas} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \text{proteína} \\ \text{excretada pelo grupo} \\ \text{aproteico em} \\ 24 \text{ horas} \end{array} \right]}{\text{Proteína consumida em 24 horas}} * 100$$

-Utilização Proteica Líquida (NPU):

O NPU foi calculado segundo o método de MILLER & BENDER (1955), usando-se os resultados do nitrogênio corporal obtido pela fórmula:

$$NPU = \frac{[Bf - (Bk + Ik)]}{If} * 100$$

onde:

NPU = Net Protein Utilization -
Utilização Proteica Líquida

Bf = nitrogênio da carcaça do grupo
experimental

If = nitrogênio ingerido

Bk = nitrogênio da carcaça do grupo
aproteico

Ik = nitrogênio ingerido pelo grupo
aproteico

-Valor Biológico (VB):

O valor biológico foi calculado pela relação entre NPU e digestibilidade, usando-se a seguinte fórmula:

$$VB = \frac{NPU}{D} * 100$$

-Razão de Eficiência Proteica (PER):

O PER (Protein Efficiency Ratio) foi calculado segundo o método descrito por OSBORNE et alii (1919).

$$PER = \frac{\text{ganho de peso em gramas}}{\text{proteína ingerida em gramas}}$$

-Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA):

$$CEA = \frac{\text{ganho de peso (em gramas)}}{\text{consumo de ração (em gramas)}}$$

3.6. Análise Estatística

Para análise dos dados obtidos do ensaio biológico aplicou-se a técnica da análise da variância, com utilização do teste F referente ao delineamento inteiramente casualizado adotado.

Para comparar as médias dos diferentes tratamentos empregados, aplicou-se o teste de Scheffé (GOMES, F.P. 1982) para os seguintes contrastes:

Contraste 1 = CAS vs Demais;

Contraste 2 = (TSSP + TSSPPC + TSSPMP) vs
(TSN + TSPC + TSMP)

Contraste 3 = TSN vs (TSPC + TSMP)

Contraste 4 = TSSP vs (TSSPPC + TSSPMP)

Contraste 5 = TSPC vs TSMP

Contraste 6 = TSSPPC vs TSSPMP

Contraste 7 = TSN vs TSSP

Contraste 8 = TSSPPC vs TSPC

Contraste 9 = TSSPMP vs TSMP

onde:

CAS = caseína;

TSSP = farinha de trigo sarraceno sem prolamina;

TSSPPC = farinha de trigo sarraceno sem prolamina
complementada com farinha de peixe e de castanha
do Pará;

TSSPMP = farinha de trigo sarraceno sem prolamina complementada com farinha de milho opaco-2 e de peixe;

TSN = farinha de trigo sarraceno normal;

TSPC = farinha de trigo sarraceno normal complementada com farinha de peixe e de castanha-do-Pará;

TSMP = farinha de trigo sarraceno normal complementada com farinha de milho opaco-2 e de peixe.

3.7. Eletroforese

Essa atividade foi desenvolvida na Seção de Biologia de Proteínas Vegetais do CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura). A separação eletroforética das frações proteicas do trigo comum e do trigo sarraceno foram realizadas utilizando-se:

Sistema dissociante - SDS - PAGE
(Poliacrilamida); de acordo com LAEMMLI (1970), com variações na concentração de acrilamida: 10 a 30% (gel/gradiente); 12%, 12,5% e 17%.

A finalidade do SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) foi a determinação do peso molecular dos polipeptídeos. Para isso, correu-se ao lado das amostras, proteínas padrões com pesos moleculares conhecidos.

Sistema ácido - Lactato de Sódio/Acrilamida:

(adaptação do método descrito por BARRIGA et alii, (1985), específico para gliadinas) cuja concentração em acrilamida foi de 6%.

3.7.1. Extração

Testou-se dois métodos para a extração da fração proteica solúvel em etanol do trigo comum e do trigo sarraceno: extração direta com etanol a 70% e extração fracionada. Na extração fracionada fez-se primeiramente 3 extrações (à temperatura ambiente, por uma hora em agitação) com solução salina (NaCl) a 10% sendo que após cada extração realizou-se a centrifugação em centrífuga refrigerada a 5°C (marca SORVALL SUPER SPEED) a 15000 rpm (rotor SS-34) por 30 minutos. Estas três extrações sucessivas com solução salina a 10% foram realizadas para retirar a fração globulina.

Posteriormente efetuou-se duas extrações com etanol a 70% na proporção de 1:4 (1g de farinha + 4 ml de etanol a 70%).

3.7.2. Concentração

Os extratos etanólicos (E.Bs) de trigo comum e de trigo sarraceno foram colocados em membranas para diálise em béquer com água e mantidos em câmara fria. Em seguida foram centrifugados em centrífuga refrigerada SORVALL a 15000 rpm (rotor SM-24) por 30 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o precipitado redissolvido com:

E.B. de trigo comum: 1,5 ml de SDS 2%;

E.B. de trigo sarraceno: 0,5 ml de SDS 2%

3.7.3. Dissociação

Os extratos (EBs) dialisados e centrifugados foram dissociados com SDS 2% e 2-mercaptoetanol (3 gotas). Os tubos foram colocados em bequer com água em ebulição por 10 minutos. Depois disso foram resfriados e acrescidos de glicerol 80% nas respectivas quantidades:

Para o EB de trigo comum: 350 μ l de glicerol 80%.

Para o EB de trigo sarraceno: 120 μ l de glicerol 80%.

3.7.4. Aplicação das amostras no gel SDS - 12% acrilamida

Como o gel apresenta 10 canaletas, pôde-se aplicar 8 amostras na seguinte sequência:

- Placa:
1. _____
 2. Trigo comum 20 μ l
 3. _____
 4. Trigo comum 10 μ l
 5. Mistura Padrão 10 μ l
 6. Trigo sarraceno 40 μ l
 7. Trigo sarraceno 70 μ l
 8. Trigo sarraceno 30 μ l
 9. Mistura Padrão 10 μ l
 10. _____

Foi adicionado 1 gota de solução azul de bromofenol (0,1%) na cuba para acompanhar a corrida eletroforética.

3.7.5. Condições da Corrida Eletroforética

No início uma corrente de 10 mA foi mantida, o que correspondeu a 20 Volt. Ao alcançar a interfase (o que pôde ser visualizado após um intervalo de aproximadamente 3 horas) mudou-se para 30 mA o que correspondeu a 159 Volt. No final da corrida (após 5 horas e 25 minutos aproximadamente do início) a corrente foi de 22

mA e a voltagem 220 volt. A corrida foi realizada em câmara fria.

3.7.6. Coloração e Descoloração

Depois de remover o gel das placas, este foi transferido para um recipiente de polietileno contendo solução de ácido tricloroacético (TCA) 10% onde permaneceu por 5 minutos para fixação das bandas. Posteriormente o gel foi colocado para coloração em solução de Comassie Blue 0,1% - R250 (200 mg C. Blue R-250, 80 ml metanol, 20 ml ácido acético e H₂O destilada para completar 200 ml).

A descoloração foi feita empregando-se solução de metanol + ácido acético em H₂O destilada (metanol 25 ml, ácido acético 7 ml e 68 ml H₂O).

