

"DETERMINAÇÃO DO VALOR NUTRITIVO RELATIVO (R.N.V.) DE PROTEÍNAS"

DIRCEU ESTEVÃO^a
RUBENS CECCHINI^a

RESUMO

O R.N.V. (Valor Nutritivo Relativo) de Proteína foi obtido usando ratos albinos (*Rattus rattus*), cepa wistar com 23 dias de idade, alimentados durante 28 dias com dietas contendo 4, 7, 10 e 20% de lactoalbumina (padrão), isolado de proteína de soja e glúten de trigo. Os valores obtidos no teste de R.N.V. foram calculados pela análise de regressão na faixa linear de consumo de proteína. A eficiência nutricional do isolado de proteína de soja foi de 64% e o glúten de trigo de 34%, ambas em relação a lactoalbumina.

PALAVRAS-CHAVE: Dietas; R.N.V.; Lactoalbumina; Isolado de proteína de soja; Glúten de trigo.

1 - INTRODUÇÃO

A eficiência de uma dada proteína no sentido de manter as estruturas orgânicas bem como o crescimento animal, está relacionada com seu conteúdo em aminoácidos e principalmente com o balanceamento entre eles na molécula proteica (HARPER et alii⁸ e JANSEN et alii¹⁵). O conceito de equilíbrio de aminoácidos foi desenvolvido com o trabalho pioneiro de WILLCOK & HOPKINS²¹, e o de OSBORNE & MENDEL¹⁶ & ROSE¹⁹, estabeleceram as necessidades específicas de aminoácidos essenciais.

Os métodos empregados para obtenção do valor nutricional das proteínas tem conduzido a resultados bastante variáveis, estando na dependência do método empregado, sexo, linhagem do animal, idade, duração do teste, condições de laboratório, etc. (HANCKLER⁷).

Que ratos tratados com dietas deficientes em lisina, mostravam uma sensível inibição de crescimento animal e uma redução significativa do nível de proteínas séricas (CANFIELD & CHYTIL³). Os mesmos autores verificaram que ratos alimentados durante 21 dias com dietas contendo 20% de glúten apresentavam um ganho de peso corporal 40% inferior quando comparados com ratos alimentados com 20% de gluten enriquecido com 0,8% de lisina. SAMPSON et alii²⁰ observaram que ratos alimentados com dietas contendo gluten de trigo enriquecidos com lisina apresentavam um ganho de peso corporal satisfatório.

RICHTER & SCHNNEMAN¹⁸ verificaram que ra-

tos tratados com dieta contendo 27% de isolado de proteínas de soja apresentavam um ganho de peso corporal próximo àqueles alimentados com dietas contendo caseína ou proteína de ovo nas concentrações de 23,6 e 24% respectivamente. MERCER e GUSTAFSON¹⁵ utilizando diferentes ensaios biológicos determinaram o valor nutritivo da soja que variou de 65 a 75% em relação a lactoalbumina.

GUMBMANN & FRIEDMAN⁵ verificaram que ratos alimentados com dieta contendo proteína de soja em concentrações que variavam de 5 a 20% enriquecidas com 0,3 de metionina, apresentavam um ganho de peso significativamente maior que aqueles alimentados com dietas contendo apenas proteína de soja.

HEGSTED & CHANG⁹, HEGSTED et alii¹¹ e HEGSTED JULIANO¹⁰ utilizaram diferentes ensaios biológicos sob condições controladas e verificaram que ratos alimentados com dietas contendo gluten apresentavam menor valor nutricional em relação aos ratos submetidos a dietas contendo proteína de soja. HACKLER⁷ relatou que a eficiência nutricional do gluten em relação a lactoalbumina era de 29% aproximadamente.

A avaliação da qualidade nutricional de determinada proteína é feita com o objetivo de classificá-la de acordo com a eficiência de sua utilização sob condições padronizadas. Os ensaios biológicos derivam do trabalho de OSBORNE et alii¹⁵ sendo atualmente conhecidos inúmeros ensaios, entre eles o Valor Relativo Nutritivo (R.N.V.) por nós utilizado neste trabalho.

