BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Curso de Pós-graduação em
Ciência dos Alimentos

VALOR NUTRICIONAL DA BIOMASSA DE
Saccharomyces cerevisiae.
ESTUDO EM GERAÇÕES SUCESSIVAS DE RATOS

SILVIA MARIA FRANCISCATO COZZOLINO

Tese para obtenção do título de
DOUTOR

Orientador:

Prof. Dr. SÉRGIO MIGUEL ZUCAS

São Paulo
1982

10561

Ao meu marido
Federico
e aos meus filhos
Flávia e Ciro.

Aos meus pais
Sylvio e Nexme.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Sérgio Miguel Lucas, pela amizade e orientação deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Franco M. Lajolo, pelo apoio recebido.
- À Prof. Dra. Marilene De Vuono Camargo Penteado, pela amizade, interesse e auxílio prestados.
- À Prof. Dra. Lor Cury, pelo interesse demonstrado em relação ao nosso trabalho.
- Ao CNPq pela bolsa de pesquisa concedida.
- À FINEP, pelos auxílios recebidos.
- À Frederico Cozzolino Projetos Estruturais, pela elaboração dos gráficos e fotos.
- Aos colegas do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, que sempre nos apoiaram.
- Ao João da Penha e Inês Maria Henrique, pelos auxílios técnicos prestados.
- À Loanda d'Eurydice e Benedita E. S. de Oliveira, pelos serviços prestados.

	pág.
5.2.2.5 - Valor Biológico Aparente...	20
5.2.2.6 - Utilização Protéica Líquida Aparente	20
5.2.3 - Análise das Rações e Biomassa	20
5.2.3.1 - Umidade	20
5.2.3.2 - Cinzas	20
5.2.3.3 - Extrato etéreo	21
5.2.3.4 - Nitrogênio total	21
5.2.3.5 - Aminograma da Biomassa.....	21
5.2.4 - Análise dos Órgãos	22
5.2.4.1 - Proteínas totais	22
5.2.4.2 - Lípidos totais	22
5.2.5 - Análise Estatística	22
6 - ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	23
6.1 - Composição da Biomassa	23
6.1.1 - Composição Centesimal	23
6.1.2 - Composição aminoacídica da proteína da biomassa	24
6.2 - Composição das rações	29
6.3 - Valor biológico da proteína da biomassa no en- saio preliminar de curta duração	33
6.3.1 - Resultados do valor biológico das ra- ções	34
6.3.2 - Resultados da análise dos órgãos	48
6.4 - Resultado do valor nutricional da biomassa no estudo de longa duração	53
6.4.1 - Resultados de Fertilidade	55
6.4.2 - Resultados do valor biológico da pro- teína da biomassa em estudos de gera- ções	67
7 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	123
8 - CONCLUSÕES	129
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	131
SUMMARY	148

1 - INTRODUÇÃO

Neste final de século, quando os progressos alcançados pela Ciência, especialmente na área de Nutrição, vieram contribuir para uma melhoria das condições de saúde das populações de muitos países, ainda defrontamos com problemas de certa gravidade nos países em desenvolvimento.

As consequências da ingestão insuficiente de alimentos, ou mesmo de uma dieta desequilibrada são amplamente conhecidas, refletindo seus efeitos negativos no desempenho dos indivíduos no âmbito da sociedade, o que sem dúvida influencia o desenvolvimento do país.

No Brasil, têm-se conhecimento através de inquéritos alimentares, que grande parte da população não recebe a quantidade mínima de calorias e nutrientes necessários para o seu bom desenvolvimento⁽⁴²⁾.

Assim, uma das grandes preocupações dos órgãos governamentais é equacionar uma precária agricultura, aliada a uma deficiente indústria alimentar, para obter alimentos em quantidade e qualidade suficientes para suprir as necessidades da população.⁽⁸⁵⁾

Paralelamente, as estatísticas mundiais demonstram, que os índices de crescimento populacional continuam subindo, e previsões para um futuro próximo têm mostrado que haverá fal

ta de alimento, constituindo portanto, um alerta às autoridades prepostas a resolverem este problema⁽⁷⁾⁽¹⁵⁾⁽²¹⁾⁽⁶³⁾⁽¹¹⁵⁾⁽¹²⁰⁾.

Dentre os programas que visam dar solução a esta crise destacam-se além do incremento da agricultura, através da modernização das técnicas convencionais de obtenção de alimentos e da aplicação dos resultados de pesquisas na área de genética vegetal, também o processamento de alimentos, principalmente através da industrialização, permitindo um maior tempo de estocagem, diminuindo conseqüentemente as perdas⁽⁷⁾⁽¹⁵⁾⁽³⁶⁾⁽¹⁰⁰⁾.

Por outro lado, existem ainda outros alimentos, também chamados de "não convencionais", que embora utilizados por certos grupos populacionais desde épocas remotas, não são suficientemente difundidos, e, por isto mesmo, pouco conhecidos. Dentre estes destacam-se as fontes oriundas de microorganismos, que devido à grande facilidade de obtenção, com custos de produção relativamente baixos comparados aos de outros alimentos convencionais, tornam-se um grande atrativo para os setores ligados à área econômica⁽⁴⁾⁽⁹⁵⁾.

Entretanto, a introdução destes alimentos na alimentação humana e animal, tem causado sérias controvérsias, indicando que há necessidade de estudos mais detalhados quanto ao seu valor nutricional e sua inocuidade.

Foi devido a este fato, que nos propusemos a estudar esta fonte alternativa de alimentos, em particular a biomassa protéica obtida a partir de Saccharomyces cerevisiae em me-

laço da cana de açúcar, em escala industrial, contribuindo para o melhor conhecimento desta fonte protéica quanto às suas propriedades nutricionais.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

Os microorganismos foram introduzidos na alimentação humana há milênios, quando iniciou-se o processamento de bebidas alcoólicas, queijos e panificação⁽¹⁹⁾⁽²¹⁾⁽⁹⁴⁾.

Dentre os microorganismos utilizados na alimentação tanto humana como animal, destacam-se vários gêneros e espécies de bactérias, algas, leveduras e fungos⁽²¹⁾⁽⁹³⁾⁽⁹⁴⁾.

Entretanto, foi somente a partir da I e II Guerras Mundiais, que as leveduras particularmente, foram estudadas com finalidade de suplemento protéico, a fim de melhorar as dietas deficientes daquele período⁽¹⁵⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾⁽²¹⁾⁽⁵⁶⁾⁽⁷⁰⁾⁽⁹⁹⁾.

Os fatores preponderantes para a utilização desta fonte não convencional de proteína, estão baseados na peculiaridade dos microorganismos de se reproduzirem rapidamente, podem utilizar os mais diferentes tipos de substrato, podendo ser controlados laboratorialmente, tornando-se portanto independentes de fatores ambientais ou climáticos, além de possuírem um alto teor de proteínas e vitaminas⁽⁵⁵⁾⁽⁶²⁾⁽⁶⁷⁾⁽⁶⁸⁾⁽⁹¹⁾⁽⁹⁴⁾⁽¹⁰⁶⁾⁽¹¹⁴⁾⁽¹¹⁹⁾⁽¹²³⁾⁽¹²⁴⁾.

Por outro lado, há algumas desvantagens, pois sendo resíduos de células, as biomassas contêm elevado teor de ácidos nucleicos, podendo causar problemas na eliminação de ácido úrico proveniente do metabolismo das purinas, conforme am-

plamente discutido em vários trabalhos⁽⁷³⁾⁽⁷⁸⁾⁽⁸⁸⁾⁽⁹¹⁾⁽⁹⁹⁾⁽¹²⁷⁾ e por não se conhecer até o momento, qual a influência do uso contínuo com possíveis fatores tóxicos ou alergênicos.

Quimicamente, esta varia de acordo com o tipo de microorganismo empregado, bem como das condições de crescimento.

Tomaremos como base de referência as leveduras, que constituíram o motivo de nossa pesquisa.

Quanto ao teor de proteína bruta (nitrogênio x 6,25), têm-se para as leveduras uma variação de 50 a 70%⁽¹⁹⁾⁽⁹⁴⁾⁽⁹⁹⁾⁽¹⁰⁹⁾, porém nem todo nitrogênio encontra-se sob a forma de proteína, estabelecendo-se através de vários trabalhos a cifra de aproximadamente 20% para nitrogênio não protéico, derivado de ácidos nucleicos e outros constituintes⁽¹⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁵⁾⁽⁶²⁾⁽⁶³⁾⁽⁶⁸⁾⁽⁹³⁾⁽⁹⁴⁾⁽¹⁰⁶⁾⁽¹²³⁾.

Quanto à composição aminoacídica, estas se mostram deficientes em sulfurados totais, contendo um alto teor de lisina, parecendo-se portanto, com as proteínas de leguminosas⁽¹⁹⁾⁽²⁷⁾⁽⁶²⁾⁽⁹³⁾⁽⁹⁴⁾⁽¹¹⁸⁾⁽¹²³⁾.

Em relação aos minerais, as leveduras apresentam alta porcentagem de cinzas, da ordem de 6 a 9% baseada em peso seco, sendo aproximadamente a metade constituída por fosfatos, encontrando-se também sais de Ca, K, Mg, Na e SO_3 ⁽¹⁹⁾⁽⁶²⁾⁽⁹⁴⁾⁽¹⁰⁶⁾⁽¹¹⁹⁾⁽¹²³⁾.

Quanto às vitaminas, são excelentes fontes de vitaminas do complexo B, com exceção da vitamina B_{12} . Segundo vários autores, as quantidades obtidas variaram na dependência do meio de crescimento, por exemplo, num meio enriquecido com

tiamina, os valores encontrados para esta vitamina foram maiores⁽⁹⁴⁾⁽¹¹²⁾⁽¹¹⁹⁾. Contêm também pequena quantidade de vitamina E e pró vitamina D. A maioria das leveduras não contém vitamina A, nem β -caroteno, existindo entretanto, algumas espécies que constituem exceções⁽¹⁹⁾⁽⁹⁴⁾.

O teor de gordura obtido através de extração com solventes orgânicos, varia de 1 a 2% para a maioria das espécies. A natureza destas substâncias não tem sido determinada, embora existam estudos indicando ácidos graxos e substâncias insaponificáveis⁽¹⁹⁾. Alguns resultados também indicaram que o meio de cultura influencia o conteúdo de gordura, que aumenta quando o meio é rico em açúcares.

Os carboidratos estão presentes sob a forma de glicogênio e a fibra bruta é representada pelas substâncias da parede celular⁽¹⁹⁾.

Nos Estados Unidos, o uso de leveduras é disciplinado por uma legislação, que especifica as quantidades mínimas para os nutrientes. Esta legislação foi publicada pelo National Formulary em 1970, apresentando os seguintes valores: umidade, máximo de 7%; cinzas, máximo de 8%; proteína bruta (N x 6,25), mínimo de 45%; tiamina, mínimo de 120 $\mu\text{g/g}$; riboflavina, mínimo de 40 $\mu\text{g/g}$; niacina, mínimo de 300 $\mu\text{g/g}$; bactérias vivas, máximo de 7.500/g; bolor vivo, máximo de 50/g.⁽⁹⁴⁾

Biologicamente, analisando-se o valor nutricional da proteína da biomassa, vários experimentos foram realizados com animais e no ser humano. Os animais utilizados foram aves domésticas, ratos, cachorros, porcos, coelhos, vacas, macacos,

peixes de lago e outros, chegando-se à conclusão através dos resultados obtidos, que esta fonte alimentar produzia bons resultados, quando utilizada em substituição a parte da proteína da ração⁽¹⁰⁾⁽⁸⁰⁾⁽⁹⁴⁾⁽¹⁰¹⁾⁽¹⁰²⁾.

Em 1968, BRESSANI fez uma revisão da literatura, de 1910 a 1968, sobre o valor nutricional de proteínas derivadas de leveduras, obtidas de vários tipos de substratos, chegando à conclusão que estas proteínas tinham um valor biológico inferior ao esperado, com deficiências de aminoácidos sulfurados ; ressaltando também, que a adição de levedura a uma dieta convencional, poderia melhorar o valor nutricional desta, através da complementação dos aminoácidos⁽¹⁹⁾.

Em termos gerais, as experiências realizadas com leveduras não apresentaram resultados muito divergentes quanto ao valor nutricional, entretanto o tipo de levedura empregada, bem como o meio de crescimento utilizado para sua propagação, podem influenciar os resultados⁽¹⁹⁾⁽⁶³⁾⁽¹²³⁾.

As primeiras experiências com leveduras realizadas no ser humano, não alcançaram grande sucesso, por produzirem sintomas ligados a desconforto gastro-intestinal, diarreias e vômitos sem causa comprovada, surgindo hipóteses de que este fato poderia ser devido ao processamento tecnológico empregado para sua obtenção⁽¹⁸⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁷⁰⁾⁽⁹⁹⁾⁽¹¹⁷⁾.

Outras pesquisas demonstraram, que a ingestão de leveduras em pequena quantidade, não causou anormalidades na maioria dos indivíduos que serviram como voluntários nestas experiências⁽⁶⁴⁾, entretanto indivíduos mais sensíveis, apre -

sentaram sinais de intolerância logo após as primeiras doses⁽⁹⁹⁾.

Os trabalhos realizados no ser humano, visando a relação existente entre ingestão de leveduras e eliminação de ácido úrico, demonstraram que há correlação positiva, e tal fato poderia levar à produção de gota em pessoas já predispostas geneticamente, bem como aumentar o risco para aquelas que não o fossem⁽¹⁷⁾⁽³²⁾⁽⁵⁸⁾⁽¹²¹⁾⁽¹²²⁾. Neste sentido, vários pesquisadores tem procurado obter biomassas com teores reduzidos de ácidos nucleicos. Os métodos utilizados tem produzido bons resultados, embora o custo de produção seja algumas vezes inviável⁽²²⁾⁽²⁶⁾⁽⁵⁷⁾⁽⁷⁴⁾⁽⁸³⁾⁽¹⁰³⁾⁽¹⁰⁴⁾.

Foi neste sentido, que o grupo FAO/OMS/UNICEF interessado em proteínas, passou a discutir os limites de segurança que deveriam ser respeitados, ao introduzir esta fonte proteica não convencional na alimentação humana ou animal. Foram propostos estudos controlados e ao mesmo tempo foram agrupados os conhecimentos na área, estabelecendo-se desde a primeira reunião, que a quantidade de ácidos nucleicos não deveria ultrapassar o limite de 2g por dia, para um indivíduo adulto normal, sendo ainda mais reduzida, quando administrada a crianças⁽⁶⁾⁽³³⁾⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾⁽⁸⁷⁾.

Sabe-se que além dos problemas normais para obtenção da biomassa; que deve ser controlada em todas as fases pelas quais o microorganismo passa, até a fase final; e do teor de ácidos nucleicos; um outro fator de preocupação, está na utilização de substratos como hidrocarbonetos, que podem deixar resíduos nas células, tornando-se portanto, impróprias para con-

sumo humano⁽²¹⁾. Por outro lado, a utilização destas biomassa em rações animais deve ser feita com cuidado, a fim de que a ingestão de carnes, ovos e leite destes animais pelo ser humano, não causem contaminação indireta.

POKROVSKY⁽⁹³⁾ relata que em experimentos utilizando animais alimentados com biomassa contendo cerca de 2% de hidrocarbonetos residuais, estes apresentaram alterações principalmente no fígado e rins, recomendando que mesmo para rações animais, a taxa de hidrocarbonetos residuais não deve exceder 0,1%.

Na maioria dos experimentos realizados com leveduras, empregando-se várias espécies e diferentes meios de cultura, não ficou demonstrado problemas de toxicidade nem para o homem, nem para os animais experimentais, mesmo quando em estudos de longa duração⁽⁵⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁹⁾⁽⁹²⁾⁽¹¹⁰⁾ entretanto como citado por OSER⁽⁸⁸⁾ as Nações Unidas estabeleceram que:

"Antes que um alimento seja oferecido para utilização humana, deve-se ter certeza, da inocuidade e qualidade do alimento manufaturado pelos processos sugeridos. Mas, mesmo com a maior das precauções, qualquer nova fonte de proteína, precisa ser testada primeiro no homem, em escala limitada, com observações cuidadosas, a fim de se identificar qualquer possível risco insuspeito".

3 - OBJETIVOS

Estudar o valor nutricional da biomassa, obtida a partir de Saccharomyces cerevisiae em melaço de cana de açúcar, em escala industrial, no desenvolvimento de ratos em gerações sucessivas.

- 3.1 - Verificar a influência do nível protéico da biomassa a 10% e 25%, no desenvolvimento de ratos em gerações sucessivas.
- 3.2 - Verificar o comportamento dos animais frente à gestação e lactação.
- 3.3 - Verificar possíveis fatores tóxicos advindos da ingestão de biomassa, como única fonte protéica na ração, durante um período de longa duração.

4 - PLANEJAMENTO

Nosso trabalho foi realizado em duas etapas, a primeira foi constituída de um ensaio biológico preliminar de curta duração, para avaliarmos o valor nutricional da fonte proteica escolhida, a fim de justificarmos os ensaios posteriores, e a segunda etapa foi realizada para verificar o comportamento desta fonte por um longo período de tempo.

No ensaio preliminar utilizamos 30 ratos, sendo 15 fêmeas e 15 machos, divididos da seguinte forma:

Grupo zero - Constituído por 6 animais, 3 machos e 3 fêmeas, que foram sacrificados no início da experiência, para análise de carcaça e órgãos .

Grupo de biomassa — constituído por 12 ratos, 6 machos e 6 fêmeas.

Grupo de caseína — constituído por 12 ratos, também 6 machos e 6 fêmeas.

Portanto, a fonte proteica experimental foi constituída pela biomassa e a fonte proteica padrão pela caseína.

Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, por um período de 28 dias, onde coletou-se urina e fezes. Ao final da experiência, todos os animais foram sacrificados, suas carcaças foram secas e desengorduradas e os órgãos foram congelados e mantidos à temperatura de -18°C (freezer).

Na fase complementar, selecionamos 72 ratos, 54 fêmeas e 18 machos, que foram colocados em gaiolas próprias para criação, na proporção de 3 fêmeas para cada macho, e mantidos acasalados por 5 dias, devido ao ciclo estral da rata ser de 4 dias⁽⁸¹⁾⁽¹⁰⁵⁾. Após este período, os machos foram retirados e as fêmeas foram mantidas juntas até o final da gestação, quando então foram separadas, pouco antes do nascimento dos filhotes. Logo após o nascimento, o total das ratas com filhotes foi dividido em 4 grupos, aos quais foram administrados rações experimentais; portanto já na fase de lactação as ratas receberam rações de: caseína e biomassa, aos níveis protéicos de 10% e 25% cada uma.

Entre os 25 e 30 dias de vida, os filhotes foram desmamados e iniciou-se o experimento com a primeira geração.

Cada grupo ficou constituído de 12 fêmeas e 6 machos, somando-se portanto 72 animais, que foram mantidos até a fase adulta (com cerca de 120 dias), sendo então cruzados entre si para obtenção da 2ª Geração.

Após o acasalamento os machos foram sacrificados, e seus órgãos foram congelados e conservados para análises.

Os filhotes foram mantidos com suas respectivas mães até o desmame, e foi iniciada a 2a. Geração. Nesta fase, cada

grupo de animais foi subdividido em dois, sendo um para reprodução e outro para sacrifícios aos 30, 60 e 90 dias de vida .

Os grupos para reprodução foram compostos de 4 fê-meas e 2 machos, e os grupos para sacrifícios de 9 animais no mínimo.

Na fase adulta, fêz-se novo acasalamento para obtenção da 3a. Geração, novamente foram separados 9 animais de cada grupo para sacrifícios aos 30, 60 e 90 dias de vida.

Na pãgina 14 apresentamos o fluxograma do planeja -
mento.

5 - MATERIAL E MÉTODOS

5.1 - Material

5.1.1 - Animais

Utilizamos em nosso experimento ratos albinos, da linhagem Wistar (Rattus norvergicus, var. albinus, Rodentia, Mamalia) provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

5.1.2 - Rações

As rações estudadas foram nutricionalmente balanceadas, testadas aos níveis protéicos de 10% e 25%.