3.8. Testes Reológicos

3.8.1. Determinação de Umidade

Inicialmente realizou-se a determinação de umidade das farinhas para se trabalhar com o mesmo peso seco. Esse teste foi feito rapidamente, utilizando-se a estufa CARTER SIMON - RAPID MOISTURE TESTER (SIMON PATENT) HENRY SIMON LTDA (segundo AACC, 1969).

Para estudar as propriedades reológicas (físicas) das farinhas de trigo sarraceno normal, de trigo sarraceno tratado com etanol 70% (sem prolamina) e de trigo comum foram utilizados os aparelhos: farinógrafo e amilógrafo. Esses testes são usados para avaliar as características das farinhas sob condições mecanizadas.

3.8.2. Propriedades das Farinhas no Farinógrafo (Segundo AACC, 1969)

O farinógrafo mede plasticidade e mobilidade da massa sujeita a uma prolongada ação misturadora à temperatura constante. A resistência oferecida pela massa à mistura é transmitida através de um dinamômetro à uma pena que traça uma curva em uma carta.

A prática geral, tem sido determinar, por curva de titulação com água, adicionada à farinha, a absorção padrão (geralmente a quantidade de água necessária para uma consistência ótima de 500 Unidades Brabender - arbitrariamente). A absorção aumenta quando a proteína aumenta e, a qualidade do glúten melhora. O farinógrafo tem sido mais utilizado na determinação da absorção de água e, os farinogramas também proporcionam informação do tempo ótimo de mistura e estabilidade da massa (POMERANZ, 1987).

Utilizou-se farinógrafo marca BRABENDER e as quantidades de farinhas empregadas foram: 50,7 gramas de farinha de trigo sarraceno; 44,44 gramas de farinha de trigo sarraceno sem prolamina e 49,03 gramas de farinha de trigo.

3.8.3. Determinação da Viscosidade (segundo AACC, 1969)

Utilizou-se o equipamento amilografo marca BRABENDER DUISBURG, que é um aparelho de torque que proporciona uma gravação automática contínua de mudanças na viscosidade do amido quando a temperatura é elevada a uma taxa constante de aproximadamente $1,5^{\circ}\text{C}$ por minuto. Dependendo da mudança da viscosidade da suspensão aquecida, um torque é gravado na escala arbitrária (0 a 1000 unidades Brabender). A viscosidade da pasta é geralmente gravada quando a temperatura aumenta de 30 a 95°C . As modificações do amilografo que permitem uma gravação das mudanças de viscosidade a elevação ou queda constante de temperatura ($1,5^{\circ}\text{C}$ por minuto) são úteis em estudos de características de gelatinização de vários amidos (POMERANZ, 1987).

3.9. Teste Imunológico

Foram distribuídas cerca de 300 gramas de farinha de trigo sarraceno para mães de pacientes diagnosticados como celíacos pelo Departamento de Gastroenterologia Pediátrica da Escola Paulista de Medicina. Essa farinha foi utilizada em preparações diárias como mingaus, sopas, leites, por um período de 30 dias. Após 30 dias, marcou-se o retorno para verificar se o paciente apresentava alguma manifestação clínica da doença, provocada pela ingestão da farinha de trigo sarraceno. Do total de 6 pacientes, apenas um retornou. Verificou-se que este paciente não apresentava manifestações clínicas da doença celíaca e que a farinha de trigo sarraceno havia sido bem aceita. Colheu-se o soro desse paciente para a realização do teste da imunofluorescência indireta (ROSENTHAL et alii, 1984).

3.9.1. Preparo dos antígenos

Os grãos de trigo (da variedade IAC-24) e de trigo sarraceno descorticados foram embebidos em solução de NaCl 0,15 M por 12 horas. Após esse tempo foram incluídos em Tissue Tek II (resina apropriada para inclusão e endurecimento do bloco) e cortados em fragmentos de 4 μ , em criostato a -20 °C. Os fragmentos foram colocados em

lâminas tipo perfecta e estocados em "freezer" a -18°C até a sua utilização.

3.9.2. Técnica da Imunofluorescência Indireta

Os soros do paciente celíaco e de um indivíduo normal foram diluídos em solução de NaCl 0,15 M em tampão fosfato 0,01 M pH 7,2 (PBS) em diluições seriadas a partir de 1:2 até 1:32. Em seguida, colocou-se 50 μl de cada diluição sobre cada corte de grão nas lâminas, e, estas foram incubadas em câmara úmida por 30 minutos à temperatura de 37°C . Depois, as lâminas foram lavadas com solução tampão salina fosfato duas vezes por 5 minutos, e, posteriormente secas. Colocou-se 50 μl de conjugado Imunoglobulina humana ligada à fluoresceína (da BIOLAB - MERIEUX, diluído 1:300 com azul de Evans) sobre cada corte nas lâminas e incubou-se em câmara úmida por 30 minutos a 37°C . Posteriormente lavou-se novamente as lâminas com solução tampão salina fosfato duas vezes por 10 minutos. As lâminas foram secas e montadas com glicerina e lamínulas. Realizou-se a leitura da intensidade fluorescente em microscópio com luz ultravioleta marca OLYMPUS modelo BH no aumento de 40 vezes.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Farinhas

A moagem dos grãos de trigo sarraceno proporcionou um rendimento médio em farinha de 56,5%. Essa porcentagem de extração pode ser considerada boa, estando próxima a alcançada no trabalho realizado por LEITÃO et alii (1977).

De acordo com ALMEIDA (1978), porcentagens de extração acima de 50% somente são alcançadas com o auxílio de máquinas especiais que moem o produto e separam as várias frações de farinha e farelo.

A farinha de milho opaco-2 apresentou um rendimento de 95% em relação ao grão antes da moagem.

A farinha de peixe desodorizada, obtida pela extração com álcool resultou em um produto quase sem odor e sabor, porém, o seu rendimento em relação ao peso líquido dos peixes foi de 17,5%. Apesar do baixo rendimento, a sua produção é viável economicamente, pois utiliza o etanol como solvente, e, pode ser elaborada a partir de espécies de pescado de baixo valor comercial.

A farinha de castanha do Pará obtida por prensagem e extração com hexano, apresentou um rendimento de 53%.

4.2. Análises Químicas

4.2.1. Análises Bromatológicas

Os resultados das análises bromatológicas das farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina, farinha de trigo comum, farinha de peixe, farinha de milho opaco-2 e da farinha de castanha do Pará estão apresentados na tabela 07:

Tabela 07 - Composição química das farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina, de trigo, de milho opaco-2, de peixe e de castanha-do-Pará.

Farinhas	* Umidade (%)	** Proteína (%)	* Extrato etéreo (%)	* Cinzas (%)	* Fibra (%)	* Carbo- idratos (%)
Farinha de trigo sarraceno	10,1	9,7	0,78	3,0	0,62	75,80
Farinha de trigo sarraceno sem prolamina	10,4	8,4	0,83	3,1	0,61	76,66
Farinha de trigo	10,9	14,0	0,91	2,4	0,64	71,15
Farinha de milho opaco-2	7,3	12,6	0,75	2,9	0,12	76,33
Farinha de peixe	7,0	79,6	2,2	4,9	0,45	5,85
Farinha de castanha do Pará	6,2	26,6	42,3	6,9	0,18	17,82

* média de 3 repetições

** [proteína determinada pelo método de Kjeldahl (N*6,25)
também média de 3 repetições

Analisando-se a tabela 07 verifica-se que o maior teor proteico foi encontrado para a farinha de peixe (79,6%), que é valiosa não apenas pela quantidade, mas também pela boa qualidade de sua proteína que apresenta um elevado teor em aminoácidos essenciais, particularmente a lisina (SALGADO & CHIEUS, 1988).