O objetivo deste trabalho foi determinar com o maior

grau de segurança possível, o valor nutritivo das proteínas de soja e gluten de trigo.

2 – MATERIAL E MÉTODO

2.1 – Nutrientes

As dietas foram separadas com os seguintes componentes: lactalbumina (Sigma Chemical Company, U.S.A), gluten de trigo (Sigma Chemical Company, U.S.A.), isolado de proteína de soja (Sanbra, RS-BR), óleo de milho (Mazola, Refinações de Milho Brasil Ltda.), mistura de sais minerais (Roche) e mistura vitamínica (Roche) segundo AOAC¹, celulose microcristalina (Sigma Chemical Company, U.S.A.) e amido (maizena, Refinações de Milho Brasil Ltda).

2.2 – Método Analítico

As proteínas das dietas foram determinadas em triplicata pelo método microkjedahl (A.O.A.C.¹).

2.3 – Aminograma das Proteínas

Os aminogramas foram realizados no Centro Interdepartamental de Química de Proteínas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. As amostras foram desengorduradas e hidrolisadas com o ácido metano sulfona 4N por 22 horas a 110°C efetivos. Os hidrolisados assim obtidos, foram analisados através de analisador automático de aminoácidos e os resultados, obtidos em duplicata, foram expressos em micromoles de cada aminoácido por mg de amostra.

2.4 – Preparo das Dietas (A.O.A.C.¹)

Para cada proteína estudada foram preparadas 4 dietas contendo 4, 7, 10 e 20%. Todas as dietas continham além das diferentes concentrações de proteína, óleo de milho (8%), sais minerais (5%), mistura vitamínica (1%), celulose (5%) e amido para completar 100%. As dietas foram armazenadas em recipientes de plástico com tampa, devidamente vedados com papel alumínio e mantidas a temperaturas de 21 a 24°C.

2.5 – Animal Experimental

Os experimentos foram realizados com ratos machos albinos, (*Rattus rattus*), cepa wistar, desmamados aos 23 dias de vida na faixa de peso corporal de 35 a 46 gramas e distribuídos aleatoriamente em gaiolas individuais de metal (dimensões 18x18x18 cm). Foram alimentados com as dietas e água “ad libitum” durante 28 dias a partir do desmame. A quantidade das dietas, oferecidas, perdidas e consumidas foram registradas em dias alternados. Foram

utilizados comedouros especiais (BUASSI²), que reduziram sensivelmente a perda de alimento. Através da forração das bandejas das gaiolas com papel de filtro foi possível a quantificação das perdas. Os animais foram pesados em dias alternados sendo que a temperatura ambiente foi mantida entre 21°C e 24°C e a iluminação da sala experimental (Biotério-CCB-FUEL) foi gerada através de lâmpadas fluorescentes, com ciclo luminoso de 12 horas.

2.6 – Método de Estimação do Valor Nutricional de Proteína (HEGSTED e JULIANO)¹¹

O Teste R.N.V. (Valor Nutritivo Relativo) foi obtido utilizando animais tratados durante 28 dias, com dietas contendo as 3 proteínas nas diferentes concentrações já citadas. O R.N.V. foi determinado pelo cálculo do coeficiente angular (slope) da reta obtida pela análise de regressão linear entre o ganho de peso e consumo de proteínas em gramas (proteína de soja e gluten de trigo), dividido pelo coeficiente angular da reta igualmente calculada para os grupos tratados com dieta contendo lactalbumina (padrão).

2.7 – Análise Estatística

A análise estatística para verificação das diferenças entre os grupos de animais foi feita através do teste t de Student, para amostras não pareadas.

Para análise de regressão linear foi utilizado o método dos mínimos quadrados.

3 – RESULTADOS

A tabela 1 mostra os aminogramas das 3 proteínas. O teor de metionina na proteína de soja é cerca de 42% daquele encontrado na lactalbumina. O teor de lisina no gluten de trigo é cerca de 15% daquele da lactalbumina. Estes aminoácidos são limitantes naquelas proteínas.