5.1.2.1 - Fonte protéica experimental

Como fonte protéica experimental utilizamos a biomassa, obtida a partir de Saccharomyces cerevisiae em melaço de cana de açúcar, em escala industrial. (84)

5.1.2.2 - Fonte protéica padrão

Como fonte protéica padrão, utilizamos a caseína, adquirida no comércio de São Paulo.

5.1.3 - Biológico

5.1.3.1 - Urina

A urina dos animais submetidos aos diferentes tratamentos, no ensaio preliminar de curta duração, foi coletada diariamente, sendo mantida em pH ácido e em geladeira, até o final do experimento, para análise de nitrogênio total.

5.1.3.2 - Fezes

As fezes foram coletadas com intervalos de 2 dias , também durante o experimento de curta duração, sendo conservadas no estado seco para análise de nitrogênio total.

5.1.3.3 - Carcaças

Ao final do período experimental de curta duração , os animais foram sacrificados, suas carcaças foram pesadas, secas, desengorduradas e pulverizadas para análise de nitrogênio total.

5.1.3.4 - Órgãos

Os cérebros e fígados dos animais tanto do período experimental de 28 dias, como dos demais grupos experimentais subsequentes, foram retirados no momento do sacrifício, pesados, imediatamente congelados em nitrogênio líquido e conservados a -18°C para análises posteriores.

5.2 - Métodos

5.2.1 - Preparo das rações

As rações controle e experimental foram preparadas segundo as normas do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, que se baseiam na mistura dos componentes na proporção indicada pelo quadro 1, sendo transformados em massa por meio da goma de amido e água. Esta massa foi transformada em granulado vermicular e dessecada a 60°C em estufa ventilada.

As misturas salina e vitamínica encontram-se descritas em trabalho anterior dos autores⁽²⁹⁾ e basearam-se nas necessidades do rato⁽⁸¹⁾⁽¹⁰⁵⁾

QUADRO 1 - Composição percentual básica das rações

Proteína	10% ou 25%
Mistura vitamínica	1%
Mistura salina	4%
Óleo de soja	8%
Sacarose	10%
Celulose	1%
Amido de milho	q.s.p. 100%

5.2.2 - Avaliação do valor biológico das rações

Para avaliação do valor biológico das rações, foram utilizados os seguintes índices:

5.2.2.1 - Índice de crescimento (I.C.)

Para determinação do índice de crescimento dos animais submetidos aos diferentes tratamentos, estes foram pesados semanalmente durante o período experimental. A média dos resultados de cada grupo nas diferentes semanas, demonstra a eficácia da ração em relação ao aumento de peso corporal dos animais.

5.2.2.2 - Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA)

As diferenças de peso corporal dos animais, podem estar relacionadas à quantidade de ração ingerida, portanto, controlando-se o ganho de peso dos animais e o consumo de ração, poderemos determinar o coeficiente de eficácia alimentar, que representa o aumento de peso do animal por grama de ração ingerida.

5.2.2.3 - Coeficiente de Eficácia Protéica (CEP)

O coeficiente de eficácia protéica é o índice de valor biológico mais utilizado em ensaios com animais, embora atualmente existam algumas modificações neste método, permitindo avaliações mais rápidas⁽¹³⁾. Representa o aumento de peso do animal por grama de proteína ingerida.

5.2.2.4 - Coeficiente de Digestibilidade Aparente (C.D_{ap.})

As proteínas possuem diferentes graus de digestibilidade. Através do balanço entre a quantidade de nitrogênio ingerido e excretado pelas fezes, teremos o nitrogênio absorvido, cuja porcentagem em relação ao ingerido nos dará o coeficiente de digestibilidade aparente.

5.2.2.5 - Valor biológico aparente ($V.B_{ap.}$)

O valor biológico aparente calcula-se em função da quantidade de nitrogênio retido pelo animal. Pode-se calcular através do balanço nitrogenado ou da análise da carcaça, e a porcentagem de nitrogênio retido em relação ao nitrogênio absorvido nos dará o $V.B_{ap.}$ (12)(20).

5.2.2.6 - Utilização Protéica Líquida Aparente ($UPL_{ap.}$)

A utilização protéica líquida aparente, também calcula-se em função da quantidade de nitrogênio retido pelo animal, entre - tanto relaciona-se percentualmente com a quantidade de nitrogênio ingerido.

5.2.3 - Análise das Rações e Biomassa

5.2.3.1 - Umidade

A determinação da umidade foi realizada por gravimetria em estufa regulada a 105°C , até peso constante⁽⁶⁰⁾.

5.2.3.2 - Cinzas (Resíduo mineral fixo)

A determinação de cinzas foi realizada por gravimetria, em mufla a 550°C , até peso constante⁽⁶⁰⁾.

5.2.3.3 - Extrato Etéreo

A fração extrato etéreo foi determinada em extrator intermitente de Soxhlet, utilizando-se éter etílico como solvente⁽⁶⁰⁾.

5.2.3.4 - Nitrogênio total

O teor de nitrogênio total foi determinado através do método de Microkjeldahl⁽⁸⁾, utilizando-se o fator 6,25 para transformação deste em proteína.

5.2.3.5 - Aminograma da Biomassa

O aminograma da biomassa foi realizado na Escola Paulista de Medicina, em analisador automático.

O método empregado, baseou-se na hidrólise ácida do material segundo STEWART e YOUNG⁽¹⁰⁷⁾.

Para determinação do triptofano, utilizou-se hidrólise específica segundo LIU e CHANG⁽⁶⁹⁾.

As determinações de metionina e cistina, foram realizadas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, utilizando-se o método de MOORE⁽⁷⁶⁾.

5.2.4 - Análise dos órgãos

5.2.4.1 - Proteínas totais

Para determinação de proteínas totais no fígado e cérebro utilizamos o método de Microkjeldahl⁽⁸⁾.

5.2.4.2 - Lípides Totais

Os lípides totais no fígado foram determinados utilizando-se o método de FOLCH et cols.⁽⁴¹⁾.

5.2.5 - Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se a Análise de Variância Multivariada desenvolvida por WILKS⁽¹²⁵⁾, e a significância do teste F verificada a nível de 0,1, 1 e 5% de probabilidade, no Centro de Computação Eletrônica da USP.

Calculou-se o desvio padrão, que foi representado nas tabelas precedido do sinal $\pm$.

6 - ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os resultados obtidos neste experimento encontram-se nas Tabelas de 1 a 41 e nas Figuras de 1 a 34.

6.1 - Composição da Biomassa

6.1.1 - Composição Centesimal

De acordo com o que pudemos observar através da literatura e descrito no início do presente trabalho, a biomassa obtida a partir de leveduras, pode apresentar uma composição centesimal, cuja variação está na dependência do tipo de levedura empregada, bem como do meio de crescimento.

A biomassa utilizada em nosso estudo, foi obtida a partir de Saccharomyces cerevisiae, utilizando como substrato o melaço de cana de açúcar, e analisada apresentou a seguinte composição centesimal: umidade 5,3; cinzas 7,3; extrato etéreo 2,0; proteína bruta (N x 6,25) 51,2; fração NIFEXT (incluindo a fração fibra) 35,2.

Verificamos que tais valores, estão em concordância

com as especificações para alimentos derivados de leveduras, apresentando quantidade significativa de proteína.

6.1.2 - Composição aminoacídica da proteína da biomassa

Como já sabemos, os aminoácidos presentes na fração protéica de uma determinada fonte de proteína, caracterizam o valor biológico da mesma. Os diversos autores que estudaram proteínas derivadas de leveduras, obtiveram resultados semelhantes, principalmente no que diz respeito ao excesso de lisina e deficiência em sulfurados totais.

O aminograma da proteína de biomassa utilizada em nosso experimento, encontra-se na Tabela 1.

A análise da Tabela 1, demonstra que os resultados obtidos encontram-se dentro dos parâmetros previstos para esta fonte alimentar.

Por outro lado, sabemos também que o valor biológico de uma proteína não depende exclusivamente do seu aminograma, uma vez que a quantidade total de aminoácidos essenciais, relacionada com o teor total de nitrogênio da proteína, pode nos indicar a capacidade da mesma em construir tecido, que é em última análise o objetivo básico a ser atingido.

Assim sendo, procuramos analisar através do cômputo químico dos aminoácidos, que traduz o interrelacionamento entre os aminoácidos essenciais e a relação E/T, as limitações

TABELA 1 - Teor em aminoácidos (g/100g de proteína) presentes na proteína da biomassa, determinado através do emprego de analisador automático (COZZOLINO, 1982).

Aminoácido	Teor	g/100g de Proteína
Lisina		9,09
Histidina		2,60
Arginina		5,20
Triptofano		1,04
Ácido Aspártico + Asparagina		10,70
Treonina		4,79
Serina		4,75
Ácido Glutâmico + Glutamina		19,81
Prolina		3,65
Glicina		4,81
Alanina		6,20
1/2 Cistina		1,23
Valina		6,07
Metionina		1,96
Isoleucina		4,57
Leucina		6,51
Tirosina		3,16
Fenilalanina		3,89
Total		100,03

da proteína da biomassa em relação à proteína do ovo, proteína do leite (caseína) e proteína provisional da F.A.O^{*}. Os resultados obtidos encontram-se nas Tabelas 2 e 3.

A análise destas tabelas demonstra que dependendo do padrão utilizado, os amino ácidos limitantes primário, secundário e terciário também se modificaram. Assim, comparando-se a proteína da biomassa com a proteína do ovo, verificamos pelo cômputo químico através da relação A/E (Tabela 2) e percentual (Tabela 3), uma limitação primária de sulfurados totais, da ordem de 33,6% e 44,9% respectivamente, seguidos de triptofano, da ordem de 13,8% e 30,2% e de aromáticos totais, da ordem de 13,5% e 28,7%.

A relação existente entre proteína da biomassa e proteína provisional da F.A.O, também indicam pelas mesmas determinações anteriores, os sulfurados totais como limitantes primários, da ordem de 22,7% e 8,9%, seguidos de leucina, da ordem de 20,6% e 7,0% e finalmente triptofano, da ordem de 10,7%, não havendo limitação quando calculado pela relação percentual.

A comparação com a proteína do leite (caseína), apresentou uma limitação primária para aromáticos totais, da ordem de 24,1% e 37,5%, seguidos de triptofano, da ordem de 21,9% e 37,0% e finalmente leucina, da ordem de 18,5% e 33%. Verificamos neste caso, que a biomassa utilizada, não apresentou limitação em aminoácidos sulfurados, fato perfeitamente compreensível, pois a caseína, embora utilizada comumente como pa

*F.A.O - Food Agricultural Organization

TABELA 2 - Teor em aminoácidos, relação A/E e cômputo químico dos aminoácidos essenciais da proteína da Biomassa, em relação à proteína do ovo, proteína do leite e proteína provisional da FAO (COZZOLINO, 1982).

Aminoácidos	Biomassa		O v o		Caseína (35)		F A O (37)	
	g/100 g proteína	A/E	A/E	Cômputo	A/E	Cômputo	A/E	Cômputo
Isoleucina	4,57	108	123	87,8	108	100,0	111	97,3
Leucina	6,51	154	172	89,5	189	81,5 ^{***}	194	79,4 ^{**}
Lisina	9,09	215	136	158,1	162	132,7	153	140,5
Fenil-alanina	3,89	92	112	82,1	104	88,5	—	—
Tirosina	3,16	75	81	92,6	116	64,7	—	—
Aromáticos totais	7,05	167	193	86,5 ^{***}	220	75,9 [*]	167	100,0
Metionina	1,96	46	66	69,7	56	82,1	—	—
1/2 Cistina	1,23	29	47	61,7	7	414,3	—	—
Sulfurados totais	3,19	75	113	66,4 [*]	63	119,0	97	77,3 [*]
Treonina	4,79	113	100	113,0	93	121,5	111	101,8
Triptofano	1,04	25	29	86,2 ^{**}	32	78,1 ^{**}	28	89,3 ^{***}
Valina	6,07	144	134	107,5	134	107,5	139	103,6
Total	42,48							

* aminoácido limitante primário

** aminoácido limitante secundário

*** aminoácido limitante terciário

$$\frac{A}{E} = \frac{\text{mg do aminoácido essencial}}{\text{total de aminoácidos essenciais}}$$

TABELA 3 - Teor em aminoácidos essenciais (g/100g proteína), cômputo químico percentual e relação E/T dos aminoácidos da proteína da biomassa em relação à proteína do ovo, proteína do leite e à proteína provisional da FAO (COZZOLINO, 1982)

Aminoácidos	Biomassa	O v o		Caseína		F A O	
	g/100g proteína	g/100g proteína	Cômputo	g/100g proteína	Cômputo	g/100g proteína	Cômputo
Isoleucina	4,57	6,29	72,7	5,52	82,8	4,0	114,3
Leucina	6,51	8,82	73,8	9,71	67,0 ^{***}	7,0	93,0 ^{**}
Lisina	9,09	6,98	130,2	8,29	109,7	5,5	165,3
Fenilalanina	3,89	5,73	67,9	5,34	72,8	—	—
Tirosina	3,16	4,16	76,0	5,94	53,2	—	—
Aromáticos totais	7,05	9,89	71,3 ^{***}	11,38	62,5 [*]	6,0	117,5
Metionina	1,96	3,36	58,3	2,85	68,8	—	—
1/2 Cistina	1,23	2,43	50,6	0,37	332,4	—	—
Sulfurados totais	3,19	5,79	55,1 [*]	3,22	99,1	3,5	91,1 [*]
Treonina	4,79	5,12	93,6	4,75	100,8	4,0	119,8
Triptofano	1,04	1,49	69,8 ^{**}	1,65	63,0 ^{**}	1,0	104,0
Valina	6,07	6,85	88,6	6,88	88,2	5,0	121,4
Total	42,28	51,23		51,30		36,0	
E/T	2,64	3,20		3,20		2,25	

*aminoácido limitante primário
 **aminoácido limitante secundário
 ***aminoácido limitante terciário

$$\frac{E}{T} = \frac{\text{total de aminoácidos essenciais}}{\text{total de nitrogênio}}$$

drão, é deficiente nestes aminoácidos, recomendando-se inclusive a adição de metionina como suplemento em ensaios biológicos.

Quanto à relação E/T dos aminoácidos, representada na Tabela 3, verificamos que o resultado obtido para a proteína da biomassa (2,64) foi inferior ao da proteína do ovo (3,20) e do leite (3,20); entretanto foi superior ao da proteína provisional da F.A.O (2,25). Outros autores encontraram relações E/T de 2,94 a 3,26 para biomassas obtidas de várias espécies de leveduras⁽¹⁹⁾.

Portanto, a partir destes resultados, podemos concluir que a proteína da biomassa utilizada, apresentou limitações moderadas de alguns aminoácidos essenciais, principalmente de sulfurados totais, quando comparada à proteína do ovo e proteína provisional da F.A.O. Os teores de lisina foram significantes, mostrando a importância do estudo desta fonte proteica em complementação alimentar.

Esta análise, vem reforçar as considerações anteriores, em concordância com a maioria dos trabalhos já citados anteriormente.

6.2 - Composição das Rações

Como sabemos, a introdução de uma nova fonte alimentar, tanto para animais como para seres humanos, deve ser racionalmente estudada e planejada, e estes estudos devem conter resultados obtidos através dos insumos que entram nesta

nova fonte de alimentos.

No presente caso, estamos estudando a biomassa obtida de Saccharomyces cerevisiae como fonte de proteína, e que deve ser analisada quanto à sua inocuidade, valor nutricional, condições sanitárias, aceitabilidade e propriedades tecnológicas.

Evidentemente, dentro dos parâmetros acima citados, procuramos estudar os aspectos de inocuidade e valor nutricional. Este último, diz respeito não tão somente ao que foi exposto com relação ao estudo da composição química da biomassa, como também aos ensaios biológicos que devem se suceder.

Neste particular, procuramos estudar o valor biológico em ratos, e associamos este estudo aos testes de inocuidade pré-clínicos, através de gerações sucessivas de ratos.

Para que este estudo se efetivasse, procuramos preparar rações isocalóricas e isonitrogênicas, aos níveis protéicos de 25% e 10%, tomando-se como referência protéica a caseína.

As rações, preparadas de acordo com o item 5.2.1, após análise, apresentaram a composição percentual contida nas Tabelas 4 e 5.

Os dados da Tabela 4, referem-se à composição das rações do experimento de curta duração, e os da Tabela 5, às de longa duração.

Pode-se observar através destas tabelas, que as rações controle e experimentais, apresentaram-se de acordo com o esperado, diferindo apenas quanto ao teor de cinzas, fato que não pode ser evitado, pois a análise da biomassa, como já des-

TABELA 4 - Composição percentual das rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 10%, utilizadas no ensaio preliminar de curta duração. (COZZOLINO, 1982).

RAÇÃO	UMIDADE	CINZA	EXTRATO ETÉREO	PROTEÍNA
CASEÍNA 10%	4,3	3,9	7,9	10,8
BIOMASSA 10%	4,3	5,0	8,0	10,3

TABELA 5 - Composição percentual das rações de caseína e biomassa, aos níveis protéicos de 25% e 10%, utilizados no experimento de longa duração. (COZZOLINO , 1982).

Ração	Umidade	Cinza	Extrato Etéreo	Proteína
Caseína 25%	5,0	4,2	8,5	26,5
Biomassa 25%	5,2	7,2	9,2	26,0
Caseína 10%	4,4	4,0	8,0	10,8
Biomassa 10%	4,4	5,1	8,6	10,7

crito anteriormente, apresentou 7,3% para esta fração.

Quanto ao valor calórico das rações, verificamos que todas continham cerca de 400 Kcal para cada 100 g.

6.3 - Valor biológico da proteína da biomassa no ensaio preliminar da curta duração

O valor biológico de uma proteína não está condicionado apenas ao seu aspecto químico, pois sabemos que uma determinada proteína pode conter todos os aminoácidos em quantidade adequada para a espécie a que se destina, sem entretanto ser perfeitamente utilizada a nível celular. Assim os experimentos biológicos, contribuem para uma análise complementar do valor biológico desta proteína.

Os índices utilizados para esta avaliação, conforme já descritos anteriormente no item 5.2.2, tem sido revistos por muitos autores, que procuram aprimorá-los cada vez mais, objetivando resultados mais fidedignos⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽³⁴⁾.

A determinação do valor biológico da proteína da biomassa, bem como das análises dos órgãos, para o período experimental de curta duração, encontram-se nas Tabelas de 6 a 15.

6.3.1 - Resultados do valor biológico das rações

Utilizamos neste ensaio, rações contendo cerca de 10% de proteína, a fim de que todo o nitrogênio presente, fosse destinado para fins plásticos, pois sabemos que o excedente das necessidades proteicas do animal, quando não utilizado para sua função primária de construção de tecidos, da mesma forma que em relação aos lípides e carboidratos, será transformado em calorias e posteriormente em gordura de reserva, uma vez que o organismo não possui reserva protéica.

Na Tabela 6, apresentamos os resultados de ganho de peso dos animais, coeficientes de eficácia alimentar e protéica, calculados em função do consumo de ração e proteína respectivamente.

Analisando esta tabela, podemos verificar que o ganho de peso dos animais foi semelhante para todos os grupos, entretanto, sabemos que o índice de crescimento, embora muito utilizado como indicador do valor biológico de uma proteína, se analisado separadamente do consumo de ração e de proteína não traz resultados muito significantes.