Os resultados encontrados no presente trabalho para a farinha de peixe foram semelhantes aos encontrados por SALGADO & CHIEUS (1988) em termos de umidade (7,1%), proteína (76,8%), extrato etéreo (2,9%), cinzas

(3,6%) e fibra (0,4%) o que pode ser justificado pelo emprego da mesma variedade de peixe ("cascudo") e da mesma tecnologia para a elaboração da farinha.

Observou-se que em relação à farinha de castanha do Pará o teor proteico encontrado no presente trabalho (26,6%) foi inferior ao teor de 46,21% encontrado por ZUCAS et alii (1975), porém, superior ao valor de 14,8% apresentado na tabela padrão de aminoácidos da FAO (1981).

Em relação à farinha de milho opaco-2 a porcentagem de proteína encontrada em nosso trabalho (12,6%) foi ligeiramente superior aos valores citados por BRESSANI et alii (1969), para o milho opaco-2 cru (10,25%) e por MERTZ et alii (1965) (10,56% de proteína).

Verificou-se que o teor de proteína encontrado para a farinha de trigo sarraceno no presente trabalho, está praticamente igual aos resultados relatados por Kreft & Javornik⁷ (1979), citados por POMERANZ, Y. (1983), que, analisando algumas variedades de trigo sarraceno de vários países concluíram que o conteúdo em nitrogênio era similar em todas as amostras estudadas. Os valores encontrados foram 1,67 a 1,96 gramas de Nitrogênio que correspondem a 10,4 a 12,2% de proteína. Entretanto,

⁷KREFT, E. & JAVORNIK, B. Buckwheat as a potential source of high-quality protein. In: _____. Seed protein improvement in Cereals and grain legumes. s.l., s.ed, 1979. v.2, p.377.

PRAKASH et alii (1987) encontrou um valor de 9,2% de proteína para a variedade *Fagopyrum esculentum*.

Os dados apresentados por TAIRA (1974) para a farinha clara de trigo sarraceno foram: umidade (12,1%), proteína (7,8%), gordura (1,5%), fibra (0,7%) e cinzas (1,2%) que diferem daqueles apresentados no presente trabalho provavelmente devido a diferenças entre cultivares e tratos culturais.

As dietas experimentais empregadas no ensaio biológico também foram analisadas quanto à sua composição química. Na tabela 08, observa-se a composição química dos tratamentos empregados para o ensaio biológico.

Tabela 08 - Composição química das dietas experimentais para o ensaio biológico ao nível de 10% de proteína.

Dietas ** Experimentais	Umidade (%)	Proteína (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)	Fibra (%)	Carbo- idrato (%)
Tratamento I	10,8	9,9	7,9	6,4	0,76	64,24
Tratamento II	10,9	10,1	8,0	4,0	1,00	66,00
Tratamento III	7,9	10,0	8,1	5,1	0,90	68,00
Tratamento IV	8,0	10,2	8,0	5,1	1,10	67,60
Tratamento V	6,1	10,0	7,9	3,9	-	72,10
Tratamento VI	7,6	10,1	8,1	4,7	0,87	68,63
Tratamento VII	7,7	9,9	8,2	4,4	0,90	68,90

* Calculados por diferença

** [Tratamentos descritos no item 3.5. da metodologia
desse trabalho

4.2.2. Análise do perfil de aminoácidos

O perfil de aminoácidos das farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina, comparados com o padrão da FAO (1981) pode ser observado na tabela 09.

Tabela 09 - Comparação do conteúdo de aminoácidos essenciais das farinhas de trigo sarraceno e de trigo sarraceno sem prolamina com a proteína padrão da FAO/81.

AMINO- ACIDOS *	FAO/81	FARINHA DE TRIGO SARRA- CENO	ESCORE QUIMICO (%)	FARINHA DE TRIGO SARRA- CENO SEM PROLAMINA	ESCORE QUIMICO (%)
LISINA	55	40,96	74,47	39,96	72,75
TRIPTOFANO	10	13,22	132,20	14,49	144,90
TREONINA	40	29,30	73,25	34,57	86,42
VALINA	40	36,07	90,18	41,44	103,60
METIONINA+					
CISTINA	30	18,59	61,96	17,96	59,87
ISOLEUCINA	30	25,59	85,3	27,93	93,10
LEUCINA	65	52,52	80,8	57,36	88,25
TIROSINA+					
FENILA- LANINA	50	54,29	108,58	56,54	113,08

* mg de aminoácido/g de proteína

Analisando a tabela 09 observa-se que quando comparamos os valores obtidos no aminograma com a composição em aminoácidos da proteína padrão da FAO/81, a farinha de trigo sarraceno apresenta a metionina + cistina como os primeiros aminoácidos limitantes (escore 61,96%), seguido da treonina (escore 73,25%). Esses resultados diferem daqueles citados por POMERANZ & ROBBINS (1972) que encontraram como

primeiro aminoácido limitante da farinha de trigo sarraceno a isoleucina, seguida dos aromáticos tirosina e fenilalanina. Porém, de acordo com TAIRA (1974) análises da composição em aminoácidos do trigo sarraceno mostram que este é rico em lisina e pobre em metionina quando comparado com os cereais.

Comparando-se o perfil de aminoácidos do trigo sarraceno com o do trigo comum, observa-se a superioridade do trigo sarraceno conforme dados da tabela 10.

Tabela 10 - Comparação do conteúdo de aminoácidos essenciais das farinhas de trigo sarraceno e de trigo comum com a proteína padrão da FAO/81.

AMINO- ÁCIDOS *	FAO/81	FARINHA DE TRIGO SARRA- CENO	ESCORE (%)	FARINHA DE - TRIGO	ESCORE (%)
LISINA	55	40,96	74,47	14,70	26,72
TRIPTOFANO	10	13,22	132,20	10,95	109,50
TREONINA	40	29,30	73,25	22,36	55,90
VALINA	40	36,07	90,18	32,46	81,15
METIONINA+					
CISTINA	30	18,59	61,96	18,97	63,23
ISOLEUCINA	30	25,59	85,3	26,32	87,73
LEUCINA	65	52,52	80,8	46,90	70,90
TIROSINA+					
FENILA- LANINA	50	54,29	108,58	60,86	121,72

* mg de aminoácido/g de proteína

Por essa tabela observa-se por comparação do perfil de aminoácidos do trigo comum com o padrão da FAO/81 que a lisina é o primeiro aminoácido limitante apresentando um escore de 26,72%.

Através da comparação com o trigo comum verificou-se que apesar da proteína do trigo sarraceno ser deficiente no aminoácido lisina (escore 74,47%), o seu teor ainda é maior do que o encontrado para o trigo comum (escore 26,72%).

O escore químico da proteína do trigo sarraceno sugere sua possível complementação com a proteína de cereais, o que é confirmado por POMERANZ et alii 1975, ou seja que as proteínas do trigo sarraceno são ricas em lisina e contém menos ácido glutâmico do que as proteínas de cereais. Como o ácido glutâmico, aminoácido não essencial, é o principal componente das proteínas de reserva nos cereais e a lisina é o aminoácido essencial limitante de várias espécies de cereais, as proteínas do trigo sarraceno são excelentes para complementação do padrão aminoacídico das proteínas de cereais.