O consumo de proteína e a variação de ganho de peso são demonstrados na tabela 2. O consumo das proteínas de soja ou gluten de trigo não foram diferentes entre si e em relação a lactalbumina até a concentração de 7% na dieta. A partir de 10% o consumo de glúten de trigo foi comparativamente menor que as outras 2 proteínas. O aumento de peso corporal dos grupos alimentados com proteína de soja ou gluten de trigo foi sensivelmente menor que o grupo padrão em todas as concentrações de proteína empregadas. O gluten de trigo apresentou os mais baixos níveis de aumento de peso corporal.

A análise de regressão linear entre o consumo das proteínas e o ganho de peso corporal (figura 1 e tabela 3) revelam uma estreita correlação entre estes 2 parâmetros. Os valores nutritivos das proteínas de soja e gluten relativos ao padrão lactalbumina (RNV) foram 64% e 34% respectivamente.

TABELA 1 – AMINOGRAMA DAS PROTEÍNAS CONTIDAS NAS DIFERENTES DIETAS EXPERIMENTAIS

Aminoácidos	Proteína de Soja	Glúten de Trigo	Lactoalbumina
Lisina	0,3805	0,4118	0,0923
Histidina	0,1512	0,1471	0,1094
Arginina	0,4244	0,4412	0,1778
Triptofano	0,0537	0,0504	0,0171
Ac. Aspártico	0,8626	0,7731	0,2068
Treonina	0,2390	0,1933	0,1675
Serina	0,3805	0,3277	0,2863
Ac. Glutâmico	1,2135	0,9496	2,1017
Prolina	0,3805	0,3529	0,6346
Glicina	0,4732	0,4034	0,3333
Alanina	0,3854	0,3445	0,2479
1/2 Cistina	0,0585	0,0588	0,1043
Valina	0,3805	0,3361	0,3060
Metionina	0,0585	0,0588	0,0769
Isoleucina	0,3317	0,3277	0,2308
Leucina	0,5512	0,5378	0,4145
Triosina	0,1854	0,1849	0,1573
Finilalamina	0,3171	0,2941	0,2581

Os resultados estão expressos em micromoles de cada aminoácido por mg da amostra. A análise foi realizada no Centro Interdepartamental de Química de Proteínas F.M.R.P – U.S.P. – Responsável: Prof. Lewis Joel Greene.

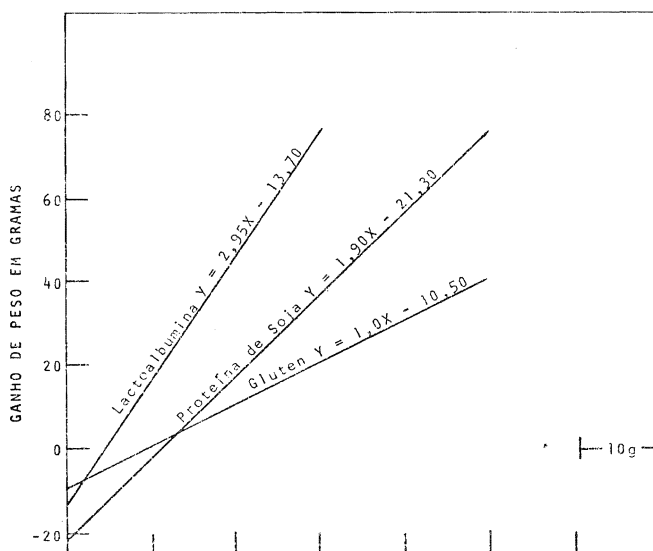


FIGURA 1 – Análise de Regressão linear relacionando o consumo de proteínas e o ganho de peso animal. As retas foram calculadas utilizando-se para cada caso a faixa de consumo linear de proteína (ver tabela 03).

TABELA 2 – CONSUMO DE PROTEÍNA E VARIAÇÃO DE GANHO DE PESO DE RATOS WISTAR, SUBMETIDOS DURANTE 28 DIAS A PARTIR DO DESMAME A DIETAS CONTENDO DIFERENÇAS QUANTITATIVAS E QUALITATIVAS DE PROTEÍNAS.