Assim, quando levamos em consideração o consumo de ração, analisando-se o coeficiente de eficácia alimentar (CEA), verificamos que os grupos apresentaram comportamentos diferentes. A análise estatística demonstrou que a comparação entre os grupos de fêmeas alimentadas com rações de caseína e biomassa, apresentaram valores diferentes para este índice, ao

TABELA 6 - Médias e desvio padrão do ganho de peso, consumo de ração, coeficiente de eficiência alimentar (CEA), consumo de proteína, coeficiente de eficiência protéica (CEP), dos animais alimentados com ração controle de caseína e ração experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	PESO (g)		GANHO DE PESO (g)	RAÇÃO INGERIDA (g)	CEA	PROTEÍNA INGERIDA (g)	CEP
		INICIAL	FINAL					
CASEÍNA 10%	♂	38,6 ± 2,2	125,6 ± 16,6	87,0 ± 15,1	266,4 ± 44,0	0,327 ± 0,019	28,8 ± 4,8	3,025 ± 0,182
	♀	39,2 ± 2,7	128,6 ± 13,3	89,4 ± 12,1	285,3 ± 32,7	0,313 ± 0,017	30,8 ± 3,5	2,901 ± 0,159
BIOMASSA 10%	♂	38,8 ± 2,1	126,8 ± 10,6	88,0 ± 9,8	286,7 ± 25,1	0,306 ± 0,014	30,7 ± 2,7	2,866 ± 0,131
	♀	39,6 ± 2,7	123,7 ± 10,9	84,1 ± 9,8	319,6 ± 20,3	0,264 ± 0,033	34,2 ± 2,2	2,467 ± 0,309

nível de 1% de significância, sendo superior para o grupo de caseína. Por outro lado, este grupo apresentou maior consumo de ração quando comparado aos demais grupos, tal fato contraria o previsto, pois geralmente, quando uma ração possui limitações em nutrientes, existe uma tendência do animal, no sentido de ingerir menor quantidade de alimento. Com estes resultados, podemos concluir que houve um menor aproveitamento da ração para este grupo de animais.

O consumo de proteína é outro dado importante, pois além de estar relacionado ao efeito de consumo de ração, a análise química destas rações, também pode apresentar pequenas variações, que influem no resultado final.

Portanto, a partir da quantidade de proteína ingerida pelos animais, podemos determinar o coeficiente de eficácia protéica (CEP), que possibilita a análise representativa do aproveitamento da proteína para fins biológicos.

Pela análise dos nossos resultados, verificamos que os grupos de biomassa, apresentaram índices inferiores aos dos grupos controle de caseína, tanto para o coeficiente de eficácia alimentar (CEA) como para o coeficiente de eficácia protéica (CEP).

Anteriormente, a análise química dos aminoácidos, demonstrou que comparativamente à proteína da caseína, a da biomassa apresentou limitações moderadas de aminoácidos essenciais, entretanto, como já sabemos, uma proteína pode conter todos os aminoácidos essenciais em quantidade adequada e apresentar baixo rendimento biológico, devido a problemas de digestibilidade,

motivo pelo qual analisamos também o coeficiente de digestibilidade aparente das rações.

Na Tabela 7, procuramos estudar a quantidade de nitrogênio eliminado nas fezes dos animais, e verificamos que aqueles alimentados com ração de biomassa, eliminaram praticamente o dobro de fezes dos animais do grupo controle de caseína. A análise estatística destes resultados mostrou diferença significativa ao nível de 0,1%.

A partir destes dados, calculamos o coeficiente de digestibilidade aparente das rações (Tabela 8), e verificamos que os valores obtidos foram superiores para a ração controle de caseína em relação à ração experimental de biomassa, da ordem de 90% e 80%, respectivamente.

Estes resultados estão em concordância com vários autores que trabalharam com diferentes tipos de leveduras, obtendo resultados que variaram de 75 a 92% (20)(25)(31)(39)(48).

Portanto, os resultados anterioremtne descritos para CEA e CEP, podem ser explicados através deste coeficiente, mostrando que realmente houve um menor aproveitamento protéico das rações de biomassa.

Procuramos também avaliar o coeficiente de eficácia protéica real, a partir do nitrogênio absorvido das rações e portanto disponível para a síntese protéica animal (Tabela 9).

TABELA 7 - Médias e desvio padrão da quantidade de fezes eliminadas, porcentagem de nitrogênio nas fezes e total de nitrogênio eliminado, dos animais alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	FEZES DESSECADAS (g)	% N	TOTAL DE N ELIMINADO (g)
CASEÍNA 10%	♂	12,0 ± 1,2	3,78 ± 0,18	0,46 ± 0,05
	♀	13,5 ± 1,6	3,68 ± 0,17	0,50 ± 0,08
BIOMASSA 10%	♂	24,2 ± 1,8	4,15 ± 0,16	1,03 ± 0,09
	♀	24,3 ± 8,6	4,08 ± 0,24	0,99 ± 0,07

TABELA 8 - Médias e desvio padrão do nitrogênio ingerido, nitrogênio fecal, nitrogênio absorvido e coeficiente de digestibilidade aparente, dos animais alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	NITROGÊNIO			CD _{ap} NA/NI . 100
		INGERIDO	FECAL	ABSORVIDO	
CASEÍNA 10%	♂	4,60 ±0,76	0,46 ±0,05	4,15 ±0,72	90,0 ± 1,0
	♀	4,93 ±0,57	0,50 ±0,08	4,43 ±0,53	89,9 ± 1,7
BIOMASSA 10%	♂	4,91 ±0,43	1,03 ±0,09	3,91 ±0,42	79,5 ± 1,7
	♀	5,47 ±0,35	0,99 ±0,07	4,48 ±0,37	81,9 ± 2,0

NA = nitrogênio absorvido

NI = nitrogênio ingerido

CD_{ap} = coeficiente de digestibilidade aparente

TABELA 9 - Médias e desvio padrão do ganho de peso, coeficiente de digestibilidade aparente (CD_{ap}), proteína ingerida e absorvida, coeficiente de eficácia protéica (CEP) e coeficiente de eficácia protéica real (CEP_{real}), dos animais alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	GANHO PESO (g)	CD_{ap}	PROTEÍNA (g)		CEP	CEP_{real}
				Ingerida	Absorvida		
CASEÍNA 10%	♂	87,0 ±15,1	90,0 ± 1,0	28,8 ± 4,8	25,9 ± 4,3	3,025 ±0,182	3,359 ±0,202
	♀	89,4 ±12,1	89,9 ± 1,7	30,8 ± 3,5	27,7 ± 3,2	2,901 ±0,159	3,227 ±0,176
BIOMASSA 10%	♂	88,0 ± 9,8	79,5 ± 1,7	30,7 ± 2,7	24,4 ± 2,2	2,866 ±0,131	3,605 ±0,165
	♀	84,1 ± 9,8	81,9 ± 2,0	34,2 ± 2,2	28,0 ± 1,8	2,467 ±0,309	3,012 ±0,376

Os resultados contidos na Tabela 9, mostram valores superiores para o grupo de animais machos alimentados com ração de biomassa e inferiores para as fêmeas submetidas ao mesmo tratamento. Este fato sugere uma adaptação do animal, visando o melhor aproveitamento do nitrogênio presente no seu "pool" de aminoácidos.

Como o balanço nitrogenado é outro resultado importante para avaliação do valor biológico aparente e utilização protéica líquida aparente da proteína das rações, determinamos também a quantidade de nitrogênio excretado através da urina destes animais (Tabela 10), e verificamos que houve um maior volume de urina excretado, aumentando, conseqüentemente, o total de nitrogênio eliminado.

Desta forma, pudemos calcular o valor biológico aparente (VB_{ap}) e utilização protéica líquida aparente (UPL_{ap}) das rações (Tabela 11).

Nossos resultados vieram confirmar o discutido anteriormente. Assim, verificamos novamente através destes índices, a superioridade da ração controle de caseína em relação à ração experimental de biomassa.

A comparação dos resultados obtidos para os animais machos alimentados com rações de caseína e biomassa, mostrou valores superiores para a ração de caseína da ordem de 7% e 18% em relação ao VB_{ap} e UPL_{ap} respectivamente, e os resultados obtidos para as fêmeas tratadas da mesma maneira, também foram superiores para caseína da ordem de 6% e 15% para os mesmos índices.

TABELA 10 - Médias e desvio padrão do volume de urina excretado e total de nitrogênio eliminado, pelos animais alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	VOLUME DE URINA (ml)	TOTAL DE N ELIMINADO (g)
CASEÍNA 10%	♂	27,5 ±15,8	0,67 ±0,22
	♀	28,6 ±16,5	0,70 ±0,20
BIOMASSA 10%	♂	34,1 ±15,5	0,86 ±0,25
	♀	34,2 ± 6,6	0,90 ±0,08

TABELA 11 - Médias e desvio padrão do nitrogênio ingerido, nitrogênio fecal, nitrogênio urinário, balanço nitrogenado, do valor biológico aparente e utilização protéica líquida aparente, calculados em função do balanço nitrogenado, dos animais alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	NITROGÊNIO			BALANÇO NITROGENADO BN (g)	VB aparente	UPL aparente
		INGERIDO NI (g)	FECAL NF (g)	URINÁRIO NU (g)			
CASEÍNA 10%	♂	4,60 ±0,76	0,46 ±0,05	0,67 ±0,22	3,48 ±0,55	84,1 ± 3,3	75,6 ± 2,6
	♀	4,93 ±0,57	0,50 ±0,08	0,70 ±0,20	3,86 ±0,48	84,7 ± 4,5	76,6 ± 4,2
BIOMASSA 10%	♂	4,91 ±0,43	1,03 ±0,09	0,86 ±0,25	3,05 ±0,36	78,2 ± 5,3	62,1 ± 3,7
	♀	5,47 ±0,35	0,99 ±0,07	0,90 ±0,08	3,58 ±0,37	79,8 ± 2,2	65,3 ± 2,9

$$BN = NI - (NF + NU)$$

$$VB_{ap} = \frac{BN}{NA} \cdot 100$$

$$UPL_{ap} = \frac{BN}{NI} \cdot 100$$

As diferenças percentuais superiores para o Índice de utilização protéica líquida aparente são perfeitamente compreensíveis, pois este Índice relaciona apenas a quantidade de nitrogênio ingerido, sem levar em consideração o coeficiente de digestibilidade.

Vários autores tem calculado os Índices de VB_{ap} e UPL_{ap} através dos métodos de balanço nitrogenado e análise da carcaça, encontrando correlação positiva entre os dois métodos (12)(20).

Assim, procuramos também determinar estes Índices, através da análise da carcaça dos animais no início e no final da experiência.

Os resultados contidos na Tabela 12, demonstram que não houve diferenças acentuadas quanto aos teores percentuais de umidade, gordura e nitrogênio na carcaça dos animais submetidos aos diferentes tratamentos, entretanto, a quantidade total de nitrogênio na carcaça mostrou-se levemente superior para os grupos de caseína.

O cálculo do valor biológico aparente (VB_{ap}) e utilização protéica líquida aparente (UPL_{ap}) das rações, através da análise da carcaça, contidos na Tabela 13, vem nos demonstrar mais uma vez, que os resultados estão coerentes com os demais Índices estudados, e em concordância com os autores acima citados.

Como pudemos verificar ao analisar os resultados deste ensaio biológico preliminar, a biomassa obtida de Saccharomyces cerevisiae em melaço de cana de açúcar, segundo

TABELA 12 - Médias e desvio padrão do peso corporal no sacrifício, peso da carcaça, % de umidade na carcaça, % de gordura na carcaça, % de nitrogênio na carcaça e quantidade total de nitrogênio na carcaça dos animais alimentados com ração controle de caseína e ração experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	PESO		g %			NITROGÊNIO TOTAL (g)
		CORPORAL SACRIF. (g)	CARCAÇA (g)	UMIDADE	GORDURA	NITROGÊNIO	
ZERO	♂	34,5 ± 0,1	24,8 ± 1,4	70,3 ± 2,0	7,3 ± 2,4	2,77 ± 0,06	0,69 ± 0,03
	♀	34,6 ± 4,2	25,5 ± 2,5	68,5 ± 0,9	9,1 ± 1,4	2,80 ± 0,10	0,71 ± 0,07
CASEÍNA 10%	♂	125,6 ± 16,6	97,5 ± 12,6	63,1 ± 3,3	14,1 ± 4,3	2,88 ± 0,20	2,80 ± 0,40
	♀	128,6 ± 13,3	100,7 ± 10,3	60,3 ± 3,6	16,7 ± 3,8	2,90 ± 0,17	2,93 ± 0,31
BIOMASSA 10%	♂	126,8 ± 10,6	97,7 ± 9,1	61,5 ± 1,9	16,5 ± 2,5	2,74 ± 0,10	2,67 ± 0,19
	♀	123,7 ± 10,9	95,5 ± 10,1	60,7 ± 2,6	16,8 ± 3,6	2,82 ± 0,12	2,69 ± 0,21

TABELA 13 - Médias e desvio padrão do valor biológico aparente e utilização protéica líquida aparente, calculados em função da análise da carcaça dos animais alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	NITROGÊNIO						VB aparente	UPL aparente
		INGERIDO NI (g)	FECAL NF (g)	INICIAL CARCAÇA (g)	FINAL CARCAÇA (g)	ABSORVIDO NA (g)	RETIDO NR (g)		
CASEÍNA 10%	♂	4,60 ±0,76	0,46 ±0,05	0,69 ±0,03	2,80 ±0,40	4,15 ±0,72	2,11 ±0,40	50,9 ± 6,5	45,7 ± 5,5
	♀	4,93 ±0,57	0,50 ±0,08	0,71 ±0,07	2,93 ±0,31	4,43 ±0,53	2,22 ±0,31	50,1 ± 4,5	45,0 ± 3,6
BIOMASSA 10%	♂	4,91 ±0,43	1,03 ±0,09	0,69 ±0,03	2,67 ±0,19	3,91 ±0,42	1,98 ±0,19	50,6 ± 1,9	40,4 ± 1,0
	♀	5,47 ±0,35	0,99 ±0,07	0,71 ±0,07	2,69 ±0,21	4,48 ±0,37	1,98 ±0,21	44,2 ± 6,3	36,3 ± 4,7

$$VB_{ap} = \frac{NR}{NA} \cdot 100$$

$$UPL_{ap} = \frac{NR}{NI} \cdot 100$$

a tecnologia utilizada⁽⁸⁴⁾, apresentou resultados satisfatórios neste estudo de curta duração com ratos.

Verificamos que o coeficiente de digestibilidade, que é um índice importante do valor nutricional de uma proteína foi cerca de 80%, valor significativo, uma vez que sabemos que parte da quantidade de Nitrogênio ingerido é de material não protéico.

Os índices relativos a crescimento, coeficiente de eficácia alimentar (CEA) e protéica (CEP), valor biológico aparente e utilização protéica líquida, todos indicadores do valor nutricional de uma proteína, foram ligeiramente superiores para a caseína, com pequenas variações devidas ao sexo dos animais.

Entretanto, outros trabalhos de pesquisa desenvolvidos com biomassas em nosso laboratório, apresentaram resultados inferiores àqueles por nós obtidos, assim MOURA⁽⁷⁸⁾ trabalhando com biomassa obtida de Saccharomyces, sp. em subproduto de fermentação alcoólica, ao nível protéico de 8% na ração, em ratos, encontrou índices de coeficiente de eficácia alimentar (CEA) da ordem de 0,11 em 4 semanas, enquanto os nossos resultados foram de 0,31, o mesmo podendo-se dizer em relação ao coeficiente de eficácia protéica (CEP), cujos resultados foram 1,35 contra 2,87 respectivamente.

Por outro lado, MARIATH⁽⁷³⁾, trabalhando com isolado protéico de biomassa obtida de Saccharomyces carlbergensis em resíduo de fermentação alcoólica para obtenção de cerveja, ao nível protéico de 10% na ração, também para ratos, encontrou resultados semelhantes aos de MOURA, obtendo valores para CEA e CEP da

ordem de 0,12 e 1,16 respectivamente, portanto também inferiores aos obtidos em nossa experiência. Os coeficientes de digestibilidade encontrados pelos mesmos autores, foram da ordem de 70%, portanto também, em relação a este índice, obtivemos resultados superiores.

A explicação para estes resultados, poderia estar relacionada ao tipo de levedura utilizada, bem como do processo empregado para obtenção das biomassas, uma vez que em nosso experimento, utilizamos uma biomassa especialmente preparada para fins alimentares, obtida em escala industrial, ao passo que as biomassas estudadas pelos autores acima citados, foram obtidas de resíduos industriais, sendo que MARIATH⁽⁷³⁾ trabalhou com isolado protéico de biomassa obtido em escala laboratorial.

Os resultados deste ensaio preliminar, serão complementados com o ensaio de longa duração.

6.3.2 - Resultados da análise dos órgãos

A fim de avaliarmos possíveis fatores tóxicos, analisamos também o fígado e cérebro dos animais para alguns parâmetros. Os resultados obtidos para análise do fígado, encontram-se na Tabela 14.

A análise desta tabela demonstra, que no período estudado, não houve diferenças em relação ao peso do órgão e porcentagem do órgão em relação ao peso corporal dos animais. Este dado é muito importante em avaliações biológicas, pois

TABELA 14 - Médias e desvio padrão do peso do fígado, % de fígado em relação ao peso corporal, lípides totais em mg/g de fígado, lípides totais no fígado, proteínas totais em mg/g de fígado, proteínas totais no fígado, dos animais alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	PESO		% FÍGADO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL	LÍPIDES TOTAIS		PROTEÍNAS TOTAIS	
		CORPORAL SACRIF. (g)	FÍGADO (g)		mg/g DE FÍGADO	FÍGADO (mg)	mg/g DE FÍGADO	FÍGADO (g)
ZERO	♂	± 34,5 ± 0,1	± 1,6 ± 0,1	± 4,50 ± 0,16	± 46,77 ± 0,18	± 72,49 ± 2,06	± 246,0 ± 28,6	± 0,383 ± 0,057
	♀	± 34,6 ± 4,2	± 1,6 ± 0,2	± 4,52 ± 0,27	± 38,50 ± 1,56	± 60,69 ± 12,04	± 212,9 ± 7,1	± 0,335 ± 0,064
CASEÍNA 10%	♂	± 125,6 ± 16,6	± 5,8 ± 0,8	± 4,62 ± 0,58	± 46,93 ± 6,25	± 272,98 ± 67,17	± 176,4 ± 16,4	± 1,012 ± 0,153
	♀	± 128,6 ± 13,3	± 5,9 ± 0,7	± 4,58 ± 0,20	± 46,89 ± 4,78	± 278,32 ± 56,49	± 183,3 ± 10,7	± 1,082 ± 0,147
BIOMASSA 10%	♂	± 126,8 ± 10,6	± 6,1 ± 0,8	± 4,77 ± 0,30	± 68,35 ± 13,39	± 420,67 ± 120,89	± 186,3 ± 9,0	± 1,129 ± 0,151
	♀	± 123,7 ± 10,9	± 5,8 ± 0,6	± 4,72 ± 0,35	± 63,77 ± 11,40	± 370,78 ± 63,82	± 220,0 ± 28,4	± 1,273 ± 0,117

sabemos que animais desnutridos, quer em proteínas e/ou calorias, apresentam entre outras alterações, uma diminuição no peso dos órgãos⁽²⁾⁽³⁾⁽⁹⁾⁽³⁰⁾⁽⁵³⁾⁽⁶¹⁾⁽⁷²⁾⁽¹⁰⁸⁾⁽¹²⁶⁾⁽¹²⁸⁾. Tal fato não foi observado neste ensaio preliminar.

Analizamos também o teor de proteínas totais e lípides totais neste órgão, verificando que houve diferença significativa em relação ao teor de lípidos totais entre os animais alimentados com ração à base de caseína comparativamente aos de biomassa. Os valores superiores encontrados para os grupos alimentados com a fonte protéica de biomassa, poderiam ser facilmente explicados, se a comparação entre as proteínas da biomassa e da caseína tivessem apresentado deficiência acentuada de aminoácidos sulfurados, fato que não ocorreu, assim neste caso, também os animais alimentados com ração à base de caseína, deveriam apresentar este aumento.

Uma segunda hipótese para explicar este fenômeno, poderia estar condicionada à diminuição da taxa protéica de 10% para cerca de 8% para a proteína da biomassa, devido aos 20% de nitrogênio não protéico, encontrado na determinação do amino - grama e em concordância com a maioria dos autores pesquisados. Desta forma, uma menor disponibilidade de aminoácido para a síntese protéica também diminuiria a taxa de síntese de lipo - proteínas de baixa densidade responsáveis pelo transporte dos triglicerídeos para fora do fígado, acumulando-se, portanto , neste órgão⁽⁴⁰⁾⁽⁷¹⁾.

Em relação aos teores encontrados para proteínas totais, verificamos que também foram superiores para os grupos

de biomassa, principalmente no caso das fêmeas. A explicação para esta observação é difícil, porém sabendo-se que a composição de um tecido está na dependência quantitativa de outros constituintes, talvez uma alteração no teor de umidade e/ou glicogênio, poderiam ter sido responsáveis por este aumento.