4.2.3. Determinação de Minerais

Os minerais presentes na farinha de trigo sarraceno e na farinha de trigo comum são apresentados na tabela 11.

Tabela 11 - Composição em minerais das farinhas de trigo e de trigo sarraceno.

Elemento	Farinha de Trigo	Farinha de trigo sarraceno
P(%)	0,19	0,10
K(%)	0,15	0,15
Ca(%)	0,001	0,001
Mg(%)	0,03	0,09
Cu(ppm)	3,90	8,1
Fe(ppm)	38,0	67,0
Mn(ppm)	6,0	5,0
Zn(ppm)	35,0	34,0

Esses resultados demonstram que a farinha de trigo sarraceno é superior à farinha de trigo para os minerais: magnésio, cobre, ferro sendo superada apenas para o fósforo.

4.2.4. Determinação de Fatores Antinutricionais

A metodologia empregada para a determinação da atividade hemaglutinante na farinha de trigo sarraceno demonstrou que esta não contém tal fator antinutricional. Ao definir o título hemaglutinante como sendo a maior diluição capaz de promover aglutinação das hemácias, verificou-se que para todas as repetições o título foi zero. Quanto à determinação do teor de tanino (medido como mEq de catequina) esta apresentou os seguintes resultados: 0,00093% para o trigo e 0,00090% para o trigo sarraceno. Esses valores podem ser considerados desprezíveis.

4.3. Complementação do padrão de aminoácidos

O baixo teor em aminoácidos sulfurados (metionina + cistina) no trigo sarraceno pode criar um desequilíbrio desses aminoácidos. Portanto, dietas contendo trigo sarraceno tem que ser fortificadas com outras fontes proteicas para cobrir as necessidades totais de proteína dietética. É largamente aceito que a qualidade da proteína animal é melhor do que a proteína de origem vegetal. As proteínas de origem animal tem um conteúdo maior de lisina, metionina e cistina e tem um efeito complementar positivo na qualidade proteica de dietas à base de cereais segundo PRAKASH et alii (1987). Portanto realizou-se a complementação da farinha de trigo sarraceno com farinha de peixe, farinha de castanha-do-Pará, e, farinha de milho opaco-2, uma vez que a maioria dos cereais não são alimentos permitidos para pacientes celíacos. O cálculo químico obtido para a 1.^a mistura pode ser observado na tabela 12.

Tabela 12 - Cálculo químico da 1.^a mistura.

aas Essenciais	Mate- rial	Far. trigo sarraceno (50%)	Far. Peixe (45%)	Far. castanha (5%)	Total mg aac g proteína	Escore químico (%)
Lisina		20,48	32,83	0,89	54,20	98,55
Triptofano		6,61	-	0,60	7,21	-
Treonina		14,65	17,98	0,83	33,46	83,65
Valina		18,04	21,57	1,37	40,98	102,45
Met, + Cist.		9,30	16,83	2,52	28,64	95,47
Isoleucina		12,80	18,24	0,89	31,93	106,44
Leucina		26,26	30,66	2,19	59,11	90,44
Tir. + Fen.		27,14	29,44	2,10	58,68	117,37

O cômputo químico obtido para a 2.^a mistura pode ser observado na tabela 13.

Tabela 13 - Cômputo químico da 2.^a mistura.

aas Essenciais	Material Far. trigo sarraceno sem prola- mina (50%)	Far. Peixe (45%)	Far. castanha (5%)	Total mg aac g pro- teína	Escore químico (%)
Lisina	19,98	32,83	0,89	53,70	97,64
Triptofano	7,25	-	0,60	7,85	-
Treonina	17,29	17,98	0,83	36,10	90,24
Valina	20,72	21,57	1,37	43,66	109,16
Met. + Cist.	8,98	16,83	2,52	28,33	94,42
Isoleucina	13,97	18,24	0,89	33,10	110,34
Leucina	26,68	30,66	2,19	61,53	94,66
Tir. + Fen.	28,27	29,44	2,10	59,81	119,62

O cômputo químico obtido para a 3.^a mistura está apresentado na tabela 14.

Tabela 14 - Cômputo químico da 3.^a mistura.

aas Essenciais	Material Far. trigo sarraceno (50%)	Far. milho opa- co-2 (30%)	Far. peixe (20%)	Total mg aac g pro- teína	Escore químico (%)
Lisina	20,48	12,54	14,59	47,61	86,57
Triptofano	6,61	2,52	-	-	-
Treonina	14,65	11,13	7,99	33,77	84,42
Valina	18,04	11,76	9,58	39,38	98,46
Met. + Cist.	9,29	8,10	7,47	24,87	82,91
Isoleucina	12,79	7,38	8,11	28,28	94,28
Leucina	26,26	23,76	13,63	63,65	97,92
Tir. + Fen.	27,15	19,83	13,08	60,06	120,12

Tabela 15 - Cômputo químico da 4.^a mistura.

aas Essenciais	Material	Far. trigo	Far. milho	Far. peixe	Total	Escore
	sar.s/prol.	opa- co-2	(50%)	(30%)	(20%)	mg aac g pro- teína
Lisina	19,98	12,54	14,59	47,11	85,66	
Triptofano	7,25	2,52	-	-	-	
Treonina	17,29	11,13	7,99	36,40	91,00	
Valina	20,72	11,76	9,58	42,07	105,17	
Met. + Cist.	8,98	8,10	7,47	24,56	81,86	
Isoleucina	13,97	7,38	8,11	29,45	98,16	
Leucina	28,68	23,76	13,63	66,06	101,64	
Tir. + Fen.	28,27	19,83	13,08	61,18	122,36	

4.4. Ensaio Biológico

O ensaio biológico com ratos albinos foi realizado para avaliação nutricional das farinhas: TSN: de trigo sarraceno normal; TSSP: de trigo sarraceno sem prolamina, complementadas e sem complementação; e, da caseína como padrão.

A partir dos resultados obtidos no ensaio biológico, calculou-se os parâmetros apresentados na tabela 16. Os dados obtidos na análise estatística estão dispostos no apêndice.

Tabela 16 - Resultados de digestibilidade (D), utilização proteica líquida (NPU), valor biológico (VB) razão de eficiência proteica (PER) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) para as dietas experimentais e controle.