Os estudos realizados no cérebro dos animais, (Tabela 15) não indicaram alterações em relação ao peso do órgão, porcentagem de órgão em relação ao peso corporal do animal e proteínas totais no órgão.

Estes resultados já eram esperados, pois sabemos que o cérebro do rato se desenvolve até os 21 dias de vida⁽²⁾(126)(128), entretanto, como no experimento de longa duração, pretendemos analisar estes parâmetros, realizamos estas análises, a fim de correlacionarmos os dados com este experimento inicial.

TABELA 15 - Médias e desvio padrão do peso do cérebro, % de cérebro em relação ao peso corporal, proteínas totais em mg/g de cérebro e proteínas totais do cérebro, dos animais alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, durante 28 dias de experiência. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	SEXO	PESO		% CÉREBRO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL	PROTEÍNAS TOTAIS	
		CORPORAL SACRIF. (g)	CÉREBRO (g)		mg/g DE CÉREBRO	CÉREBRO (g)
ZERO	♂	$\pm 34,5$ $\pm 0,1$	$\pm 1,3$ $\pm 0,0$	$\pm 3,77$ $\pm 0,01$	$\pm 129,3$ $\pm 1,2$	$\pm 0,168$ $\pm 0,002$
	♀	$\pm 34,6$ $\pm 4,2$	$\pm 1,3$ $\pm 0,0$	3,76	$\pm 133,2$ $\pm 6,3$	$\pm 0,173$ $\pm 0,008$
CASEÍNA 10%	♂	$\pm 125,6$ $\pm 16,6$	$\pm 1,6$ $\pm 0,1$	$\pm 1,27$ $\pm 0,17$	$\pm 145,2$ $\pm 6,3$	$\pm 0,233$ $\pm 0,017$
	♀	$\pm 128,6$ $\pm 13,3$	$\pm 1,5$ $\pm 0,0$	$\pm 1,17$ $\pm 0,12$	$\pm 138,1$ $\pm 11,6$	$\pm 0,207$ $\pm 0,017$
BIOMASSA 10%	♂	$\pm 126,8$ $\pm 10,6$	$\pm 1,5$ $\pm 0,2$	$\pm 1,18$ $\pm 0,14$	$\pm 143,8$ $\pm 12,5$	$\pm 0,215$ $\pm 0,030$
	♀	$\pm 123,7$ $\pm 10,9$	$\pm 1,5$ $\pm 0,0$	$\pm 1,21$ $\pm 0,10$	$\pm 149,4$ $\pm 26,2$	$\pm 0,227$ $\pm 0,040$

6.4 - Resultado do valor nutricional da biomassa no estudo de longa duração.

Como pudemos verificar pela análise anterior, a fonte protéica escolhida para estudo no presente trabalho, mostrou-se de boa qualidade, justificando portanto o interesse de estudos mais prolongados, visando a possibilidade da utilização na alimentação humana e/ou animal.

No Brasil, esta fonte protéica já vem sendo pesquisada há alguns anos⁽²³⁾⁽²⁴⁾⁽⁵⁰⁾⁽⁷³⁾⁽⁷⁹⁾⁽⁹¹⁾⁽⁹⁷⁾ demonstrando que existe grande interesse na sua utilização. Para melhor elucidar este fato, verificamos que com a crise energética mundial, a indústria do álcool tornou-se importante, trazendo como consequência uma disponibilidade de resíduos, normalmente poluentes, que poderiam ser convertidos em fonte protéica de baixo custo.

A introdução destes produtos, na alimentação animal já é realidade no Brasil, embora não seja muito divulgada.

Entretanto, ressaltamos mais uma vez a importância de experimentos controlados de longa duração, conforme as recomendações dos órgãos competentes, em relação as novas fontes protéicas⁽³⁾⁽⁶⁾⁽⁵¹⁾⁶²⁾, inicialmente utilizando animais, a fim de obter-se resultados que tragam garantias de inocuidade para a espécie estudada. Posteriormente, a partir dos resultados obtidos, esta fonte poderia ser introduzida experimentalmente no ser humano, em escala reduzida, como meio de evitar possíveis efeitos adversos.

Assim, realizamos o presente estudo, conforme descrito no item planejamento em três gerações de animais.

Neste ensaio, introduzimos o teor protéico de 25% nas rações, uma vez que ao estudarmos gerações, pretendemos manter os animais dentro dos limites protéicos normalmente utilizados para manutenção, além de verificar possíveis fatores tóxicos, advindos do excesso de ingestão.

Portanto, nesta fase, trabalhamos com 4 grupos de animais, que receberam rações controle de caseína e experimentais de biomassa, aos níveis protéicos de 25% e 10%, subdividi

dos em 8 grupos, pois trabalhamos com animais machos e fêmeas.

A importância da fonte protéica utilizada nas rações dos animais, estudada em ensaio de gerações, mostra o valor da mesma nos diferentes períodos do desenvolvimento do animal, desde a fase intrauterina até a fase adulta, e dependendo da época em que esta se inicia, os resultados também podem variar.

Em nossos estudos, os animais da primeira geração, foram obtidos do cruzamento de ratos normais, mantidos no biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

O início do tratamento deu-se na fase de lactação, quando as ratas passaram a receber rações experimentais. Portanto, nesta fase considerada como uma das mais críticas para o desenvolvimento do rato⁽⁹⁾⁽⁵³⁾⁽⁶⁵⁾⁽⁷⁷⁾⁽¹²⁶⁾, da mesma forma que para outras espécies de animais, já testamos a eficiência das rações.

6.4.1 - Resultados de Fertilidade

Após o desmame, 72 animais, sendo 48 fêmeas e 24 machos, foram colocados em gaiolas individuais e mantidos com o mesmo tratamento iniciado com as suas respectivas mães, até a fase adulta com cerca de 120 dias, sendo então cruzados entre si para obtenção da 2a. geração.

Os resultados obtidos neste cruzamento, encontram-se nas Tabelas 16 e 17. A análise destas tabelas causou grande

TABELA 16 - Resultados obtidos do cruzamento dos animais da 1a. geração, alimentados com rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 25%, até a fase adulta. (COZZOLINO, 1982)

GRUPOS	NÚMERO DE RATAS CRUZADAS	NÚMERO DA RATA PRENHE *	NÚMERO DE FILHOTES	PESO DA NINHADA (g)	PESO MÉDIO DOS FILHOTES (g)
CASEÍNA 25%		5	9	49,3	5,4
	10	10	9	45,0	5,0
		12	12	63,3	5,2
BIOMASSA 25%	10	40	6	34,5	5,7

* De acordo com o protocolo da experiência.

TABELA 17 - Resultados obtidos do cruzamento dos animais da 1a. geração, alimentados com rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 10%, até a fase adulta. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	NÚMERO DE RATAS CRUZADAS	NÚMERO DA RATA PRENHE *	NÚMERO DE FILHOTES	PESO DA NINHADA (g)	PESO MÉDIO DOS FILHOTES (g)
CASEÍNA 10%	10	19	13	57,5	4,4
		20	9	46,8	5,2
		21	10	63,3	6,3
		22	7	26,5	3,7
		23	9	42,0	4,6
		26	6	38,5	6,4
		28	7	29,3	4,1
		30	11	67,0	6,0
BIOMASSA 10%	10	—	—	—	—

* De acordo com o protocolo da experiência

surpresa, pois os animais alimentados com rações de biomassa em ambos níveis protéicos, apresentaram baixo índice de fertilidade, contrariamente aos resultados obtidos por outros autores⁽⁵⁾ (45)(79)(110).

Verificamos assim na Tabela 16, que das 10 ratas que receberam ração de biomassa, ao nível protéico de 25%, apenas 1 deu cria, e quando o nível protéico foi limitado a 10% na ração (Tabela 17), o resultado foi nulo.

Por outro lado, os animais que receberam ração de caseína ao nível protéico de 25%, também apresentaram baixa fertilidade, não ocorrendo o mesmo para o grupo de animais alimentados com ração de caseína ao nível protéico de 10%, que das 10 ratas cruzadas, 8 obtiveram filhotes.

Com estes resultados, não poderíamos prosseguir em nosso experimento, fato que nos levou a tentar um 2º cruzamento, utilizando as fêmeas do experimento que não ficaram prenhes, com ratos machos normais da nossa colônia, mantidos com ração comercial para ratos.

Os resultados deste segundo cruzamento, encontram-se nas Tabelas 18 e 19.

Novamente os resultados nos surpreenderam, pois houve um acentuado aumento do índice de fertilidade para os grupos de fêmeas alimentadas com rações de biomassa, embora ao nível protéico de 10% na ração, houve um alto índice de mortalidade, da ordem de 37 %. Talvez este fato possa ser atribuído a um instinto de defesa da mãe, que não podendo suportar uma lactação, mata, e muitas vezes, come seus próprios filhotes.

TABELA 18 - Resultados do segundo cruzamento das fêmeas da 1a. geração, alimentadas com rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 25%, com ratos machos do biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, criados com ração comercial . (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	NÚMERO DE RATAS CRUZADAS	NÚMERO DA RATA PRENHE**	NÚMERO DE FILHOTES	PESO DA NINHADA (g)	PESO MÉDIO DOS FILHOTES (g)
CASEÍNA 25%	7*	8	12	64,2	5,3
		1	8	52,0	6,5
BIOMASSA 25%	9*	39	9	43,0	4,7
		42	9	52,4	5,8
		43	3	14,6	4,8
		47	11	67,0	6,0

*Ratas que não ficaram prenhes no primeiro cruzamento.

**De acordo com o protocolo da experiência

TABELA 19 - Resultados do segundo cruzamento das fêmeas da 1a. geração, alimentados com rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 10%, com ratos machos do biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, criados com ração comercial . (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	NÚMERO DE RATAS CRUZADAS	NÚMERO DA RATA PRENHE **	NÚMERO DE FILHOTES	PESO DA NINHADA (g)	PESO MÉDIO DOS FILHOTES (g)
CASEÍNA 10%	2*	25	11	55,8	5,0
		55	12 (5 mortos)	61,2	5,1
		56	3 (1 morto)	16,0	5,3
BIOMASSA 10%	10*	57	10	45,5	4,5
		60	3 (3 mortos)	19,2	6,4
		61	13 (13 mortos)	60,8	4,6
		64	10	48,2	4,8
		65	6 (3 mortos)	23,8	3,9

* Ratas que não ficaram prenhes do primeiro cruzamento.

** De acordo com o protocolo da experiência

Outros autores tem também verificado, altos índices de mortalidade em animais, decorrentes de estados de desnutrição⁽⁹⁾ (26).

Destes cruzamentos, verificamos que o peso corporal dos filhotes ao nascer, foi semelhante, não demonstrando alterações aparentes devidas ao tratamento.

Na época do desmame, estes animais novamente foram colocados em gaiolas individuais e alimentados até a fase adulta, nas mesmas condições anteriormente descritas, sendo então cruzados para obtenção da 3a. geração. Entretanto, como pode-se observar através das Tabelas 20 e 21, o número de animais cruzados foi reduzido, devido aos problemas na obtenção da 2a. geração.

Analisando-se portanto estas tabelas, verificamos que novamente o fenômeno se repetiu, os animais alimentados com rações de biomassa em ambos os níveis protéicos, não produziram crias.

Verificamos também que o grupo de fêmeas alimentadas com ração de caseína, ao nível protéico de 10%, apresentou um índice de fertilidade inferior ao anterior, sem entretanto ser significativo devido ao pequeno número de animais. Porém, este fato é perfeitamente compreensível, uma vez que estes animais sofreram deficiência protéica desde a fase gestacional até a fase adulta.

Assim, novamente tentamos um segundo cruzamento com ratos machos normais, seguindo o mesmo esquema anterior da 1a. geração. Os resultados deste segundo cruzamento encontram-se

TABELA 20 - Resultados obtidos do cruzamento dos animais da 2a. geração, alimentados com rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 25%, até a fase adulta. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	NÚMERO DE RATAS CRUZADAS	NÚMERO DA RATA PRENHE *	NÚMERO DE FILHOTES	PESO DA NINHADA (g)	PESO MÉDIO DOS FILHOTES (g)
CASEÍNA 25%	4	1	3	18,0	6,0
		2	10	55,0	5,5
		3	9	46,0	5,1
		4	6	33,7	5,6
BIOMASSA 25%	4	—	—	—	—

* De acordo com o protocolo da experiência

TABELA 21 - Resultados obtidos do cruzamento dos animais da 2a. geração, alimentados com rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 10%, até a fase adulta. (COZZOLINO, 1982)

GRUPOS	NÚMERO DE RATAS CRUZADAS	NÚMERO DA RATA PRENHE *	NÚMERO DE FILHOTES	PESO DA NINHADA (g)	PESO MÉDIO DOS FILHOTES (g)
CASEÍNA 10%	4	7	12	51,7	4,3
		9	9	52,7	5,9
BIOMASSA 10%	4	—	—	—	—

* De acordo com o protocolo da experiência

nas Tabelas 22 e 23. Como podemos observar, o fato se repetiu, entretanto, não foi possível a obtenção da 3a. geração de animais alimentados com ração de biomassa ao nível protéico de 10%, ressaltando novamente a importância do teor protéico da ração.

Com estes resultados, imaginamos que algum fator presente na biomassa, poderia estar interferindo na reprodutibilidade dos animais machos submetidos a este tratamento. Assim, realizamos mais 3 experimentos paralelos, que não constam deste trabalho, para tentar descobrir a que nível este fato poderia estar ocorrendo. Em um deles, selecionamos 6 animais machos de nossa colônia e novamente os alimentamos com ração de biomassa ao nível protéico de 25%, até a fase adulta, cruzando-os com ratas normais do nosso biotério e novamente não obtivemos crias. Num segundo experimento, também com animais machos normais alimentados até a fase adulta com ração de biomassa, foram realizados cortes histológicos dos testículos, sugerindo-se uma imaturidade a nível de formação de espermatozoides, entretanto sem poder ser comprovada. Finalmente, em outro experimento seguindo o mesmo esquema anterior, com análises mais detalhadas, realizadas no Instituto de Ciências Biomédicas da USP*, não observamos anormalidades de testículo.

Nossos resultados estão em desacordo com a maioria dos autores que trabalharam com gerações de animais alimenta-

*Agradecemos a Dra. Lor Cury, pela especial atenção, ao realizar estas análises.

TABELA 22 - Resultados do segundo cruzamento das fêmeas da 2a. geração, alimentadas com rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 25%, com ratos machos do biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, criados com ração comercial. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	NÚMERO DE RATAS CRUZADAS	NÚMERO DA RATA PRENHE**	NÚMERO DE FILHOTES	PESO DA NINHADA (g)	PESO MÉDIO DOS FILHOTES (g)
CASEÍNA 25%	—	—	—	—	—
		13	9	52,9	5,9
BIOMASSA 25%	4*	14	6	27,0	4,5
		15	12	63,8	5,3
		16	13	64,1	4,9

* Ratas que não ficaram prenhes no primeiro cruzamento

** De acordo com o protocolo da experiência

TABELA 23 - Resultados do segundo cruzamento das fêmeas da 2a. geração alimentadas com rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 10%, com ratos do biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, criados com ração comercial. (COZZOLINO, 1982).

GRUPOS	NÚMERO DE RATAS CRUZADAS	NÚMERO DA RATA PRENHE**	NÚMERO DE FILHOTES	PESO DA NINHADA (g)	PESO MÉDIO DOS FILHOTES (g)
CASEÍNA 10%	2*	10	9	48,0	5,3
BIOMASSA 10%	4*	—	—	—	—

* Ratas que não ficaram prenhes no primeiro cruzamento.

** De acordo com o protocolo da experiência

dos com fonte protéica de leveduras.

O único caso em que se observou alterações na reprodução dos animais alimentados com esta fonte protéica, constatou-se ser devida à deficiência de vitamina E nas rações, que foram preparadas somente à base de proteínas de leveduras sem suplementação de vitaminas, o que não foi o nosso caso.

6.4.2 - Resultados do valor biológico da proteína da biomassa em estudos de gerações

As mesmas considerações descritas no ensaio biológico de curta duração, podem ser levantadas novamente, uma vez que repetimos os mesmos parâmetros anteriormente estudados, neste ensaio de longa duração, com gerações de animais.

Entretanto, procuramos analisá-los de forma global, evidenciando quando necessário as diferenças relativas às 3 gerações, observadas dentro do mesmo grupo, como também entre os diferentes grupos.

Assim, nas Tabelas 24 e 25 e Figuras de 1 a 4 apresentamos os resultados obtidos em relação ao peso corporal dos animais, submetidos aos diferentes tratamentos.

Analisando-se estas tabelas, verificamos que os grupos de animais alimentados com rações controle de caseína, mostraram-se em todos os casos analisados, superiores aos grupos de animais alimentados com rações de biomassa.

TABELA 24 - Médias e desvio padrão do peso corporal (g), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível proteico de 25%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (dias)				
			0	30	60	90	120
1 a.	CASEÍNA 25%	♂	—	56,9 (6) ± 3,8	219,0 (6) ± 15,3	302,0 (6) ± 20,7	325,2 (6)* ± 20,5
		♀	—	63,2 (12) ± 7,3	178,3 (12) ± 12,4	238,8 (12) ± 15,0	273,2 (12) ± 24,0
	BIOMASSA 25%	♂	—	51,1 (6) ± 1,3	155,1 (6) ± 7,6	226,4 (6) ± 19,9	256,5 (6) ± 20,1
		♀	—	48,6 (12) ± 3,3	131,9 (12) ± 6,0	178,7 (12) ± 7,2	199,0 (12) ± 6,9
2 a.	CASEÍNA 25%	♂	5,5 (50)	52,7 (2) ± 0,3	225,7 (2) ± 0,4	319,8 (2) ± 17,8	349,5 (2) ± 16,5
		♀	—	66,6 (13) ± 12,3	180,4 (10) ± 12,1	229,3 (7) ± 22,9	239,6 (4) ± 5,6
	BIOMASSA 25%	♂	5,6 (38)	45,1 (4) ± 7,4	121,3 (4) ± 30,7	198,0 (4) ± 44,6	224,3 (2) ± 19,3
		♀	—	34,9 (11) ± 8,2	102,3 (5) ± 7,3	151,2 (5) ± 11,2	177,1 (4) ± 10,7
3 a.	CASEÍNA 25%	♂	5,6 (28)	63,3 (5) ± 7,0	246,3 (3) ± 13,8	302,3 (2) ± 6,7	—
		♀	—	56,5 (4) ± 3,5	180,4 (3) ± 5,4	233,7 (1) —	—
	BIOMASSA 25%	♂	5,2 (40)	41,4 (8) ± 4,1	112,4 (7) ± 10,7	178,1 (7) ± 23,7	—
		♀	—	36,5 (9) ± 3,2	105,2 (7) ± 10,2	141,5 (2) ± 0,4	—

*Entre parenteses o número de animais.

TABELA 25 - Médias e desvio padrão do peso corporal (g), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível proteico de 10%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPQS	SEXO	PERIODO (dias)				
			0	30	60	90	120
1a.	CASEÍNA 10%	♂	—	50,1 (6) ± 0,8	140,0 (6) ± 5,5	223,6 (6) ± 10,3	275,2 (6)* ± 10,7
		♀		50,5 (12) ± 5,5	129,9 (12) ± 7,2	184,0 (12) ± 9,2	218,1 (12) ± 11,4
	BIOMASSA 10%	♂	—	49,6 (6) ± 1,6	99,2 (6) ± 3,9	160,1 (6) ± 9,6	194,9 (6) ± 6,5
		♀		50,7 (12) ± 2,4	120,2 (12) ± 11,0	170,8 (12) ± 12,2	196,3 (12) ± 12,1
2a.	CASEÍNA 10%	♂	5,1 (83)	42,6 (2) ± 0,9	152,5 (2) ± 9,0	220,9 (2) ± 6,3	268,2 (2) ± 20,8
		♀		39,7 (13) ± 3,1	135,0 (10) ± 8,0	190,1 (7) ± 12,6	212,6 (4) ± 10,7
	BIOMASSA 10%	♂	4,8 (57)	19,7 (4) ± 1,6	53,8 (4) ± 8,0	102,2 (1) —	138,0 (1) —
		♀		24,6 (10) ± 7,6	53,3 (7) ± 16,0	92,6 (7) ± 22,0	108,4 (4) ± 10,6
3a.	CASEÍNA 10%	♂	5,1 (30)	47,7 (5) ± 5,8	186,8 (3) ± 7,5	248,5 (2) ± 6,5	—
		♀		48,7 (4) ± 3,8	144,4 (3) ± 4,7	188,2 (1) —	—
	BIOMASSA 10%	♂	—	—	—	—	—
		♀		—	—	—	—

*Entre parenteses o número de animais.