DIETAS EXPERIMENTAIS*	D(%)	NPU(%)	VB(%)	PER	CEA
TRATAMENTO I	85,37	49,32	57,75	2,36	0,24
TRATEMENTO II	89,17	48,18	54,04	2,20	0,22
TRATAMENTO III	88,72	60,93	68,67	2,93	0,29
TRATAMENTO IV	86,96	50,36	57,88	2,26	0,24
TRATAMENTO V	92,36	69,06	74,75	2,79	0,27
TRATAMENTO VI	87,86	55,38	63,02	2,85	0,28
TRATAMENTO VII	82,66	59,36	71,84	2,54	0,24

* média de 6 repetições

Destes parâmetros, verificou-se que para a variável digestibilidade o contraste 1, caseína vs demais é altamente significativo (a nível de 1% de probabilidade) ou seja, mostrando que a dieta padrão de caseína apresentou um valor para a digestibilidade (92,36%) que superou os valores encontrados nos demais tratamentos. O contraste 2 (TSSP + TSSPPC + TSSPMP) vs (TSN + TSPC + TSMP) também foi altamente significativo, portanto, indicando que as farinhas pertencentes ao grupo trigo sarraceno sem prolamina complementadas e sem complementação apresentaram melhores resultados para digestibilidade do que as farinhas pertencentes ao grupo do trigo sarraceno normal (complementadas e sem complementação). O contraste 3, o qual comparou TSN vs (TSPC + TSMP) não apresentou resultado significativo, ou seja, o valor encontrado para

digestibilidade quando se utilizou a farinha de trigo sarraceno normal (85,37%) não diferiu significativamente dos valores encontrados quando empregou-se as farinhas de trigo sarraceno complementadas com farinha de peixe e castanha do Pará e farinha de trigo sarraceno complementada com farinha de milho opaco-2 e de peixe (87,86% + 82,66%, respectivamente). Apesar de não se constatar diferença significativa para esse contraste, as farinhas de trigo sarraceno que foram complementadas (TSPC e TSMP) apresentaram uma composição em aminoácidos essenciais equilibrada em relação ao padrão de aminoácidos da FAO/1981. Entretanto a farinha de trigo sarraceno sem complementação apresentou-se deficiente em relação aos aminoácidos metionina + cistina (sulfurados), lisina e treonina. O contraste 4 que comparou TSSP vs (TSSPPC + TSSPMP) não foi significativo, indicando que o resultado alcançado para digestibilidade quando utilizou-se farinha de trigo sarraceno sem prolamina (89,17%) não diferiu dos resultados alcançados quando empregou-se as farinhas: de trigo sarraceno sem prolamina complementada com farinha de peixe e de castanha e farinha de trigo sarraceno sem prolamina complementada com milho opaco-2 e peixe (88,72% + 86,96% respectivamente). Apesar desses resultados, observou-se que as farinhas complementadas apresentaram um perfil em aminoácidos essenciais equilibrado com relação ao padrão de aminoácidos da FAO/1981, e, que a farinha de trigo sarraceno

sem complementação apresentou-se deficiente nos aminoácidos: metionina + cistina (sulfurados), treonina e lisina. O contraste 5 (TSPC vs TSMP) foi altamente significativo, indicando que a farinha de trigo sarraceno complementada com farinha de peixe e de castanha do Pará foi superior a farinha de trigo sarraceno complementada com milho opaco-2 e peixe (87,86% e 82,66% respectivamente). Portanto, a complementação com farinha de peixe e de castanha do Pará foi superior para o parâmetro digestibilidade.

O contraste 6 que comparou os tratamentos TSSPPC vs TSSPMP não apresentou diferença significativa indicando que os dois tipos de complementação da farinha de trigo sarraceno sem prolamina (peixe + castanha e milho opaco-2 + peixe) produzem, em relação ao parâmetro digestibilidade, o mesmo efeito.

O contraste 7 (TSN vs TSSP) foi altamente significativo, indicando que o valor alcançado para a digestibilidade com a utilização da farinha de trigo sarraceno sem prolamina (89,17%) superou o resultado obtido com o emprego da farinha de trigo sarraceno normal (85,37%).

O contraste 8 (TSSPPC vs TSPC) não foi significativo, concluindo-se portanto, que essas farinhas não diferem entre si para a variável digestibilidade (88,72% e 87,86% respectivamente).

O contraste 9 (TSSPMP vs TSMP) foi altamente significativo. Conclui-se que a farinha de trigo sarraceno sem prolamina complementada com milho opaco-2 e peixe apresentou resultado que superou o encontrado para a farinha de trigo sarraceno complementada com milho opaco-2 e peixe (86,96% e 82,66% respectivamente).

A utilização proteica líquida (NPU) encontrada para a dieta padrão de caseína (69,06%) superou os demais tratamentos, ou seja, foi maior para a caseína do que para qualquer outro tratamento empregado. Os demais contrastes não apresentaram diferenças significativas para esse parâmetro, e, portanto, essas farinhas comparadas não diferiram entre si.

Em relação ao parâmetro valor biológico (VB) verificou-se que apenas o contraste 1, que confronta a caseína com os demais tratamentos foi significativo, indicando que o valor encontrado para a dieta padrão caseína (74,75%) superou os demais. Não se constatou significância para os demais contrastes, indicando que não houve um tratamento que superasse os demais para o valor biológico (VB).

Observou-se para a razão de eficiência proteica (PER) que o contraste 6 (TSSPPC vs TSSPMP) foi altamente significativo enquanto que para os demais contrastes não se constatou significância. Esses resultados mostram que a farinha de trigo sarraceno sem

prolamina complementada com farinha de peixe e castanha do Pará apresenta um valor para PER (2,93) que supera o encontrado para a farinha de trigo sarraceno sem prolamina complementada com milho opaco-2 e peixe (2,26). Portanto, a melhor complementação foi com farinha de peixe e castanha do Pará.

Não se constatou diferença significativa entre os valores de PER das farinhas de trigo sarraceno sem prolamina complementada com farinha de peixe e de castanha do Pará (2,93) e, de trigo sarraceno normal complementada com farinha de peixe e de castanha do Pará (2,85).

Em relação ao coeficiente de eficiência alimentar (CEA) pode-se observar pelo contraste 6, quando se comparou as farinhas TSSPPC com TSSPMP houve significância estatística. A farinha de trigo sarraceno sem prolamina complementada com farinha de peixe + de castanha do Pará apresentou um valor para o CEA (0,29) que superou o valor encontrado para a farinha de trigo sarraceno sem prolamina complementada com milho opaco-2 e peixe (0,24). Portanto, a complementação com farinha de peixe e de castanha do Pará foi melhor do que com milho opaco-2 e peixe, para o parâmetro CEA.

Os animais alimentados com a dieta padrão de caseína apresentaram um ganho total em peso de 93,32 gramas que não superou os demais tratamentos. Para o ganho em peso não houve um tratamento que superasse os demais, ou seja, as

farinhas contrastadas não diferiram entre si para esse parâmetro analisado.

Figura 1. Peso semanal dos animais (referente a cada tratamento) no ensaio biológico ao nível de 10% de proteína.

Figura 2. Peso total dos animais (referente a cada tratamento em 28 dias) adquirido durante o ensaio biológico ao nível de 10% de proteína.

4.5. Eletroforese

O padrão de bandas dos extratos etanólicos do trigo sarraceno (direto e indireto), do trigo comum e da mistura proteica padrão de peso molecular conhecido, obtidos com géis SDS-12% em acrilamida podem ser observados na figura 3:

Figura 3. Padrão de bandas dos extratos etanólicos do trigo sarraceno e do trigo comum em comparação com a mistura padrão.

Mistura Padrão:

	Peso Molecular
* 1)Aldolase	160.000
2)Albumina bovina	67.000
3)Albumina ovo	45.000
4)Pepsina	34.700
5)Quimotripsinogênio	25.000
6)Mioglobina (Cavalo)	17.800
7)Citocromo C	12.500

* A aldolase não entrou no gel a 12% que abrange pesos moleculares de 100.000 a 15.000.