As diferenças em relação ao peso corporal dos animais aos 30 dias de idade, no início da primeira geração, demonstraram a influência da ração da mãe no período de lactação, em relação ao desenvolvimento dos filhotes.

Assim, verificamos que os filhotes recém desmamados, de ratas alimentadas com ração de caseína ao nível protéico de 25% apresentaram peso corporal superior ao dos demais grupos, mostrando a importância da qualidade e quantidade de proteína na ração neste período.

Após 4 semanas iniciais da primeira geração, avaliamos novamente os pesos corporais dos animais e verificamos que houve diferenças de comportamento entre os vários grupos estudados. A análise estatística destes resultados, encontram-se na Tabela 26.

A análise desta tabela demonstra que houve diferença significativa ao nível de 0,1%, entre os grupos de animais alimentados com ração de caseína ao nível protéico de 25% em relação ao sexo, o mesmo podendo-se dizer em relação aos grupos de animais alimentados com ração de biomassa ao nível protéico de 25%. Este fato é perfeitamente compreensível, pois sabe-se da fisiologia, que normalmente os machos crescem mais do que as fêmeas.

Em relação aos grupos de animais alimentados com rações de caseína ao nível protéico de 10%, observamos também diferença significativa em relação ao sexo, porém ao nível de 5%. Neste caso, dada a menor disponibilidade protéica, esta diferença não mostrou-se tão acentuada como no grupo anterior.

TABELA 26 - Resultados da análise de variância multivariada para o peso corporal da 1a. geração de animais, do desmame até 30 dias, alimentados com rações de caseína e biomassa, aos níveis proteicos de 25% e 10%. (COZZOLINO, 1982).

COMPARAÇÕES	F	GL	p	CONCLUSÕES
Caseína 25% ♀ x Caseína 25% ♂	64.8862	1,62	0,0001	***
Biomassa 25% ♀ x Biomassa 25% ♂	21.4733	1,62	0,0001	***
Caseína 10% ♀ x Caseína 10% ♂	6.1333	1,62	0,0152	*
Biomassa 10% ♀ x Biomassa 10% ♂	1.0908	1,62	0,3008	N.S.
Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀	122.2476	1,62	0,0001	***
Caseína 25% ♂ x Biomassa 25% ♂	120.6301	1,62	0,0001	***
Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀	11.4889	1,62	0,0016	**
Caseína 10% ♂ x Biomassa 10% ♂	25.0838	1,62	0,0001	***
(Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀) (Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀)	32.5191	1,62	0,0001	***
(Caseína 25% ♂ x Biomassa 25% ♂) (Caseína 10% ♂ x Biomassa 10% ♂)	17.0012	1,62	0,0003	***

*** - significativa ao nível de 0,1%

** - significativa ao nível de 1%

* - significativa ao nível de 5%

N.S. - não significativa

Quanto aos grupos de animais alimentados com ração de biomassa ao nível protéico de 10%, os resultados não apresentaram diferenças significativas, confirmando uma vez mais o que já dissemos anteriormente em relação à qualidade e quantidade protéica de ração.

Por outro lado, comparando-se os grupos de animais controle e experimentais alimentados com rações ao nível protéico de 25%, verificamos que os grupos de caseína, tanto machos como fêmeas mostraram-se superiores aos de biomassa, ao nível de 0,1% de significância. Em relação aos grupos de animais controle e experimentais ao nível protéico de 10%, observamos que quando a comparação foi realizada com animais machos, a diferença foi significativa ao nível de 0,1%, entretanto, quando a comparação foi com as fêmeas, verificamos que a diferença foi significativa ao nível de 1%. Tal fato pode ser explicado, uma vez que os animais machos, alimentados com uma ração cuja fonte proteica foi de qualidade superior, puderam obter maior aproveitamento da ração que influenciou em sua capacidade de síntese protéica, conseqüentemente em relação ao seu desenvolvimento fisiológico, fato que não ocorreu com os animais alimentados com ração de biomassa ao nível protéico de 10%, que não tiveram condições de desenvolver esta capacidade, comportando-se portanto de forma semelhante às fêmeas do mesmo grupo, motivo pelo qual, a comparação entre os grupos de fêmeas alimentadas com rações de caseína e biomassa apresentaram-se diferentes a um menor nível de significância.

Quando a comparação foi realizada para se verificar

a influência do teor protéico nas diferenças entre os grupos submetidos aos dois tratamentos, verificamos que houve diferença significativa ao nível de 0,1%, tanto para machos como para fêmeas.

Aos 90 dias de vida, o peso corporal dos animais foi novamente analisado, e verificamos através da Tabela 27, que novamente os grupos iniciais de animais alimentados com caseína e biomassa, ao nível protéico de 25%, comportaram-se da mesma forma anterior em relação ao sexo, portanto os animais machos continuaram apresentando um desenvolvimento superior ao das fêmeas, com diferenças significativas em relação ao peso corporal ao nível de 0,1%.

Entretanto, em relação aos grupos de animais submetidos às rações de caseína e biomassa ao nível protéico de 10%, obtivemos um comportamento diferente para os grupos de animais alimentados com caseína, que aumentaram as diferenças anteriormente observadas entre animais machos e fêmeas, para o nível significativo de 0,1%. Não verificamos tal fato em relação aos grupos de animais alimentados com biomassa.

A comparação entre os grupos de animais alimentados com rações de caseína e biomassa, ao nível protéico de 25% , novamente aos 90 dias de vida do animal, apresentou diferença significativa de peso corporal ao nível de 0,1%, estes dados referem-se à comparação realizada entre machos e entre fêmeas .

Por outro lado, quando a comparação foi realizada entre os grupos de animais alimentados com rações de caseína e biomassa ao nível protéico de 10%, verificamos novamente o ca-

TABELA 27 - Resultados da análise de variância multivariada para o peso corporal da 1ª. geração de animais, do desmame até 60 dias, alimentados com rações de caseína e biomassa, aos níveis protéicos de 25% e 10%. (COZZOLINO, 1982).

COMPARAÇÕES	F	GL	p	CONCLUSÃO
Caseína 25% ♀ x Caseína 25% ♂	79.2202	1,62	0,0001	***
Biomassa 25% ♀ x Biomassa 25% ♂	33.2699	1,62	0,0001	***
Caseína 10% ♀ x Caseína 10% ♂	16.2733	1,62	0,0003	***
Biomassa 10% ♀ x Biomassa 10% ♂	1.8578	1,62	0,1745	N.S.
Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀	140.0629	1,62	0,0001	***
Caseína 25% ♂ x Biomassa 25% ♂	120.8018	1,62	0,0001	***
Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀	10.1758	1,62	0,0026	**
Caseína 10% ♂ x Biomassa 10% ♂	47.3127	1,62	0,0001	***
(Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀) (Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀)	38.7489	1,62	0,0001	***
(Caseína 25% ♂ x Biomassa 25% ♂) (Caseína 10% ♂ x Biomassa 10% ♂)	6.3614	1,62	0,0136	*

*** - significativa ao nível de 0,1%

** - significativa ao nível de 1%

* - significativa ao nível de 5%

N.S. - não significativa

so anterior, com os grupos de animais machos apresentando diferenças significativas ao nível de 0,1% e as fêmeas ao nível de 1%. Convém ressaltarmos neste caso, como já discutimos desde o início deste trabalho, que os grupos de animais alimentados com ração da biomassa, embora apresentando um teor de nitrogênio na ração semelhante ao da ração de caseína, parte deste nitrogênio é de origem não proteica, que não sendo totalmente absorvida pelo organismo, interferem no processo de digestibilidade, confirmando uma vez mais o menor valor biológico desta proteína quando comparada à de caseína.

Em relação à influência do teor protéico entre as diferenças observadas entre os grupos controle e experimentais, verificamos que neste caso, o grupo de fêmeas apresentaram diferença significativa ao nível de 0,1%, e em relação aos machos, esta diferença foi significativa ao nível de 5%.

Estes últimos resultados novamente confirmam as diferenças observadas em relação ao comportamento fisiológico dos animais machos e fêmeas.

Na fase adulta dos animais, com 120 dias, esta mesma análise (Tabela 28) demonstrou que as tendências anteriores foram mantidas, que os grupos de animais alimentados com ração contendo biomassa ao nível protéico de 10%, comportaram-se de forma semelhante em relação ao sexo, que a comparação entre os grupos de animais fêmeas alimentadas com ração de caseína e biomassa ao nível protéico de 10%, aumentaram a diferença entre eles para o nível de 0,1% e as comparações relativas aos teores protéicos, indicaram que as diferenças entre os grupos

TABELA 28 - Resultados da análise de variância multivariada para o peso corporal da 1a. geração de animais, do desmame até 90 dias, alimentados com rações de caseína e biomassa, aos níveis protéicos de 25% e 10%. (COZZOLINO, 1982).

COMPARAÇÕES	F	GL	p	CONCLUSÃO
Caseína 25% ♀ x Caseína 25% ♂	58.6671	1,62	0,0001	***
Biomassa 25% ♀ x Biomassa 25% ♂	25.0303	1,62	0,0001	***
Caseína 10% ♀ x Caseína 10% ♂	28.0076	1,62	0,0001	***
Biomassa 10% ♀ x Biomassa 10% ♂	0.7518	1,62	0,6066	N.S.
Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀	97.4787	1,62	0,0001	***
Caseína 25% ♂ x Biomassa 25% ♂	79.0605	1,62	0,0001	***
Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀	13.2228	1,62	0,0009	***
Caseína 10% ♂ x Biomassa 10% ♂	66.4377	1,62	0,0001	***
(Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀) (Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀)	23.4193	1,62	0,0001	***
(Caseína 25% ♂ x Biomassa 25% ♂) (Caseína 10% ♂ x Biomassa 10% ♂)	0.4244	1,62	0,5242	N.S.

*** - significativa ao nível de 0,1%

** - significativa ao nível de 1%

* - significativa ao nível de 5%

N.S. - não significativa

de animais machos alimentados com ração de caseína e biomassa ao nível protéico de 25%, com as diferenças entre os grupos de animais machos alimentados com rações de caseína e biomassa ao nível de 10%, não foram significativas aos 120 dias de vida dos animais, indicando que para estes grupos as diferenças observadas em relação à qualidade protéica da ração se manteve nos dois níveis protéicos testados.

Em relação à segunda geração, a análise estatística foi realizada apenas com os grupos de fêmeas, pois o número de machos foi muito reduzido.

Estas análises encontram-se nas Tabelas 29, 30 e 31, para os 60, 90 e 120 dias respectivamente.

Verificamos, portanto, na Tabela 29, que os grupos de animais fêmeas alimentadas com rações de caseína e biomassa ao nível protéico de 25%, comportaram-se diferentemente em relação ao peso corporal ao nível de 0,1%, o mesmo podendo-se dizer dos mesmos grupos ao nível protéico de 10%. Quando a comparação foi realizada a fim de se verificar a influência do nível protéico em relação às diferenças entre os grupos, verificamos que estas não foram significativas. Aos 90 dias de vida dos animais da 2a. geração (Tabela 30), verificamos a mesma tendência anterior, enquanto aos 120 dias, embora as diferenças persistissem, foram em menor grau, indicando uma adaptação orgânica do animal ao tipo de alimentação submetida, no sentido de manter seu desenvolvimento no mesmo ritmo até a fase adulta, diminuindo conseqüentemente as diferenças observadas na fase adulta.

TABELA 29 - Resultados da análise de variância multivariada para o peso corporal da 2a. geração de animais, do desmame até 30 dias, alimentados com rações de caseína e biomassa, aos níveis protéicos de 25% e 10%. (COZZOLINO, 1982).

COMPARAÇÕES	F	GL	p	CONCLUSÃO
Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀	37.9269	1,26	0,0001	***
Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀	27.1472	1,26	0,0001	***
(Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀) (Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀)	0.1091	1,26	0.7426	N.S.

*** - significativa ao nível de 0,1%

N.S.- não significativa

TABELA 30 - Resultados da análise de variância multivariada para o peso corporal da 2a. geração de animais, do desmame até 60 dias, alimentados com rações de caseína e biomassa, aos níveis protéicos de 25% e 10%. (COZZOLINO, 1982).

COMPARAÇÕES	F	GL	p	CONCLUSÃO
Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀	19.8035	1,20	0,0004	***
Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀	39.7566	1,20	0,0001	***
(Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀) (Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀)	2.9806	1,20	0,0964	N.S.

*** - significativa ao nível de 0,1%

N.S. - não significativa

TABELA 31 - Resultados da análise de variância multivariada para o peso corporal da 2a. geração de animais, do desmame até 90 dias, alimentados com rações de caseína e biomassa, aos níveis protéicos de 25% e 10%. (COZZOLINO, 1982).

COMPARAÇÕES	F	GL	p	CONCLUSÕES
Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀	9.8419	1,10	0,0104	*
Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀	5.5484	1,10	0,0386	*
(Caseína 25% ♀ x Biomassa 25% ♀) (Caseína 10% ♀ x Biomassa 10% ♀)	0.5256	1,10	0,5092	N.S.

* - significativa ao nível de 5%

N.S. - não significativa

A aplicação da análise estatística para os resultados obtidos na 3a. geração não foi possível de ser realizada, devido ao número reduzido de animais, entretanto, a análise descritiva dos dados, mostrou a mesma tendência anteriormente observada para as 1as. e 2as. gerações de animais.

Para melhor visualização do comportamento em relação ao peso corporal dos animais, no desenvolver das 3 gerações, apresentamos nas Figuras de 1 a 4, as curvas de crescimento obtidas durante o período experimental.

Podemos observar que os grupos de animais alimentados com ração de caseína apresentaram comportamento semelhante nas 3 gerações, para ambos os níveis protéicos. Tal fato não verificou-se para os grupos de biomassa, que mostraram um declínio da 2a. e 3a. geração em relação à 1a. geração, para os dois níveis protéicos, não sendo possível inclusive, a continuidade do ensaio para o grupo alimentado com ração de biomassa ao nível protéico de 10%.

Decorrente do peso corporal, os resultados obtidos para o ganho de peso dos animais nos diferentes períodos do experimento, encontram-se nas Tabelas 32 e 33 e nas Figuras de 5 a 10, mostrando o comportamento dos animais nas 3 gerações.

Podemos observar que o ganho de peso sempre foi superior para os animais alimentados com caseína, tanto para o nível de 25% como para o nível de 10% na ração. Verificamos também, conforme já era esperado, que o crescimento maior ocorreu na fase aguda de crescimento até por volta dos 60 dias de vida, para os grupos de caseína, não podendo-se dizer o mesmo

Fig.1-Curva de crescimento, de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa. (25 % de proteína)

Fig.2-Curva de crescimento, de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa. (25 % de proteína)

Fig.3- Curva de crescimento, de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa. (10 % de proteína)

Fig.4- Curva de crescimento, de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa. (10 % de proteína)

TABELA 32 - Médias e desvio padrão do ganho de peso (g), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível proteico de 25%, nos diferentes períodos da experiência .
(COZZOLINO, 1982)

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 25%	♂	162,1 (6) ± 12,8	83,0 (6) ± 10,1	23,2 (6)* ± 11,2
		♀	115,1 (12) ± 8,6	60,6 (12) ± 8,0	34,4 (12) ± 10,0
	BIOMASSA 25%	♂	104,0 (6) ± 7,7	71,3 (6) ± 12,8	30,1 (6) ± 8,3
		♀	83,3 (12) ± 6,8	47,6 (12) ± 3,7	20,4 (12) ± 3,4
2a.	CASEÍNA 25%	♂	173,0 (2) ± 0,1	94,1 (2) ± 17,4	29,8 (2) ± 1,3
		♀	116,3 (10) ± 10,2	47,3 (6) ± 14,5	29,1 (4) ± 6,0
	BIOMASSA 25%	♂	76,2 (4) ± 35,6	76,7 (4) ± 15,1	63,5 (2) ± 13,4
		♀	60,8 (5) ± 9,4	48,9 (5) ± 8,7	28,9 (4) ± 5,2
3a.	CASEÍNA 25%	♂	188,4 (3) ± 11,2	65,7 (2) ± 4,6	—
		♀	125,6 (3) ± 7,6	50,1 (1) —	—
	BIOMASSA 25%	♂	70,7 (7) ± 8,6	65,7 (7) ± 18,9	—
		♀	68,2 (7) ± 10,2	37,0 (2) ± 1,3	—

*Entre parenteses o número de animais.

TABELA 33 - Médias e desvio padrão do ganho de peso (g), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível proteico de 10%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 10%	♂	± 89,9 (6) 5,5	± 83,6 (6) 8,4	± 51,6 (6)* 11,9
		♀	± 79,5 (12) 4,3	± 54,1 (12) 6,8	± 34,1 (12) 7,8
	BIOMASSA 10%	♂	± 49,6 (6) 4,3	± 60,9 (6) 6,8	± 34,8 (6) 5,1
		♀	± 69,6 (12) 9,9	± 50,5 (12) 4,3	± 25,6 (12) 4,8
2a.	CASEÍNA 10%	♂	± 109,9 (2) 9,9	± 68,4 (2) 2,7	± 47,3 (2) 14,5
		♀	± 94,5 (10) 8,1	± 56,3 (7) 7,0	± 22,3 (4) 3,7
	BIOMASSA 10%	♂	± 34,1 (4) 7,4	46,5 (1) —	35,8 (1) —
		♀	± 25,8 (7) 9,7	± 39,3 (7) 6,3	± 32,1 (4) 2,9
3a.	CASEÍNA 10%	♂	± 135,0 (3) 8,3	± 59,3 (2) 1,7	—
		♀	± 97,8 (3) 3,2	47,0 (1) —	—
	BIOMASSA 10%	♂	—	—	—
		♀	—	—	—

*Entre parenteses o número de animais.

para os grupos de biomassa, com exceção da 1a. geração, que mostraram uma tendencia para manter o mesmo ritmo de crescimento até a fase adulta.

A comparação entre as gerações, demonstrou que não houve diferenças significativas quanto ao desenvolvimento dos animais alimentados com caseína de uma geração para outra, o mesmo podendo-se dizer dos animais alimentados com biomassa 25%, embora na primeira geração estes animais tivessem um desenvolvimento mais acentuado durante o primeiro mês em relação às outras gerações (Fig. 5 e 6). Em relação aos grupos de biomassa 10%, verificamos que houve diferença no comportamento dos animais em relação ao ganho de peso da 1a. e 2a. gerações, principalmente em relação ao primeiro e segundo mês (Fig. 8 e 9).

Quanto às diferenças observadas em relação ao sexo, verificamos que os grupos de caseína nos dois níveis protéicos da ração, mostraram maior ganho de peso para os machos, o mesmo acontecendo para o grupo de biomassa 25%, entretanto, os grupos de biomassa 10%, não mostraram diferenças quanto ao ganho de peso total, nos 120 dias de experiência.

A análise do ganho de peso acumulativo dos animais do desmame até 90 e 120 dias de experiência mostrou através das Figuras 7 e 10, que os grupos de animais alimentados com fonte protéica de caseína comportaram-se homogeneamente para este parametro nas 3 gerações, enquanto que os grupos de animais alimentados com fonte protéica de biomassa apresentaram uma diminuição de ganho de peso nas 2a. e 3a. gerações em relação a 1a. geração. Portanto, verificamos que houve uma exacerbação do efeito da

Fig. 5- Ganho de peso de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 %.

Fig. 6- Ganho de peso de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 %.

Fig. 7 - Ganho de peso, do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 %.

Fig.8 - Ganho de peso de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10 % .

Fig.9 - Ganho de peso de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10 % .