Pelos resultados obtidos, verificou-se que a composição polipeptídica não é idêntica quando se faz a extração de forma direta e indireta do trigo sarraceno, não se conseguindo uma prolamina pura. Mesmo assim, esta fração proteica apresentou um padrão de bandas diferentes daquelas encontradas para a fração proteica (prolamina), do trigo comum.

No presente trabalho verificou-se que a fração proteica solúvel em etanol do trigo sarraceno (fração prolamina) não conseguiu entrar em géis de lactato de sódio- sistema ácido (pH 3,1), enquanto que a referida fração do trigo comum apresentou um nítido padrão de bandas. Esse fato é confirmado pelo trabalho de SKERRIT (1986) que comparando eletroforeticamente os extratos

alcoólicos do trigo comum e do trigo sarraceno constatou que a fração proteica solúvel em etanol do trigo sarraceno correu difusamente e uma substancial proporção falhou em entrar no gel mesmo em um gel a 3% de acrilamida. Observou ainda que as proporções de proteínas solúveis em solução salina e em álcool do trigo e do trigo sarraceno diferiram significativamente sendo que a fração proteica solúvel em etanol do trigo sarraceno representou a menor porção das proteínas do seu endosperma. Esse fato também foi observado por TAHIR & FAROOQ (1985) que realizando análise quantitativa das várias frações proteicas verificaram que os grãos da espécie sarraceno ("buckwheat") geralmente contém um baixo conteúdo de prolamina e um elevado teor de albuminas + globulinas o que os difere dos cereais que contém prolaminas como sua principal fração proteica. Justifica-se então a necessidade de se concentrar o extrato etanólico de trigo sarraceno antes da aplicação no gel.

Em nossa pesquisa, verificou-se a existência de algumas bandas com peso molecular abaixo de 30.000 no extrato alcoólico de trigo comum, fato que não foi considerado no trabalho realizado por SKERRIT (1986).

Através da comparação do padrão de bandas do trigo sarraceno com o padrão de bandas da mistura padrão de pesos moleculares conhecidos, constatou-se que no trigo sarraceno houve uma concentração de bandas na faixa que abrange pesos moleculares abaixo de 25.000. Para o trigo

comum, que apesar de apresentar algumas bandas com baixo peso molecular, apresentou uma maior concentração de bandas na faixa de peso molecular acima de 30.000.

4.6. Testes Reológicos

4.6.1. Determinação de Umidade

Os resultados obtidos pela determinação de umidade nas farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina e de trigo comum estão dispostos na tabela 17:

Tabela 17 - Determinação de umidade nas farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina e de trigo.

AMOSTRA	% DE UMIDADE *
Farinha de trigo sarraceno	15,2
Farinha de trigo sarraceno sem prolamina	7,4
Farinha de trigo	12,3

* Valores médios de 3 repetições

4.6.2. Propriedades das Farinhas no Farinógrafo

Realizou-se várias tentativas para se obter um farinograma da farinha de trigo sarraceno com e sem a fração prolamina.

Esse teste tem por finalidade fornecer o índice de absorção de água de uma farinha bem como seu tempo de desenvolvimento e estabilidade. Esses dois últimos fatores estão em função primordial da existência do glúten nas farinhas. Pelo fato da farinha de trigo sarraceno com e sem prolamina não apresentar glúten em sua constituição, não nos foi possível obter o gráfico do farinograma.

Deve-se ressaltar que em um dos testes tentou-se a obtenção de um farinograma fazendo com que o índice de absorção de água fosse 29,1%, conseguiu-se chegar até 300 UF no farinograma quando o aparelho foi padronizado para 500 UF. Esse fato vem confirmar a não existência de glúten na farinha de trigo sarraceno conforme já citado anteriormente.

Como não obtivemos farinogramas para as farinhas de trigo sarraceno, não consideramos o farinograma do trigo comum.

4.6.3. Determinação da Viscosidade

Os valores obtidos da análise de viscosidade são apresentados na tabela 18.

Tabela 18 - Determinação de viscosidade das farinhas de trigo sarraceno, de trigo sarraceno sem prolamina e de trigo.

PARAMETROS	FARINHA DE TRIGO SARRACENO	FARINHA DE TRIGO SARRACENO SEM PROLAMINA	FARINHA DE TRIGO
TEMPERATURA INICIAL (°C)	30,0	30,0	30,0
TEMPO DE GELATINIZAÇÃO (MIN.)	23,7	22,5	25,0
TEMPERATURA INICIAL DE GELATINIZAÇÃO (°C)	65,6	63,75	68,25
VISCOSIDADE A 90°C (V.A.)	470,0	415,0	145,0
VISCOSIDADE APÓS 20' A 90°C (V.A.)	910,0	750,0	285,0
VISCOSIDADE A 50°C (V.A.) (ciclo de resfriamento)	1075,0	1200,0	465,0

* média de 2 repetições
VA = Unidades Amilográficas

4.7. Teste Imunológico

Os resultados do teste imunológico após realização da leitura em microscópio com luz ultravioleta por 4 indivíduos diferentes podem ser observados na figura 4.

TRIGO COMUM:

SORO PACIENTE				SORO CONTROLE			
+	1:2	+	1:4	+	1:2	+	1:4
○		+	1:8	○		+	1:8
-		○		-		○	
○	1:32	○	1:16	○	1:32	○	1:16

TRIGO SARRACENO:

SORO PACIENTE				SORO CONTROLE			
-	1:2	-	1:4	-	1:2	-	1:4
○		-	1:8	○		-	1:8
-		○		-		○	
○	1:32	○	1:16	○	1:32	○	1:16

Observação: a intensidade fluorescente aparece em coloração verde e o fundo fica corado em rosa.

Figura 4. Reatividade dos soros controle e paciente incubados com seções criostáticas de grãos de trigo comum e de trigo sarraceno.

4.7.1. Soro Paciente

Pelos resultados pode-se verificar que para o trigo comum houve uma positividade para as diluições do soro de 1:2 até 1:8. Essa positividade indica que há anticorpos anti-gliadina no soro desse paciente que está se ligando ao antígeno presente no trigo comum (que é a proteína gliadina). Porém, essa reação positiva até a diluição 1:8 revela a presença de anticorpos anti-gliadina em baixas concentrações no soro desse paciente, fato que pode ser confirmado pois esse indivíduo, pelo menos teoricamente, uma vez que ele estava se mantendo em dieta livre de glúten. Em relação ao trigo sarraceno, pode-se observar que não houve fluorescência (resultados negativos para todas as diluições testadas), o que revela que esse paciente, após ter ingerido a farinha de trigo sarraceno por 30 dias, não desenvolveu anticorpos contra proteínas desse grão (antigenicidade negativa). Esse resultado confirma portanto, o que já havia sido observado anteriormente para esse paciente, ou seja: que o trigo sarraceno não apresenta toxidez para o indivíduo celíaco, não havendo manifestações clínicas da doença após a sua ingestão e, nem mesmo formação de anticorpos anti-proteínas desse grão para o período de tempo testado.

4.7.2. Soro controle

Verificou-se que para o trigo comum, o soro controle (não celíaco) apresentou positividade para as diluições de soro 1:2 até 1:8, da mesma forma que o paciente celíaco. Isso pode ser explicado pois para diluições abaixo de 1:10 essa técnica não é usada para critério de diagnóstico.

Utilizou-se diluições abaixo de 1:10 para se detectar as diferenças na reatividade com o trigo comum e com o trigo sarraceno. Essa diferença entre o trigo comum e o trigo sarraceno pode ser observada inclusive para o soro controle, que, para o trigo sarraceno não apresentou reação positiva. Portanto, esses resultados, mesmo com o soro do paciente controle vêm confirmar que o trigo comum apresenta antigenicidade positiva enquanto que o trigo sarraceno não apresenta essa capacidade de levar o indivíduo a produzir anticorpos contra sua(s) proteína(s).

De acordo com ROSENTHAL et alii (1984), a determinação de anticorpos antigliadina por métodos de fixação de complemento, imunodifusão ou hemaglutinação são insuficientes para requerimentos clínicos desde que eles não são sensíveis o suficiente para se detectar pequenas quantidades de anticorpos. A recente técnica de imunofluorescência, entretanto, sendo mais específica e

sensível, mostra uma melhor correlação entre títulos anti-glúten e anormalidades jejunais.

5. CONCLUSÕES

Da presente pesquisa são apresentadas as seguintes conclusões:

- A farinha de trigo sarraceno apresenta a metionina + cistina como primeiro aminoácido limitante (escore 61,96%), seguido do aminoácido treonina (escore 73,25%);

- A farinha de trigo sarraceno apesar de apresentar a lisina como aminoácido limitante, o seu teor (escore 74,47%), ainda é maior do que o encontrado para o trigo comum (escore 26,72%);

- A farinha de trigo sarraceno é superior à farinha de trigo comum para os minerais ferro, cobre e magnésio;

- A farinha de trigo sarraceno não apresenta atividade hemaglutinante e o teor de tanino é desprezível;

- A proteína da farinha de trigo sarraceno responde positivamente à complementação com proteína de peixe e de castanha do Pará;

- As farinhas de trigo sarraceno sem prolamina complementadas ou não apresentaram melhores resultados para a digestibilidade em comparação ao trigo sarraceno normal;

- A eletroforese revela que a fração solúvel em etanol (prolamina) do trigo sarraceno difere amplamente da referida fração do trigo comum;

- Os testes reológicos indicam que a farinha de trigo sarraceno não contém glúten, apresentando elevado teor em amido que não é degradado pela ação mecânica.

- O teste imunológico demonstra que o trigo sarraceno não apresenta prolaminas tóxicas aos pacientes celíacos, viabilizando a sua utilização em dietas livres de glúten.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.S. de. Cultura do trigo sarraceno. Revista Paranaense de Desenvolvimento, Curitiba, 62: 69-86, jan./mar. 1978.

AMERICAN ASSOCIATION CEREAL CHEMISTS. Approved methods of AACC. 7.ed. St. Paul, AACC, 1969. 2v.

ANDERSON, C.M. & BURKE, V. Paediatric gastroenterology. Oxford, Blackwell Scientific, 1975.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTS. Official methods of analysis association of official agriculture chemists. 12.ed. Washington, AOAC, 1975. 1018p.

BALDO, B.A. & WRIGLEY, C.W. Allergies to cereals. Advances in Cereal Science and Technology, St. Paul, 6: 342-56, 1984.

BARRIGA, P.B.; GONZÁLEZ, J.A.; MANSILLA, R.T.; MANQUIÁN, N.T. Catálogos de fórmulas de electroforegramas de trigos cultivados en Chile. Agro Sur, Valdivia, 13(1): 13-23, 1985.

V

BRESSANI, R.; ELIAS, L.G.; GÓMEZ-BRENES, R.A. Protein quality of opaque-2 corn evaluation in rats. Journal of Nutrition, Bethesda, 97(2): 173-80, 1969.

CAMPBELL, J.A. Diet therapy of celiac disease and dermatites herpetiformis. World Review of Nutrition and Dietetics, Basel, 51: 189-233, 1987.

CERVETTO, J.L. Doença celíaca. In: PENNA, F.J.; WHEBA, J.; FAGUNDES NETO, V. Gastroenterologia pediátrica. São Paulo, Medsi, 1983. cap. 27, p. 198-208.

COLE, S.G. & KAGNOFF, M.F. Celiac disease. Annual Review of Nutrition, Palo Alto, 5: 241-66, 1985.

DARIO, G.J.A. & DARIO, P.W. Aspectos técnicos-econômicos de dez culturas de inverno conduzidas na ESALQ/USP. Piracicaba, ESALQ/Departamento de Agricultura, 1990. 46p.

DAVIDSON, A.G.F. & BRIDGES, M.A. Celiac disease, a critical review of aetiology and pathogenesis. Clinica Chimica Acta, Amsterdam, 163: 1-40, 1987.

DICKE, W.K.; WEIJERS, H.A.; VAN DE KAMER, J.H. Coeliac disease II. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. Acta Paediatrica, Stockholm, 42: 34-42, 1953.

FALCHUK, Z.M. & STROBER, W. Gluten sensitive enteropathy synthesis of antigliadin antibody in vitro. Gut, London, 15: 947-52, 1974.

FAO. Aminoacid scoring pattern. Rome, 1981. 173p.

FRAZER, A.C.; FLETCHER, R.F.; ROSS, C.A.C.; SHAW, B.; SAMMONS, H.G.; SCHNEIDER, R. Gluten induced enteropathy. The effect of partially digested gluten. Lancet, London, 2: 252-5, sept. 1959.

GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. 10.ed. São Paulo, Nobel, 1982. 430p.

HUGLI, T.E. & MOORE, S. Determination of the tryptophan content of protein by ion - exchanges chromatography of alkaline hidrolysates. Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 247: 2828-34, 1972.

JAWETZ, E.; MELNICK, J.L.; ADELBERG, E.A. Microbiologia médica. 13.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1980, 516p.

JONSSON, J. & SHILLING, W. Some characteristics of immunofluorescence tests for antibodies against gluten, using wheat grain section or gliadin coated sepharose beads. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. Section C: Immunology, Copenhagen, 89: 253-62, 1981.

JUBY, L.D.; ROTHWELL, J.; AXON, A.T.R. Lactulose/manitol test, an ideal screen for celiac disease. Gastroenterology, New York, 96: 79-85, 1989.

JUNQUEIRA, R.G. & SGARBIERI, V.C. Isolation and general properties of lectins from the bean (*Phaseolus vulgaris*, var Rosinha G 2). Journal of Food Biochemistry, Westport, 5: 165-79, 1981.

KAKADE, M.L. & LIENER, I.E. A simplified procedure for the determination of "available" lysine in protein and protein foodstuffs. Analytical Biochemistry, San Diego, 27: 273-5, 1969.

KELLY, J.; O'FARRELLY, C.; REES, J.P.R.; FEIGHERY, C.; WEIR, D.G.W. Humoral response to α gliadin as serological screening test for coeliac disease. Archives of Diseases in Childhood, London, 62(5): 469-73, 1987.

KENDALL, M.J.; COX, P.S.; SHNEIDER, R.; HAWKINS, C.F. Gluten subfractions in coeliac disease. Lancet, London, 2: 1065-7, nov. 1972.

KILANDER, A.F.; NILSSON, L.A.; GILLBERG, R. Serum antibodies to gliadin in coeliac disease after gluten withdrawal. Scandinavian Journal of Gastroenterology, Oslo, 22(1):29-34, jan. 1987.