Fig.10 - Ganho de peso, do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10 % .

ração, no desenvolvimento dos animais de uma geração para outra. Assim, a desnutrição provocada por uma ração deficiente, pode ter promovido uma diminuição da capacidade absorptiva dos animais das gerações seguintes, conforme estudado por vários autores⁽³⁸⁾⁽⁸²⁾⁽⁹⁶⁾⁽¹²⁶⁾, que foi inicialmente atenuada pela capacidade de adaptação do animal. Porém, quando a desnutrição atingiu seu ponto crítico, houve impedimento até da reprodução.

Os dados referentes a consumo de ração e de proteína, como já dissemos anteriormente, desempenha papel significativo nas determinações dos coeficientes de eficácia alimentar e proteica, assim, rapidamente procuraremos através das Tabelas 34 a 37 e Figuras de 11 a 22, demonstrar o comportamento dos animais experimentais em relação a estes parâmetros.

Como já discutimos no ensaio preliminar, alguns animais, neste caso o rato, possuem a capacidade instintiva de selecionar seus alimentos, assim, se existe a possibilidade de escolha, estes selecionam as rações mais balanceadas. Vários experimentos comprovam este fato, entretanto, se não existe a possibilidade de escolha, há uma tendência no sentido de ingerirem menor quantidade de ração, e conseqüentemente, de proteína. Portanto, verificamos que o consumo de ração e de proteína entre os grupos de animais machos alimentados com ração de caseína e biomassa ao nível protéico de 25%, na primeira geração, praticamente não apresentou diferença no total de ração consumida, o mesmo podendo-se dizer em relação às fêmeas, sendo entretanto inferiores para as fêmeas em relação aos machos.

Na segunda geração, observamos que o consumo da ra-

TABELA 34 - Médias e desvio padrão do consumo de ração (g), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível proteico de 25%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 25%	♂	$\pm 350,4$ (6) $\pm 21,3$	$\pm 322,6$ (6) $\pm 23,0$	$\pm 339,8$ (6)* $\pm 19,2$
		♀	$\pm 326,7$ (12) $\pm 29,6$	$\pm 299,8$ (12) $\pm 17,2$	$\pm 359,3$ (12) $\pm 35,2$
	BIOMASSA 25%	♂	$\pm 317,2$ (6) $\pm 20,7$	$\pm 340,8$ (6) $\pm 33,2$	$\pm 380,7$ (6) $\pm 29,2$
		♀	$\pm 301,9$ (12) $\pm 18,9$	$\pm 306,6$ (12) $\pm 22,3$	$\pm 327,3$ (12) $\pm 18,1$
2a.	CASEÍNA 25%	♂	$\pm 377,4$ (2) $\pm 7,8$	$\pm 446,2$ (2) $\pm 22,1$	$\pm 459,9$ (2) $\pm 19,5$
		♀	$\pm 385,5$ (10) $\pm 35,2$	$\pm 394,8$ (7) $\pm 43,0$	$\pm 391,4$ (4) $\pm 26,1$
	BIOMASSA 25%	♂	$\pm 277,9$ (4) $\pm 44,3$	$\pm 343,6$ (4) $\pm 52,0$	$\pm 411,8$ (2) $\pm 20,0$
		♀	$\pm 269,7$ (5) $\pm 9,7$	$\pm 327,5$ (5) $\pm 17,3$	$\pm 409,0$ (4) $\pm 18,0$
3a.	CASEÍNA 25%	♂	$\pm 407,3$ (3) $\pm 21,1$	$\pm 378,1$ (2) $\pm 25,7$	—
		♀	$\pm 360,4$ (3) $\pm 22,6$	$\pm 365,6$ (1) —	—
	BIOMASSA 25%	♂	$\pm 295,2$ (7) $\pm 73,9$	$\pm 372,9$ (7) $\pm 38,0$	—
		♀	$\pm 248,6$ (7) $\pm 30,4$	$\pm 358,6$ (2) $\pm 5,0$	—

* Entre parenteses o número de animais.

TABELA 35 - Médias e desvio padrão do consumo de proteína (g), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental da biomassa, ao nível protéico de 25%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 25%	♂	± 92,2 (6) 5,6	± 87,1 (6) 6,2	± 91,7 (6)* 5,2
		♀	± 85,9 (12) 7,8	± 81,0 (12) 4,6	± 97,0 (12) 9,5
	BIOMASSA 25%	♂	± 80,9 (6) 5,3	± 86,9 (6) 8,4	± 97,1 (6) 7,5
		♀	± 70,7 (12) 19,2	± 78,2 (12) 5,7	± 83,4 (12) 4,6
2a.	CASEÍNA 25%	♂	± 104,5 (2) 2,2	± 123,6 (2) 6,1	± 127,4 (2) 5,4
		♀	± 106,8 (10) 9,8	± 109,4 (7) 11,9	± 108,4 (4) 7,2
	BIOMASSA 25%	♂	± 73,9 (4) 11,8	± 91,4 (4) 13,8	± 109,5 (2) 5,3
		♀	± 71,8 (5) 2,6	± 87,1 (5) 4,6	± 108,8 (4) 4,8
3a.	CASEÍNA 25%	♂	± 112,8 (3) 5,8	± 104,7 (2) 7,1	—
		♀	± 99,8 (3) 6,3	101,3 (1) —	—
	BIOMASSA 25%	♂	± 78,5 (7) 19,7	± 99,2 (7) 10,1	—
		♀	± 66,1 (7) 8,1	± 95,4 (2) 1,3	—

*Entre parenteses o número de animais.

Fig.11 - Consumo de ração de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25%.

Fig.12 - Consumo de ração de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25%.

Fig.13 - Consumo de ração, do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 %

Fig.14 - Consumo de proteína de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25% .

Fig.15 - Consumo de proteína de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 %.

Fig.16 - Consumo de proteína, do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 %.

ção foi superior para os grupos de animais machos alimentados com ração controle de caseína ao nível protéico de 25% em relação aos grupos experimentais de biomassa, o mesmo ocorrendo em relação às fêmeas.

Na 3a. geração, o mesmo pode ser verificado, sendo que os grupos experimentais de biomassa, apresentaram valores inferiores para consumo de ração e proteína em relação aos grupos controle de caseína, da ordem de 15% e 16%, respectivamente, para machos e fêmeas.

Em relação aos grupos de caseína 10% e biomassa 10%, verificamos que o consumo de ração e proteína nas Tabelas 36 e 37 e Figuras de 17 a 22 para os animais machos na primeira geração, foi superior para o grupo de caseína, o mesmo não ocorrendo em relação às fêmeas, cujo consumo foi praticamente o mesmo para os dois grupos. Na 2a. geração, verificamos que o consumo foi inferior para os grupos de biomassa tanto para machos como para fêmeas, percentualmente, os grupos experimentais de biomassa tiveram consumo de ração inferiores aos grupos controle de caseína 37% e 31% para machos e fêmeas respectivamente.

Portanto podemos concluir, que o consumo de ração e proteína, não apresentaram variações de uma geração para outra, quando o teor protéico foi de 25% na ração, o mesmo acontecendo em relação aos grupos de caseína ao nível protéico de 10% na ração, não ocorrendo o mesmo para os grupos de animais alimentados com ração de biomassa ao nível protéico de 10%, onde observamos um declínio em relação a primeira geração. Verificamos, também, que na maioria das vezes, os grupos alimentados

TABELA 36 - Médias e desvio padrão do consumo de ração (g), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível proteico de 10%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 10%	♂	311,6 (6) ± 21,7	347,9 (6) ± 18,5	373,4 (6)* ± 14,5
		♀	312,5 (12) ± 17,8	302,7 (12) ± 25,7	325,0 (12) ± 15,6
	BIOMASSA 10%	♂	257,8 (6) ± 18,2	307,0 (6) ± 22,9	343,0 (6) ± 12,4
		♀	319,9 (12) ± 15,3	315,1 (12) ± 20,8	325,2 (12) ± 27,0
2a.	CASEÍNA 10%	♂	364,7 (2) ± 34,4	393,4 (2) ± 23,3	392,9 (2) ± 12,7
		♀	340,2 (10) ± 17,9	370,4 (7) ± 26,6	386,2 (4) ± 16,3
	BIOMASSA 10%	♂	160,7 (4) ± 5,1	261,3 (1) —	307,0 (1) —
		♀	180,5 (7) ± 41,1	272,5 (7) ± 38,4	307,1 (4) ± 42,4
3a.	CASEÍNA 10%	♂	398,5 (3) ± 15,6	372,3 (2) ± 7,8	—
		♀	333,8 (3) ± 2,2	318,0 (1) —	—
	BIOMASSA 10%	♂	—	—	—
		♀	—	—	—

*Entre parenteses o número de animais.

TABELA 37 - Médias e desvio padrão do consumo de proteína (g) , de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 10%	♂	$\pm 33,7$ (6) $\pm 2,3$	$\pm 37,6$ (6) $\pm 2,0$	$\pm 40,3$ (6)* $\pm 1,6$
		♀	$\pm 33,8$ (12) $\pm 1,9$	$\pm 32,7$ (12) $\pm 2,8$	$\pm 35,1$ (12) $\pm 1,7$
	BIOMASSA 10%	♂	$\pm 26,8$ (6) $\pm 1,9$	$\pm 32,0$ (6) $\pm 2,4$	$\pm 35,7$ (6) $\pm 1,3$
		♀	$\pm 33,3$ (12) $\pm 1,6$	$\pm 32,8$ (12) $\pm 2,2$	$\pm 33,8$ (12) $\pm 2,8$
2a.	CASEÍNA 10%	♂	$\pm 40,1$ (2) $\pm 3,8$	$\pm 43,3$ (2) $\pm 2,6$	$\pm 43,2$ (2) $\pm 1,4$
		♀	$\pm 37,4$ (10) $\pm 2,0$	$\pm 40,7$ (7) $\pm 2,9$	$\pm 42,5$ (4) $\pm 1,8$
	BIOMASSA 10%	♂	$\pm 17,5$ (4) $\pm 0,6$	28,5 (1) —	33,5 (1) —
		♀	$\pm 19,7$ (7) $\pm 4,5$	$\pm 29,7$ (7) $\pm 4,2$	$\pm 33,5$ (4) $\pm 4,6$
3a.	CASEÍNA 10%	♂	$\pm 43,8$ (3) $\pm 1,7$	$\pm 41,0$ (2) $\pm 0,9$	—
		♀	$\pm 36,7$ (3) $\pm 0,2$	35,0 (1) —	—
	BIOMASSA 10%	♂	—	—	—
		♀	—	—	—

*Entre parenteses o número de animais.

Fig. 17 - Consumo de ração de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10%.

Fig. 18 - Consumo de ração de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10%.

Fig.19 - Consumo de ração, do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10 %.

Fig.20 - Consumo de proteína de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10%.

Fig.21 - Consumo de proteína de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10%.

Fig.22 - Consumo de proteína, do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10 %.

com ração controle de caseína, ingeriram maior quantidade de ração, em relação aos grupos experimentais, como pode ser observado através das Figuras 13, 16, 19 e 22.

Desta forma pudemos calcular os coeficientes de eficiência alimentar (CEA) e protéica (CEP) das rações.

As mesmas considerações anteriormente descritas, são novamente colocadas em evidência, pois através destas análises podemos avaliar o comportamento desta fonte protéica neste estudo de gerações.

Verificamos que no experimento de curta duração, a fonte protéica de biomassa apresentou bons resultados, entre tanto, verificamos que neste estudo mais longo, houve diferenças de comportamento, como já salientado nas considerações quanto a índice de crescimento e consumo de ração e proteína.

Portanto, passamos a discutir os resultados obtidos para CEA e CEP, durante as gerações, baseando-nos em diferenças observadas dentro do mesmo grupo de uma geração para outra, bem como comparativamente entre os diferentes tratamentos observados, levando-se ainda em consideração o efeito relacionado ao sexo.

Assim, nas Tabelas de 38 a 41 e Figuras de 23 a 34, apresentamos os resultados obtidos para estes parâmetros, analisados nos diferentes períodos da experiência, bem como através de dados acumulativos ao final desta.

Os grupos controle, nos dois níveis protéicos estudados, quando comparados em relação às gerações não mostraram diferenças significativas, comportando-se normalmente de acordo

com o esperado.

Assim, os grupos de animais machos apresentaram coeficientes de eficácia alimentar e protéica superiores ao das fêmeas, como já tivemos oportunidade de descrever também em relação aos índices anteriores.

Portanto os resultados obtidos para CEA e CEP, contidos nas Tabelas 38 e 39 e Figuras 23 a 25 e 29 a 31, de uma geração para outra, fixando o índice de 100% para a 1a. geração, demonstraram que ao nível protéico de 25% os grupos controle de caseína, apresentaram uma eficiência alimentar e protéica praticamente da mesma ordem para a 2a. geração de animais machos, sendo entretanto ligeiramente inferiores para as fêmeas. Entretanto, na 3a. geração os resultados mostraram-se semelhantes, tanto para machos como para fêmeas.

Quanto ao nível protéico de 10% na ração, Tabelas 40 e 41 e Figuras 26 a 28 e de 32 a 34, também não houve diferenças acentuadas de uma geração para outra, principalmente no primeiro mês, onde se verificou o maior desenvolvimento do animal, como também já era esperado, pois em relação ao rato, a fase do desmame até os 60 dias, é onde se processa o maior desenvolvimento.

A fim de verificarmos a evolução dos animais, nos diferentes períodos, dentro do mesmo grupo, também fixamos o índice de 100% para o desenvolvimento no 1º mês e calculamos os percentuais obtidos em relação a este, para o 2º e 3º mês.

Os resultados mostraram, que de uma forma geral, os grupos controle apresentaram um declínio para o 2º mês em rela

TABELA 38 - Médias e desvio padrão do coeficiente de eficácia alimentar (CEA), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 25%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982)

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 25%	♂	$\pm 0,462$ (6) $\pm 0,014$	$\pm 0,257$ (6) $\pm 0,027$	$\pm 0,067$ (6)* $\pm 0,030$
		♀	$\pm 0,353$ (12) $\pm 0,027$	$\pm 0,202$ (12) $\pm 0,028$	$\pm 0,094$ (12) $\pm 0,022$
	BIOMASSA 25%	♂	$\pm 0,328$ (6) $\pm 0,018$	$\pm 0,207$ (6) $\pm 0,023$	$\pm 0,078$ (6) $\pm 0,019$
		♀	$\pm 0,276$ (12) $\pm 0,021$	$\pm 0,155$ (12) $\pm 0,012$	$\pm 0,061$ (12) $\pm 0,009$
2a.	CASEÍNA 25%	♂	$\pm 0,459$ (2) $\pm 0,010$	$\pm 0,210$ (2) $\pm 0,029$	$\pm 0,065$ (2) $\pm 0,006$
		♀	$\pm 0,302$ (10) $\pm 0,015$	$\pm 0,119$ (7) $\pm 0,025$	$\pm 0,074$ (4) $\pm 0,012$
	BIOMASSA 25%	♂	$\pm 0,261$ (4) $\pm 0,094$	$\pm 0,222$ (4) $\pm 0,013$	$\pm 0,156$ (2) $\pm 0,040$
		♀	$\pm 0,226$ (5) $\pm 0,037$	$\pm 0,149$ (5) $\pm 0,022$	$\pm 0,072$ (4) $\pm 0,015$
3a.	CASEÍNA 25%	♂	$\pm 0,462$ (3) $\pm 0,005$	$\pm 0,174$ (2) $\pm 0,001$	—
		♀	$\pm 0,349$ (3) $\pm 0,009$	$\pm 0,137$ (1) —	—
	BIOMASSA 25%	♂	$\pm 0,249$ (7) $\pm 0,045$	$\pm 0,175$ (7) $\pm 0,044$	—
		♀	$\pm 0,276$ (7) $\pm 0,034$	$\pm 0,103$ (2) $\pm 0,005$	—

*Entre parenteses o número de animais.

TABELA 39 - Médias e desvio padrão do coeficiente de eficácia protéica (CEP), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 25%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 25%	♂	1,757 (6) ±0,051	0,954 (6) ±0,100	0,251 (6) * ±0,109
		♀	1,345 (12) ±0,101	0,750 (12) ±0,102	0,350 (12) ±0,081
	BIOMASSA 25%	♂	1,286 (6) ±0,072	0,815 (6) ±0,090	0,308 (6) ±0,073
		♀	1,084 (12) ±0,083	0,611 (12) ±0,049	0,244 (12) ±0,036
2a.	CASEÍNA 25%	♂	1,655 (2) ±0,035	0,757 (2) ±0,104	0,235 (2) ±0,020
		♀	1,091 (10) ±0,056	0,431 (7) ±0,092	0,267 (4) 0,044
	BIOMASSA 25%	♂	0,982 (4) ±0,356	0,833 (4) ±0,049	0,587 (2) ±0,151
		♀	0,849 (5) ±0,141	0,559 (5) ±0,083	0,268 (4) ±0,057
3a.	CASEÍNA 25%	♂	1,669 (3) ±0,018	0,628 (2) ±0,002	—
		♀	1,259 (3) ±0,033	0,495 (1) —	—
	BIOMASSA 25%	♂	0,936 (7) ±0,170	0,658 (7) ±0,167	—
		♀	1,037 (7) ±0,129	0,388 (2) ±0,019	—

*Entre parenteses o número de animais.

Fig.23 - Coeficiente de Eficácia Alimentar (C.E.A) de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 % .

Fig.24 - Coeficiente de Eficácia Alimentar (C.E.A) de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 % .

Fig.25 - Coeficiente de Eficácia Alimentar (C.E.A.), do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 % .

Fig.29- Coeficiente de Eficácia Protéica (C.E.P.) de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25%

Fig.30 - Coeficiente de Eficácia Protéica (C.E.P.) de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25 % .

Fig.31 - Coeficiente de Eficácia Protéica (C.E.P.), do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 25%.

TABELA 40 - Médias e desvio padrão do coeficiente de eficácia alimentar (CEA), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 10%	♂	0,288 (6) ±0,013	0,240 (6) ±0,027	0,137 (6)* ±0,027
		♀	0,255 (12) ±0,016	0,179 (12) ±0,020	0,101 (12) ±0,024
	BIOMASSA 10%	♂	0,192 (6) ±0,015	0,198 (6) ±0,012	0,108 (6) ±0,025
		♀	0,217 (12) ±0,030	0,160 (12) ±0,014	0,078 (12) ±0,014
2a.	CASEÍNA 10%	♂	0,302 (2) ±0,002	0,175 (2) ±0,017	0,119 (2) ±0,033
		♀	0,278 (10) ±0,016	0,152 (7) ±0,010	0,058 (4) ±0,010
	BIOMASSA 10%	♂	0,211 (4) ±0,041	0,178 (1) —	0,117 (1) —
		♀	0,138 (7) ±0,030	0,145 (7) ±0,013	0,107 (4) ±0,020
3a.	CASEÍNA 10%	♂	0,339 (3) ±0,008	0,159 (2) ±0,001	—
		♀	0,293 (3) ±0,008	0,148 (1) —	—
	BIOMASSA 10%	♂	—	—	—
		♀	—	—	—

*Entre parenteses o número de animais.

TABELA 41 - Médias e desvio padrão do coeficiente de eficácia protéica (CEP), de 3 gerações de animais, alimentados com ração controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10%, nos diferentes períodos da experiência. (COZZOLINO, 1982).

GERAÇÃO	GRUPOS	SEXO	PERÍODO (meses)		
			1º	2º	3º
1a.	CASEÍNA 10%	♂	2,675 (6) ±0,124	2,233 (6) ±0,252	1,273 (6)* ±0,249
		♀	2,359 (12) ±0,153	1,657 (12) ±0,189	0,971 (12) ±0,211
	BIOMASSA 10%	♂	1,854 (6) ±0,147	1,904 (6) ±0,119	0,976 (6) ±0,141
		♀	2,093 (12) ±0,289	1,546 (12) ±0,134	0,757 (12) ±0,132
2a.	CASEÍNA 10%	♂	2,741 (2) ±0,012	1,590 (2) ±0,156	1,085 (2) ±0,301
		♀	2,523 (10) ±0,141	1,378 (7) ±0,085	0,526 (4) ±0,091
	BIOMASSA 10%	♂	1,935 (4) ±0,373	1,633 (1) —	1,070 (1) —
		♀	1,267 (7) ±0,275	1,325 (7) ±0,118	0,984 (4) ±0,182
3a.	CASEÍNA 10%	♂	3,077 (3) ±0,074	1,448 (2) ±0,012	—
		♀	2,662 (3) ±0,073	1,344 (1) —	—
	BIOMASSA 10%	♂	—	—	—
		♀	—	—	—

*Entre parenteses o número de animais.

Fig. 26 - Coeficiente de Eficácia Alimentar (C.E.A.) de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10 %.

Fig. 27 - Coeficiente de Eficácia Alimentar (C.E.A.) de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10 %.

Fig.28 - Coeficiente de Eficácia Alimentar (C.E.A.), do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10 %.

Fig.32 - Coeficiente de Eficácia Protéica (C.E.P.) de 3 gerações de ratos machos, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10%.

Fig.33 - Coeficiente de Eficácia Protéica (C.E.P.) de 3 gerações de ratos fêmeas, alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10%.

Fig.34 - Coeficiente de Eficácia Protéica (C.E.P.), do desmame até 90 e 120 dias, de 3 gerações de animais alimentados com rações de Caseína e Biomassa, ao nível protéico de 10%.

ção ao 1º, acentuando-se ainda mais no 3º mês, tanto para machos como para fêmeas, nas 3 gerações estudadas.

Em relação aos grupos experimentais de biomassa, observamos que os resultados obtidos foram diferentes daqueles observados para os grupos controle de caseína. Assim, ao nível protéico de 25% na ração, verificamos que nas 2as. e 3as. gerações, os índices obtidos principalmente no primeiro mês foram inferiores aos obtidos na 1a. geração, entretanto novamente mostrando um aumento da eficiência alimentar e protéica aos 2º e 3º meses, indicando uma adaptação do animal ao tipo de ração oferecida, através do controle entre ingestão e aproveitamento da mesma.

Quanto aos grupos de animais submetidos à mesma ração experimental, porém ao nível protéico de 10%, verificamos que os animais machos apresentaram na 2a. geração praticamente o mesmo comportamento observado em relação à 1a. geração, porém o grupo de fêmeas mostrou níveis inferiores em relação ao primeiro mês, aumentando gradativamente em relação ao 2º e 3º meses, da mesma forma observada para os demais grupos experimentais de biomassa ao nível protéico de 25%.

A verificação evolutiva dentro do mesmo grupo, também fixando o índice de 100% para o 1º mês, mostrou que em relação à 1a. geração, os resultados foram semelhantes aos obtidos para os grupos controle de caseína em relação ao nível protéico de 25%, pois observamos uma diminuição da eficiência alimentar e protéica no 2º mês em relação ao 1º mês, acentuando-se ainda mais no 3º mês. Entretanto, tal fato não foi verifica-

do para os grupos de animais machos, ao nível protéico de 10% na ração, onde observamos índices de CEA e CEP superiores para os 2º e 3º meses de experiência em relação aos demais grupos, não ocorrendo o mesmo em relação às fêmeas, que se comportaram de acordo com os grupos anteriores.

Em relação à 2ª. geração, os grupos de biomassa, mostraram da mesma forma anteriormente descrita para o grupo de animais machos, alimentados ao nível protéico de 10% na 1ª. geração, uma continuidade de eficiência alimentar e protéica nos meses subsequentes, portanto demonstrando mais uma vez, a importância da adaptação do animal em fenômenos de desnutrição.

A comparação entre os grupos de caseína e de biomassa ao nível protéico de 25% na 1ª. geração, em relação ao CEA e CEP, como indicadores do valor biológico da biomassa em relação à caseína, mostrou-se inferior para os grupos de biomassa, sendo que para os machos, os valores comparativos em relação ao CEA e CEP, respectivamente, foram: 71,0% e 73,2% no 1º mês, 80,5% e 85,4% no 2º mês e 116,4% e 122,7% no 3º mês; em relação às fêmeas foram 78,2% e 80,6% no 1º mês, 76,7% e 81,5% no 2º mês e 64,9% e 69,7% no 3º mês. Verificamos, portanto, que o grupo de animais machos, alimentados com ração de biomassa ao nível protéico de 25%, mantiveram um desenvolvimento crescente até o 3º mês, suplantando inclusive os valores observados em relação à caseína no último mês, enquanto que as fêmeas submetidas ao mesmo tratamento, apresentaram um desenvolvimento mais acentuado no 1º mês, entretanto inferiores aos observados para o grupo controle de caseína.

A mesma comparação anterior para os grupos controle de caseína e experimental de biomassa, ao nível protéico de 10% na ração da 1ª. geração, apresentaram os seguintes valores: em relação aos machos, os índices de CEA e CEP foram respectivamente 66,7% e 69,3% no 1º mês, 82,5% e 85,3% no 2º mês e 78,8% e 76,7% no 3º mês, e em relação às fêmeas, 85,1% e 88,7% no 1º mês, 89,4% e 93,3% no 2º mês e 77,2% e 78,0% no 3º mês. Portanto, novamente verificamos que os resultados foram inferiores para a biomassa, durante todo período experimental da 1ª. geração.

Em relação à segunda geração, verificamos que ao nível protéico de 25%, também considerando-se os valores obtidos para o grupo controle de caseína como 100%, os resultados obtidos para CEA e CEP respectivamente, para o grupo de animais machos foram: 56,9% e 59,3% no 1º mês, 105,7% e 110,0% no 2º mês, 240,0% e 249,8% no 3º mês, em relação às fêmeas, 74,8% e 77,8% no 1º mês, 125,2% e 129,7% no 2º mês e 97,3% e 100,4% no 3º mês. Portanto, mais uma vez, os animais obtiveram índices inferiores ao dos grupos de caseína no 1º mês, recuperando-se em seguida até o 3º mês.

Ao nível protéico de 10% na ração, os resultados foram para os machos, 69,9% e 70,6% no 1º mês, 101,7% e 102,7% no 2º mês, 98,3% e 98,6% no 3º mês, e em relação às fêmeas 49,6% e 50,2% no 1º mês, 95,4% e 96,2% no 2º mês e 184,5% e 187,1% no 3º mês, portanto o mesmo fato se repetiu.

Na 3ª. geração as mesmas comparações para os grupos ao nível protéico de 25%, mostram os seguintes valores para

os grupos de biomassa em relação aos da caseína: para os grupos de machos 53,9% e 56,1% no 1º mês, 100,6% e 104,8% no 2º mês, e em relação às fêmeas 79,1% e 82,4% no 1º mês e 75,2% e 78,4% no 2º mês.

Portanto, analisando-se estes resultados verificamos que os grupos controle apresentaram o desenvolvimento esperado em relação às gerações, bem como em relação à sua evolução no período estudado (120 dias), enquanto os grupos de biomassa apresentaram resultados diferentes, mantendo seu desenvolvimento de forma equilibrada até o 3º mês, demonstrando uma adaptação do organismo animal em relação ao tratamento utilizado.

As comparações em relação ao CEA e CEP das rações experimentais e controle, mostraram-se sempre inferiores para as experimentais, fato já bastante discutido devido aos inúmeros fatores apresentados que influenciaram em tais resultados.

7 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como pode ser observado através da análise dos resultados, o comportamento biológico dos animais submetidos aos tratamentos de caseína como fonte protéica padrão e biomassa como fonte protéica experimental, mostrou-se diferente em relação ao desenvolvimento dos animais, sendo que os grupos de caseína mostraram-se superiores aos de biomassa.

Nossos dados estão em concordância com o de outros autores, que também demonstraram que esta fonte protéica, possui valor biológico inferior às fontes consideradas padrões⁽¹⁹⁾ (31)(39)(47)(48)(73)(75)(78)(86)(106)116).

Houve uma diminuição do valor biológico nas segunda e terceira gerações dos grupos de biomassa em relação à primeira geração, chegando inclusive a uma interrupção no caso de biomassa ao nível de 10% de proteína na ração.

Este fato embora bastante discutido em nosso trabalho, pode ser uma vez mais explicado, devido ao fato da proteína da biomassa por nós estudada, ter apresentado um teor de nitrogênio não protéico da ordem de 1,6g em 100 gramas de biomassa, calculado através do aminograma, onde obtivemos apenas 40 gramas de proteína em 100 gramas de biomassa. Portanto, na

na realidade teríamos apenas 8% de proteína na ração.

Os problemas observados em relação à reprodução, poderiam numa análise final, serem atribuídos a um retardo no desenvolvimento do animal, entretanto não permitem conclusões definitivas.

Quanto à análise dos órgãos dos animais, procuramos verificar possíveis alterações nestes órgãos, decorrentes do tipo de tratamento, uma vez que vários trabalhos⁽⁴⁶⁾⁽⁵⁴⁾⁽⁶⁶⁾, demonstraram problemas toxicológicos principalmente em relação ao fígado e rins. Entretanto, como o número de animais obtidos na 2a. e 3a. geração foi reduzido, os resultados não trouxeram subsídios para conclusões definitivas, assim eles não constarão do presente trabalho, ficando ainda sujeitos a análises posteriores mais detalhadas.

Por outro lado, os resultados não sugerem problemas de ordem toxicológica, pois não observamos anormalidades quanto a excesso de gordura hepática, bem como os teores de proteínas totais nos órgãos também foram semelhantes em relação aos grupos controle e experimentais.

As análises histológicas, também mostraram-se normais, mesmo ao nível protéico de 25%, considerado alto para esta fonte alimentar.

Por outro lado, como já evidenciamos na introdução deste trabalho, existem normas para utilização desta fonte protéica que devem ser tomadas como base para qualquer programa que venha a ser estabelecido. Assim segundo o P.A.G.*⁽⁶⁾⁽³³⁾

* Protein advisory group.

(51)(52) dependendo da utilização desta fonte protéica, se para alimentação humana ou animal, vários cuidados devem ser respeitados, principalmente se fôr para alimentação humana. Sabemos que os teores elevados de ácidos nucleicos causam problemas ao ser humano, entretanto não foram estudados neste trabalho, uma vez que o rato não é o animal adequado para este estudo, pois podem metabolizar o ácido úrico até alantoína e desta forma eliminá-lo sem problemas de acúmulo.

Como potencial protéico, esta biomassa apresentou fatores limitantes, que foram observados desde a fase inicial do experimento, ou seja na lactação dos animais, e durante todo o desenvolvimento, acentuando-se na gestação, tanto que os animais da 2a. geração, apresentaram um desenvolvimento mais lento em relação ao padrão, podendo-se observar os ratos da mesma idade nas fotos 1 e 2, 15 dias após o nascimento e na foto 3, na época do desmame.

Estes animais na fase adulta puderam se recuperar, embora os resultados tenham sido inferiores aos da caseína.

Pode-se observar também que alguns animais do grupo de biomassa apresentaram manchas brancas no olho (foto 4), levando-nos a pensar em deficiência de vitamina A. Sabe-se que esta vitamina é transportada ligada a proteína, e em casos de desnutrição, a deficiência desta proteína poderia explicar a deficiência ao nível de visão, provocando tais anormalidades, mesmo encontrando-se presente na ração.

Foto 1 - Animais do grupo controle de caseína, 15 dias após o nascimento.

Foto 2 - Animais do grupo experimental de biomassa, 15 dias após o nascimento.

Foto 3 - Animais do grupo controle e experimental na época do desmame.

Foto 4 - Animal adulto do grupo de biomassa, apresentando man_ cha branca no olho.

Vários autores tem estudado esta fonte protéica, no estado natural em que é obtida, isolando-se a proteína, ou mesmo suplementando-a com os aminoácidos limitantes.

No estado natural, a biomassa possui as células intactas, que causam uma diminuição do valor biológico, pois nem todos organismos conseguem romper a parede celular, impedindo assim a sua utilização, fato que hoje justifica os problemas de diarreias e desconforto gastrointestinal observados, quando da utilização das primeiras biomassas produzidas, atualmente, a tecnologia tem progredido neste campo, produzindo biomassa com células rompidas⁽⁵⁹⁾⁽⁸³⁾⁽⁹⁰⁾⁽⁹⁴⁾⁽¹¹³⁾.

O isolamento da proteína é outro método que permite melhor utilização da biomassa pois elimina os problemas relativos a ingestão de grandes quantidades de ácidos nucleicos, embora seu custo seja elevado.⁽⁷³⁾⁽¹⁰³⁾⁽¹¹³⁾

Finalmente, a suplementação com aminoácidos limitantes, permite um maior aproveitamento biológico através do aumento da síntese protéica⁽⁷³⁾⁽⁹⁸⁾⁽¹⁰⁹⁾⁽¹¹¹⁾.

Com base no exposto, verificamos que esta fonte protéica poderá ser utilizada, embora estudos devam ser continuados, a fim de se esclarecer os problemas relativos a reprodução. Ou seja, deve-se estabelecer qual etapa do desenvolvimento foi comprometida; se foi devido apenas a problemas decorrentes da desnutrição ou se foi devido a fatores exógenos à biomassa, como por exemplo do processamento utilizado para sua obtenção; ou se foi por alguma característica do próprio microorganismo.

8 - CONCLUSÕES

Com base no exposto, podemos concluir:-

- 1º) A ração de biomassa ao nível protéico de 10%, em ensaio de curta duração, apresentou índices satisfatórios de valor biológico.
- 2º) A ração de biomassa, ao nível protéico de 10%, em ensaio de gerações, não foi suficiente para manutenção dos animais até a 3a. geração.
- 3º) A ração de biomassa, ao nível protéico de 25%, manteve os animais até a 3a. geração, entretanto com diminuição gradativa do valor biológico.
- 4º) A biomassa utilizada neste experimento como única fonte protéica na ração, durante o estudo de gerações, apresentou-se inferior à fonte protéica padrão de caseína, em relação aos índices de valor biológico testados.

- 59) Nas condições experimentais deste trabalho, observamos problemas de reprodução nos animais machos; alimentados com fonte protéica de biomassa.

9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 1 - ABDEL-HAFEZ, A.M.; MAHMOUD, S.A.Z.; EL-SAWY, M.; RAMADAN, E.M. - Studies on protein production by yeasts. II Protein, non-protein nitrogen, and amino acid content of yeast strains. Zbl. Bakt., II Abt., 132:631-40, 1977. *Local*
- 2 - AHMAD, G. & RAHMAN, M.A. - Effects of undernutrition and protein malnutrition on brain chemistry of rats. J.Nutr., Philadelphia, 105:1090-103, 1975.
- 3 - ALLEN, L.H. & ZEMAN, F.J. - Influence of increased post-natal food intake on body composition of progeny of protein - deficient rats. J. Nutr., Philadelphia, 101: 1311-8, 1971.
- 4 - ALTSCHUL, A.M. - The agricultural, scientific and economic basis for low-cost protein foods. In: MATELES, R. J. & TANNENBAUM, S. R. Single cell protein. Massachusetts, M.I.T. Press, 1968. p.48-64.
- 5 - ASHRAF, M.; VETTER, R.L.; NISSEN, S.; GRAHAM, D.L. - Nutritional evaluation of methanol-based yeast single cell protein in a multigeneration rat study. Nutr. Rep. Int., Los Altos, 23(5):813-24, 1981.

* De acordo com as normas preconizadas pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos de periódicos estão de acordo com World Medical Periodicals, 3. ed., New York, 1961.

- 6 - ASPECTOS de nutricion y seguridad de las nuevas fuentes de proteinas para alimentacion de animales. Bol. GAP, New York, 4(3):12-20, 1974. |Norma n° 15|.
- 7 - ASSESSMENT of the world food situation present and future (extracts from the papers of the United Nations World Food Conference). Food Nutr., Rome, 1(1):7-43, 1975.
- 8 - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 11.ed., Washington, 1970. p.16-8.
- 9 - ATALLAH, M.T.; BARBEAU, I.S.; PELLETT, P.L. - Metabolic and development changes in growing rats born to dams restricted in protein and/or energy intake. J. Nutr., Philadelphia, 107:650-5, 1977.
- 10 - BARBER, R.S.; BRAUDE, R.; MITCHELL, K.G.; MYRES, A. W. - The value of hidrocarbon -grown yeast as a source of protein for growing pigs. Brit. J. Nutr., London, 25:285-94, 1971.
- 11 - BEATON, G.H. & SWISS, L.D. - Evaluation of the nutritional quality of food supplies: prediction of "desirable" or "safe" protein calorie ratios. Amer. J. clin. Nutr., New York, 27:485-504, 1974.
- 12 - BENDER, A.E. & DOELL, B.H. - Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. Brit. J. Nutr., London, 11:138-9, 1957.
- 13 - BENDER, A.E. & DOELL, B.H. - Biological evaluation of proteins: a new aspect. Brit. J. Nutr., London, 11:140-8, 1957.

- 14 - BENDER, A.E. & DOELL, B.H. - Absence of toxic effects by food yeast on the rat. Brit. J. Nutr., London, 14 : 305-13, 1960.

- 15 - BHATTACHARJEE, J.K. - Microorganisms as potential sources of food. Advanc. appl. Microbiol., New York, 13:139-61, 1970.

- 16 - BLOCK, R.J. & BOLLING, D. - The aminoacids yielded by various yeasts after hydrolysis of the fat free material. A comparative investigation. Arch. Biochem., New York, 7:313-21, 1945.

- 17 - BOWERING, J.; CALLOWAY, D.H.; MARGENS, S.; KAUFMANN, N.A. - Dietary protein level and uric acid metabolism in normal man. J. Nutr., Philadelphia, 100:249-61, 1969.

- 18 - BRENNER, S.; WODICKA, V.O.; DUNLOP, S.G. - Experimentation with dried yeast for use in army rations. J. Amer. diet. Ass., Chicago, 25:409-15, 1949.

- 19 - BRESSANI, R. - The use of yeast in human foods. In: MATELES, R.I. and TANNENBAUM, S.R. Single-cell protein, Massachussetts, M.I.T. Press, 1968. p.90-121.

- 20 - BRESSANI, R.; VALLE, L.U.; ELIAS, L.G. - Relacion entre el nitrogeno retenido por ratas, determinado por analisis corporal de nitrogeno y por medio de balance nitrogenado. Arch. latinoam. Nutr., Caracas, 26(4):449-83, 1976.

- 21 - BUNKER, H.J. - Sources of single cell protein: perspective and prospect. In: MATELES, R.I. & TANNENBAUM, S. R. Single-cell protein, Massachussetts, M.I.T. Press, 1968. p. 67-78.

- 22 - CANEPA, A.; PIEBER, M.; ROMERO, C.; TOHA, J.C. - A method for large reduction of the nucleic acid content of yeast. Biotechnol. Bioeng., New York, 14:173-7, 1972.
- 23 - CARNEIRO, W. - A indústria de proteínas no Brasil. Bras. açucareiro, Rio de Janeiro, 64(6):34-9, 1967.
- 24 - CARNEIRO, W. - Economicidade da indústria de leveduras. Bras. açucareiro, Rio de Janeiro, 64(7):16-23, 1967.
- 25 - CARTER, M.B. & PHILLIPS, G.E. - The nutritive value of yeast proteins. Fed. Proc., Washington, 3:123, 1944.
- 26 - CASTRO, A.C.; SINSKEY, A.J.; TANNENBAUM, S.R. - Reduction of nucleic acid content in yeast cells by bovine pancreatic ribonuclease treatment. Appl. Microbiol., Baltimore, 22:422-7, 1971.
- 27 - CHIAO, J.S. & PETERSON, W.H. - Yeasts-methionine and cystine contents. J. agric. Food Chem., Washington, 1:1005-8, 1953.
- 28 - CLIFFORD, A.J. & STORY, D.L. - Levels of purines in foods and their metabolic effects in rats. J. Nutr., Philadelphia, 106:435-42, 1976.
- 29 - COZZOLINO, S.M.F. - Valor biológico da proteína da mistura de arroz e feijão, suplementada com metionina, cálcio e retinol. Ensaio em ratos alimentados *ad libitum* e com restrição. São Paulo. 1975. 72 p. |Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP|.
- 30 - CULLEY, W.J. & LINEBERGER, R.O. - Effect of undernutrition on the size and composition of the rat brain. J. Nutr., Philadelphia, 96:375-81, 1968.

- 31 - DABBAH, R. - Protein from microorganisms. Food Technol., Chicago, 24:659-66, 1970.

- 32 - EDOZIEN, J.C.; UDO, U.U.; YOUNG, V.R.; SCRIMSHAW, N.S. - Effects of high levels of yeast feeding on uric acid metabolism of young men. Nature, London, 228: 180, 1970.