KIRILENKO, S.K. & SARKISOVA, N.E. Chemical composition of crushed buckwheat groats. Voprosy Pitaniya, (5): 85, 1978. Apud Food Science and Technology Abstracts, New York, 11(4): 149, 1979. (Resumo).

KUMAR, P.J. The enigma of celiac disease. Gastroenterology, New York, 89(1): 214-6, july. 1985.

LAEMMLI, V.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature, London, 227: 680-5, 1970.

LEITÃO, R.F.F.; PIZZINATTO, A.; FIGUEIREDO, I.B.; MORI, E.E.M. O trigo mourisco em pastas alimentícias. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 52: 91-112, jul./ago. 1977.

LEVENSON, S.D.; AUSTIN, R.K.; DIETLER, M.D.; KASARDA, D.D. KAGNOFF, M.F. Specificity of antigliadin antibody in celiac disease. Gastroenterology, New York, 89(1): 1-5, 1985.

LIMA, A.O. & SILVA, W.D. da. Imunologia, imunopatologia, alergia, métodos. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1970. 673p.

McNICHOLL, B. Coeliac disease, ecology, life history, and management. Human Nutrition Applied Nutrition, London, 40A(1): 55-9, 1986.

MERTZ, E.T.; VERON, O.A.; BATES, L.S.; NELSON, O.E. Growth of rats fed on opaque-2 maize. Science, Washington, 148(3678): 1741-2, june 1965.

MILLER, D.S. & BENDER, A.C. The determination of net utilization of protein by shortened method. British Journal of Nutrition, New York, 9: 382-3, 1955.

MOORE, S. On the determination of cysteine as cysteic acid. Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 238(1): 235-7, 1963.

MURAHOVSKI, J. Doença celíaca. In:_____. Pediatria; diagnóstico + tratamento. São Paulo, Sarvier, 1984. cap. 10, p. 430-5.

OSBORNE, T.B.; MENDEL, L.B.; FERRY, E.L. A method of expressing numerically the growth promoting value of protein. Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 37: 223-5, 1919.

O TRIGO mourisco, ou sarraceno, exige locais de clima mais frio. Agropecuária, São Paulo, 1(4): 22-3, 1979.

PACE, T. Cultura do trigo sarraceno; história, botânica e economia. Rio de Janeiro, SIA, 1964. 71p.

PATEY, A.L. Gliadin: the protein, mixture toxic to coeliac patients. Lancet, London, 1: 722-3, Apr. 1974.

POMERANZ, Y. Buckwheat: structure, composition and utilization. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Boca Raton, 19: 213-58, 1983.

POMERANZ, Y. Modern cereal science and technology. New York, WCH, 1987. cap. 7, p.96-108.

POMERANZ, Y. & ROBBINS, G.S. Amino acid composition of buckwheat, Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 20(2): 270-4, 1972.

POMERANZ, Y.; MARSHALL, H.G.; ROBBINS, G.S.; GILBERTSON, J.T. Protein content and amino acid composition of maturing buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). Cereal Chemistry, St. Paul, 52: 479-85, 1975.

PRAKASH, D.; NARAIN, P.; MISRA, P.S. Protein and amino acid composition of *Fagopyrum* (buckwheat). Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition, Dordrecht, 36(4): 341-4, 1987.

PRICE, M.L.; SOOYOC, S.V.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 26(5): 1214-8, 1978.

ROSENTHAL, E.; GOLAN, D.T.; BENDERLY, A.; SHMUEL, Z.; LEVY, J. Immunofluorescent antigluten antibody test-titer and profile of gluten antibodies in celiac disease. American Journal of Disease of Children, Chicago, 138: 659-62, 1984.

SALGADO, J.M. & CHIEUS, E. Utilização do girassol (*Helianthus annus*, L) na alimentação humana. II. Enriquecimento do concentrado proteico do girassol com farinha de peixe e de gergelim. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Guatemala, 38(2): 297-305, 1988.

SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. Análise química em plantas. Piracicaba, ESALQ, 1975. 57p.

SKERRIT, J.H. Molecular comparison of alcohol soluble wheat and buckwheat proteins. Cereal Chemistry, St. Paul, 63(4): 365-9, Apr. 1986.

SKERRIT, J.H. Immunochemistry of cereal grain storage proteins. Advances in Cereal Science and Technology, St. Paul, 4(8): 263-338, 1988.

SOLA, J.H. Manual de dietoterapia de las enfermedades del adulto. 5.ed. Buenos Ayres, El Ateneo, 1981. 499p.

SURE, B. Nutritive value of proteins in buckwheat and their role as supplements to proteins in cereal grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Easton, 3:793, 1955.

TAHIR, I. & FAROOQ, S. Grain composition in some buckwheat cultivars (*Fagopyrum* spp) with particular reference to protein fractions. Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition, Dordrecht, 35(2): 153-8, 1985.

TAIRA, H. Buckwheat. In: JOHNSON, A.H. & PETERSON, M.J., 1.ed. Encyclopedia of food technology, Westport, AVI, 1974. p.139.

ZUCAS, S.M.; SILVA, E.C.V.; FERNANDES, M.I. Farinha de castanha do Pará, valor de sua proteína. Revista Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo, 13(1): 133-44, 1975.

APÊNDICE

Quadro n.^o 1: Análise da variância para os dados obtidos de ganho de peso, razão de eficiência proteica (PER), digestibilidade (D), valor biológico (VB), utilização proteica líquida (NPU) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) do ensaio biológico.

C.V.	Q.M			
	GL	GANHO PESO	PER	DIGESTIBILIDADE
Tratamento	6	569,7063**	0,5329**	56,2175**
Resíduo	35	158,9032	0,06129	0,8768

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade, obtido através da aplicação do teste F.

Continuação...

C.V.	Q.M			
	GL	V.B.	NPU	CEA
Tratamento	6	375,8210**	344,0894**	0.0038103**
Resíduo	35	43,7189	34,0211	0.0004848

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade, obtido através da aplicação do teste F.

Quadro n.º 2: Resultados da aplicação do teste de Scheffé para as médias de tratamento.

CONTRASTE	VALOR DO CONTRASTE		
	GANHO EM PESO	PER	DIGESTIBILIDADE
1	31.83337	1.63500	33.41668**
2	21.16667	0.34500	-8.95668**
3	-26.26667	-0.67000	0.23166
4	-15.40000	-0.79500	2.65999
5	3.33333	0.30333	5.20167**
6	24.93333	0.66833**	1.75667
7	3.43333	0.15667	-3.79500**
8	-1.93333	-0.08833	-0.85834
9	19.66667	0.27667	-4.30333**

* Contraste significativo ao nível de 5% de probabilidade

** Contraste significativo ao nível de 1% de probabilidade

Continuação..

CONTRASTE	VALOR DO CONTRASTE		
	V.B.	NPU	CEA
1	75.32834*	90.84996**	0.11000
2	12.03167	4.59333	0.00667
3	-19.36666	-16.10167	-0.04833
4	-18.47500	-14.92333	-0.08167
5	-8.82333	-3.97499	0.03167
6	10.79500	10.56667	0.05500*
7	3.71333	1.13833	0.01333
8	-5.65000	-5.54333	-0.01500
9	13.96833	8.99833	0.00833

* Contraste significativo ao nível de 5% de probabilidade

** Contraste significativo ao nível de 1% de probabilidade