- 33 - ENSAYOS preclínicos de nuevas fuentes de proteínas. Bol. GAP, New York, 4(3):20-35, 1974. [Norma nº 6].

- 34 - EVANS, E. & WITTY, R. - An assessment of methods used to determine protein quality. Wld. Rev. Nutr. Diet., London, 32:1-26, 1978.

- 35 - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS . Nutrition Division Food policy and food service - Amino-acid content of foods and biological data on proteins. F.A.O. Nutritional Studies, Roma (24), 1970. 285 p.

- 36 - ENRIQUECIMIENTO de los alimentos. Desnutrición proteico-calórica. In: COMITE MIXTO FAO/OMS DE EXPERTOS EN NUTRICIÓN, 8., Ginebra, 1970. Informe. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1972. 131 p. [OMS Série de informes técnicos, 477; FAO Reuniones sobre nutrición, 49].

- 37 - NECESIDADES de energía y de proteínas. In: COMITE ESPECIAL MIXTO FAO/OMS DE EXPERTOS EN NECESIDADES DE ENERGIA Y DE PROTEINAS, Roma, 1971. Informe, Roma, Organización Mundial de la Salud, 1973. 138 p. [OMS Série de informes técnicos, 522; FAO Reuniones sobre nutrición, 52; Colección FAO Alimentación y nutrición, 7].

- 38 - FITZGERALD, J.F. & FERDINANDUS, L.D. - Effect of maternal protein deprivation on in vitro neonatal intestinal function in rats. J. Nutr., Philadelphia, 105:1476-80, 1975.

- 39 - FLORENTINO, R.F. & BROQUIST, H.P. - Production and nutritional evaluation of a high lysine baker's yeast. (Saccharomyces cerevisiae) in rats. J. Nutr., Philadelphia, 104:884-93, 1974.

- 40 - FLORES, H.; SIERRALTA, W.; MONCKEBERG, F. - Triglyceride transport in protein-depleted rats. J. Nutr., Philadelphia, 100:375-9, 1970.

- 41 - FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. - A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. biol. Chem., Baltimore, 226 : 497-509, 1957.

- 42 - FUNDAÇÃO Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - Estudo Nacional de Despesa Familiar - ENDEF, Rio de Janeiro, 1977. 2 v.

- 43 - FUNK, C.; LYLE, W.G.; Mc CASKEY, D. - The nutritive value of yeast, polished rice and white bread, as determined by experiments on man. J. biol. Chem., Baltimore, 27: 173, 1916.

- 44 - GOYCO, J.A. - Nitrogen balance of young adults consuming a deficient diet supplemented with Torula yeast and other nitrogenous products. J. Nutr., Philadelphia, 69: 49-57, 1959.

- 45 - GOYCO, J. A. - Studies on edible yeasts. II Growth and reproduction performance of rats fed on yeasts as sole source of protein. Puerto Rico J. publ. Hlth trop. Med., New York, 23:476-87, 1948a.
- 46 - GOYCO, J.A. - A study of the relation between the liver protein regeneration capacity and the hepatic neurogenic activity of yeast proteins. J. Nutr., Philadelphia, 58:299-308, 1956.
- 47 - GOYCO, J.A. & ASENJO, C.F. - Net protein and growth -promoting values of three different types of yeast prepared under identical conditions. J. Nutr., Philadelphia, 38:517-26, 1949.
- 48 - GOYCO, J.A. & ASENJO, C.F. - The net protein value of food yeast. J. Nutr., Philadelphia, 33:593-600, 1947.
- 49 - GROOT, A.P.; TIL, H.P.; PERON, V.J. - Safety evaluation of yeast grown on hydrocarbons. III. Two-year feeding and multigeneration study in rat with yeast grown on gas oil. Food Cosmet. toxicol., London, 9:787-80, 1971.
- 50 - GUANABARA FILHO, A. - A rentabilidade da indústria de levedura-alimento. Bras. açucareiro, Rio de Janeiro, 64(5):19-25, 1967.
- 51 - GUIDELINE for human testing of supplementary food mixtures. In: TANNENBAUM, S.R. & WANG, D. I. C. Single-cell protein II, Massachussetts, M.I.T. Press, 1975. p. 655-69. |PAG Guideline nº 7 - Human Testing Procedures|.

- 52 - GUIDELINE on the production of single-cell protein for human consumption. In: TANNENBAUM, S.R. & WANG, D. I. C. Single-cell protein II, Massachussetts, M.I.T. Press, 1975, p.670-3. [PAG Guideline n° 12 - Single-cell protein].
- 53 - GUTHRIE, H.A. & BROWN, M.L. - Effect of severe undernutrition in early life on growth brain size and composition in adult rats. J. Nutr., Philadelphia, 94:419-26, 1968.
- 54 - GYÖRGY, P.; ROSE, C.S.; TOMARELLI, R.M.; GOLDBLATT, H. - Yeast in the production of dietary massive hepatic necrosis in rats. J. Nutr., Philadelphia, 41:265-78, 1950.
- 55 - HAN, Y. W.; DUNLAP, C.E. & CALLIHAN, C.D. - Single-cell protein from cellulosic wastes. Food technol., Chicago, 25:130-3, 1971.
- 56 - HAWK, P.B.; SMITH, C.A.; HOLDER, R.O. - Bakers' yeast as food for man. Amer. J. Physiol., Baltimore, 48:199 , 1919.
- 57 - HEDENSKOG, G. & EDDINGHAUS, L. - Reduction of the nucleic acid content of single-cell protein concentrates . Biotechnol. Bioeng., New York, 14:447-57, 1972.
- 58 - HENDERSON, J.F. - Purine Nucleotide Metabolism in Mammalian Cells. Biochem. Soc. Trans., London, 3: 1195-8, 1975.
- 59 - HUMPHREY, A.E. - Product outlook and technical feasibility of S.C.P. In: TANNENBAUM, S.R. & WANG, D.I.C. Single-cell protein II, Massachussetts, M.I.T. Press, 1975, p. 1-23.

- 60 - INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo - Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 2.ed. São Paulo, 1976. 371 p.
- 61 - KENNEY, M.A. & BARTON, E.B. - Malnutrition and fetal development in two generations of rats. Nutr. Rep. Int., Los Altos, 11(3):243-250, 1975.
- 62 - KILBERG, R. - The microbe as a source of food. Ann.Rev. Microbiol., Palo Alto, 26:427-65, 1972.
- 63 - KINSELA, J.E. & SHETTY, H.J. - Yeast proteins recovery, nutritional and functional properties. Advanc. Exp. Med. Biol., New York, 107:797-825, 1978.
- 64 - KLAPKA, M.R.; DUBY, G.A.; PAVCER, P.L. - Torula yeast as a dietary supplement-study in acceptability by patients J. Amer. diet. Ass., Chicago, 34:1317-20, 1958.
- 65 - KWONG, E. & BARNES, R.H. - Comparative contributions of dietary protein quality and quantity to growth during gestation, lactation and postweaning in the rat. J. Nutr., Philadelphia, 107:420-5, 1977.
- 66 - LINDAN, O. & WORK, E. - The amino-acid composition of two yeasts used to produce massive dietetic liver necrosis in rats. Biochemistry, New York, 48:22-34, 1951.
- 67 - LIPINSKY, E.S. & LITCHFIELD, J.H. - Single-cell protein in perspective. Food Technol., Chicago, 28(5):16-23, 1974.
- 68 - LITCHFIELD, J.H. - Single-cell proteins. Food Technol., Chicago, 31(5):175-9, 1977.

- 69 - LIU, T.Y. & CHANG, Y.H. - Hydrolysis of proteins with p-toluensulfonic acid. J. biol. Chem., Baltimore, 246: 2842-8, 1981.
- 70 - LOESECKE, H.W. - Controversial aspects: yeast in human nutrition. J. Amer. diet. Ass., Chicago, 22:485-93, 1946.
- 71 - LOMBARDI, B. - Pathogenesis of fatty liver. Fed. Proc., Washington, 24:1200-5, 1965.
- 72 - LOURENÇO, E.J. - Influência da proteína da dieta sobre o desenvolvimento de órgãos de ratos. São Paulo, 1975, 99 p. |Tese de doutoramento - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo|.
- 73 - MARIATH, J.G.R. - Comportamento biológico da proteína isolada do resíduo de cerveja - Estudo de alguns parâmetros bioquímicos e nutricionais. São Paulo, 1981, 166 p. |Tese de doutoramento - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo|.
- 74 - MAUL, S.B.; SINSKEY, A.J.; TANNENBAUM, S.R. - New process for reducing the nucleic acid content of yeast. Nature, London, 228:181, 1970.
- 75 - MILLER, S.A. - Nutritional factors in single-cell protein. In: MATELES, R.I. & TANNENBAUM, S.R. Single-cell protein, Massachussetts, M.I.T. Press, 1968. p.79-89.
- 76 - MOORE, S. - On the determination of cystine as cysteic acid. J. biol. Chem., Baltimore, 238, 235-7, 1963.
- 77 - MORGAN, B.L.G. & NAISMITH, D.J. - Effects on the products of conception of protein supplementation on the diets of rats. J. Nutr., Philadelphia, 107:1590-4, 1977.

- 78 - MOURA, E.C.V. - Estudos nutricionais e bioquímicos de biomassa protéica obtida a partir de *Saccharomyces*, sp., São Paulo, 1978, 173 p. |Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de S. Paulo|.
- 79 - MOURA, E.C.V. & ZUCAS, S.M. - Estudo das alterações metabólicas em ratas, decorrentes da ingestão de proteína derivada de microorganismos (Biomassa - SCP), empregando como substrato a vinhaça (*Saccharomyces*, sp) e o melaço (*Saccharomyces cerevisiae*): I - Valor biológico das fontes protéicas durante 9 semanas a partir do desmame e no período de gestação. Ciênc. Cult., São Paulo, 32 (7):787-8, 1980.
- 80 - MOURA, E.C.V. & MENDES, A.A. - Efeitos da substituição do farelo de soja pela proteína derivada da cana de açúcar pelo desenvolvimento de *Saccharomyces cerevisiae* em melaço, na alimentação de frangos de corte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, Recife, 1981. 9 p.
- 81 - NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES - Nutrient requirements of laboratory animals. 2.ed. Washington, 1972. p.56-93. (Nutrient requirements of domestic animals series, 10).
- 82 - NOBREGA, F.J.; TONETE, S.S.Q.; SARTOR, M.E.A.; CURY, P.R. - Estudo experimental do crescimento placentário na desnutrição protéico-calórica. J. Pediat., St. Louis, 46 (2):82-92, 1979.
- 83 - OHTA, S.; MAUL, S.; SINSKEY, A.J.; TANNENBAUM, S.R. - Characterization of heat-shock process for reduction of the nucleic acid content of *Candida utilis*. Appl. Microbiol., Baltimore, 22(3):415-21, 1971.
- 84 - OLIVEIRA, E.V. - Proteína derivada da cana de açúcar pelo desenvolvimento de *Saccharomyces cerevisiae* em melaço. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO, 11., Rio de Janeiro - 1978. 31 p.

- 85 - OLIVEIRA, J.D. - Desafio Brasileiro: alimentar adequadamente 110 milhões de habitantes. Bol. ABIA/SAPRO, São Paulo, 26:43-53, 1976.
- 86 - OMSTEDT, T.; VON DER DECKEN, A.; HEDENSKOG, G.; MOGREN, H. - Nutritive value of processed Saccharomyces cerevisiae, Scenedesmus obliquus and Spirulina platensis as measured by protein synthesis in vitro in rat skeletal muscle. J. Sci. Food Agric., London, 24:1103-13, 1973.
- 87 - OSER, B.L. - Evaluation of the safety of new food products. In: MATELES, R.I. & TANNENBAUM, S.R. Single-cell protein. Massachussetts, M.I.T. Press, 1968. p. 153-62.
- 88 - OSER, B.L. - Guidelines for the evaluation of S.C.P. for human consumption. In: TANNENBAUM, S.R. & WANG, D.I.C. Single-cell protein II, Massachussetts, M.I.T. Press, 1975. p.484-8.
- 89 - PELLETT, P.L. & YOUNG, V.R. - Nutritional evaluation of protein foods. The United nations University, 1980. 150 p.
- 90 - PEPPLER, H.J. - Industrial production of single-cell protein from carbohydrates. In: MATELES, R.J. & TANNENBAUM, S.R. Single-cell protein, Massachussetts, M.I.T. Press, 1968. p.229-42.
- 91 - PINTO, G.F. & ARAUJO NETO, J.S. - Limits for single-cell protein utilization in human feeding. Arch. latinoam. Nutr., Caracas, 22(1):49-63, 1972.

- 92 - POKROVSKY, A. - Toxicological studies on single-cell proteins. In: MATELES, R.I. & TANNENBAUM, S.R. Single-cell protein, Massachussetts, M.I.T. Press, 1968. p. 163-5.
- 93 - POKROVSKY, A. - Some results of SCP medico-biological investigations. In: TANNENBAUM, S.R. & WANG, D.I.C. - Single-cell protein II, Massachussetts, M.I.T. Press, 1975. p. 475-84.
- 94 - REED, G. & PEPPLER, H.J. - Yeast technology. Westport AVI, 1973. 378 p.
- 95 - RHA, C. - Utilization of single-cell protein for human food. In: TANNENBAUM, S.R. & WANG, D.I.C. Single-cell protein II, Massachussetts, M.I.T. Press, 1975. p.587-602.
- 96 - ROBERTS, M.M.H. & ZEMAN, F.J. - Effects of protein deficiency pair-feeding, or diet supplementation on maternal, fetal and placental growth in rats. J.Nutr., Philadelphia, 107:973-82, 1977.
- 97 - SALES, A.M.; MENEZES, T.J.B. de, ARAKAKI, T. - Produção de biomassa protéica em melaço de cana de açúcar - Coletânea do Inst. Tecnol. Alimentos, Campinas, 7:97-105, 1976.
- 98 - SCRIMSHAW, N.S.; BRESSANI, R.; WILSON, D.; BEHAR, M. - All-vegetable protein mixtures for human feeding. X. Effect of Torula yeast on protein quality of INCAP Vegetable Mixture 9. Amer. J. clin. Nutr., New York, 11, 537-42, 1962.

- 99 - SCRIMSHAW, N.S. - Single-cell protein for human consumption. An overview. In: TANNENBAUM, S.R. & WANG, D.I.C. Single-cell protein II, Massachussetts, M.I.T. Press, 1975. p. 24- 5.
- 100 - SCHIMSHAW, N.S. - Conceptual basis of the world hunger program. Food Nutr. Bull., New York, 1(4):1-2, 1979.
- 101 - SHACKLADY C.A. - Microbiological protein as a food and feed ingredient. Food Manuf., London, 44:36, 1969.
- 102 - SHACKLADY, C.A. - Value of S.C.P. for animals. In: TANNENBAUM, S.R. & WANG D.I.C. Single-cell protein II, Massachussetts, M.I.T. Press, 1975. p. 489-504.
- 103 - SHETTY, K.J. & KINSELLA, J.E. - Preparation of yeast protein isolate with low nucleic acid by succinylation. J. Food Sci., Chicago, 44:633-8, 1979.
- 104 - SINSKEY, A.J. & TANNENBAUM, S.R. - Removal of nucleic acids in S.C.P. In: TANNENBAUM, S.R. & WANG, D.I.C. Single-cell protein II, Massachussetts, M.I.T. Press, 1975. p.158-78.
- 105 - SMITH, A.W. - El ratón. s.L.p., Organización Panamericana de la Salud, s.d. 122 p. |Serie de monografías científicas y técnicas, 3|. 2.ed. Rio de Janeiro, 1976.
- 106 - SNYDER, H.E. - Microbial sources of protein. Advanc.Food Res., New York, 18:85-137, 1970.
- 107 - STEWART, J.M. & YOUNG, J. - Solid phase peptide synthesis. Freeman W.H. and Company, San Francisco, 1969, p.53-4.

- 108 - STEWART, R.J.C. & SHEPPARD, H.G. - Protein-calorie deficiency in rats. Growth and reproduction. Brit.J. Nutr., London, 25:175-80, 1971.
- 109 - SURE, B. - Biological value of food yeast proteins and their role as supplements to the proteins of the cereal grains. J. Amer. diet. Ass., Chicago, 22:114-6, 1946.
- 110 - SURE, B. - Dietary requirements for fertility and lactation XXXIII. Brewers' and cultured food yeasts as sources of proteins and the vitamin B complex for growth, reproduction and lactation. J. Amer. diet. Ass., Chicago, 22:766-9, 1946.
- 111 - SURE, B. - The nature of the supplementary value of the proteins in milled corn meal and milled wheat flour with dried food yeast. J. Nutr., Philadelphia, 36:59-73, 1948.
- 112 - SURE, B. & HOUSE, F. - Protein utilization of various dried food yeasts. Arch. Biochem., New York, 20:55-8, 1949.
- 113 - TANNENBAUM, S.R. - Factors in the processing of single cell protein. In: MATELES, R.I. & TANNENBAUM, S.R. Single-cell protein, Massachusetts, M.I.T. Press, 1968. p.343-52.
- 114 - TANNENBAUM, S.R. - Single-cell protein, food of the future. Food Technol., Chicago, 25:962-6, 1971.
- 115 - TANNENBAUM, S.R. - A quest for protein and a quest for safety. Food Technol., Chicago, 30:76-80, 1976.

- 116 - THAYSEN, C.A. - Value of microorganisms in nutrition (food yeast). Nature, London, 151:406, 1943.
- 117 - UDO, U.; YOUNG, V.; EDOZIEN, J.; SCRIMSHAW, N. S. - Evaluation of Torula yeast for human consumption. Fed. Proc., Washington, 28:807-10, 1969.
- 118 - VANANUVAT, P. & KINSELLA, J.E. - Aminoacid composition of protein isolates from Saccharomyces fragilis. J. agric. Food chem., Washington, 23(3):595-7, 1975.
- 119 - VANANUVAT, P. - Value of yeast protein for poultry feeds. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., Cleveland 9(4):325-43, 1977.
- 120 - VICKERY, J.R. - Possible developments in the supply and utilization of food in the next 50 years. Food Technol., Chicago, 25:619-24, 1971.
- 121 - WASLIEN, C.I.; CALLOWAY, D.H.; MARGEN, S. - Uric acid production of men fed graded amounts of egg protein and yeast nucleic acid. Amer. J. clin. Nutr., New York, 21:892-7, 1968.
- 122 - WASLIEN, C.I.; CALLOWAY, D.H.; MARGEN, S.; COSTA, F. - Uric acid levels in men fed algae and yeast as protein sources. J. Food Sci., Chicago, 35:294-8, 1970.
- 123 - WASLIEN, C.I. - Unusual sources of protein for man. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., Cleveland, 6(1):77-151, 1975.
- 124 - WATSON, J. - New Protein Food. Nutrition(Lond.), London, 28:249-54, 1973.

- 125 - WILKS, S.S. Apud: MORRISON, D.F. Multivariate statistical methods, New York, McGraw-Hill, 1967. p.197.
- 126 - WINIK, M. - Nutrition pre-and postnatal development, New York, Plenum, 1979. 496 p.
- 127 - YOUNG, V.R. & SCRIMSHAW, N.S. - Clinical studies on the nutritional value of single-cell proteins. In: TAN-
NENBAUM, S.R. & WANG, D.I.C. Single-cell protein II,
Massachussetts, M.I.T. Press, 1975. p.564-86.
- 128 - ZAMENHOF, S.; GUTHRIE, D.; CLARKSON, D. - Study of
possible correlations between body weights and brain
parameters in neonatal and mature rats. Biol. Neonate,
Basel, 24:354-62, 1974.

SUMMARY

The biological value of the proteins of Saccharomyces cerevisiae grown in sugar cane molasses was studied in rats during 3 generations.

The animals were fed two levels of yeast protein either 10% or 25% and compared with casein fed controls.

In the first generation the PER and body weight were significantly lower for the animals receiving the yeast in their diet. In the 2rd and 3rd generation the growth was retarded even more in relation to what had been observed for the first one, specially at 10% protein level. A decreased male fertility was also observed at litter born from rats fed either 10% or 25% protein.

The digestibility for casein was 90% and 80% for single cell protein.