PROTEÍNA	CONSUMO DE PROTEÍNA (q)				VARIAÇÃO DE GANHO DE PESO (q)			
	% NA DIETA				% NA DIETA			
	4	7	10	20	4	7	10	20
Lactoalbumina	11±0,4	18±0,7	29±0,6	67±0,6	17±1,4	39±1,8	72±3,1	120±3,1
Proteína de Soja	9±0,5	19±0,9	29±0,9	62±1,4+	-4±0,5+	15±1,7+	34±1,3+	100±4,0+
Glúten de Trigo	9±0,4	19±1,0	22±0,1+*	49±1,6+*	-4±0,5+	8±0,7+*	19±1,1+*	38±1,8+*

– Foram utilizados nas concentrações 4,7 e 10% uma média de 15 animais por grupo de proteína. Nos grupos de 20% utilizou-se 8 animais para cada proteína.
 – Os valores contidos na tabela representam a média dos resultados acumulados durante 28 dias de cada grupo ± Epm.
 + Valores estatisticamente significativos a nível de $p \leq 0,05$ em relação à lactoalbumina.
 * Valores estatisticamente significativos entre proteína de soja e glúten de trigo a nível $p \leq 0,05$.

TABELA 3 – DADOS DA ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR RELACIONANDO O CONSUMO DE PROTEÍNAS E O GANHO DE PESO ANIMAL, VALOR NUTRITIVO RELATIVO (R.N.V.) DAS PROTEÍNAS DE SOJA E GLÚTEN EM RELAÇÃO À LACTOALBUMINA.

	Lactoalbumina	Proteína de Soja	Glúten de Trigo
CONSUMO DE PROTEÍNAS EM GRAMAS			
No. de Animais	48	49	50
Coeficiente de Correlação (r)	0,95*	0,98*	0,95*
Intercepto	-13,70	-21,30	-10,50
Slope (inclinação)	2,95	1,90	1,00
D.P. Slope (%)	5,00	3,20	5,10
R.N.V. (Potência Relativa %)	100	64	34

– Os animais foram desmamados 23 dias após o nascimento e a partir deste período cada grupo de animais foi tratado com dietas contendo diferentes proteínas em concentrações variadas durante 28 dias.
 – Para os valores obtidos na lactoalbumina, foram utilizados apenas 3 pontos (4,7 e 10%).
 * Valor de R significativo a nível de 1%.

4 – DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O efeito das proteínas estudadas, sobre o ganho de peso dos animais mostrou que as 2 proteínas promoveram um aumento de peso significativamente menor que a proteína padrão em todas as concentrações analisadas. A proteína de soja provocou um aumento de peso animal superior aos grupos alimentados com glúten de trigo, a partir da concentração de 7% de proteína na dieta. HEGSTED & CHANG⁹ obtiveram aumentos de 30, 70 e 105 gramas para animais tratados com 4,7 e 10% de lactoalbumina. Para as mesmas concentrações daquela proteína, nossos resultados foram de 17, 39 e 72 gramas. Estas diferenças podem ser o resultado da utilização, por estes autores, de uma outra linhagem de rato (Sprague-Dawley). É importante observar no entanto, que apesar das diferenças absolutas verificadas entre nossos resultados e os daqueles autores, a razão de aumento de peso entre as diferentes concentrações na dieta foi praticamente a mesma. Com relação a proteína de soja, o ganho de peso para baixas

concentrações foi inferior àqueles obtidos por HEGSTED & CHANG⁹, mas em altas concentrações, os valores foram semelhantes. HEGSTED & JULIANO¹¹ e HARPER⁸ apresentaram evidências de que quando a qualidade e o nível de proteína na dieta são baixos, não há boa reprodutibilidade da curva dose-resposta e as variações muitas vezes são consideráveis. O ganho de peso por nós obtido para os animais tratados com gluten de trigo nas concentrações que variaram de 4 a 20%, foram por outro lado superiores àquelas encontradas por HEGSTED & CHANG⁹.

O Valor Nutritivo Relativo (R.N.V.) mostrou que o isolado de proteína de soja apresenta 64% da eficiência da lactoalbumina e o gluten de trigo 34%. Estas eficiências são maiores do que àquelas obtidas por HEGSTED & CHANG⁹, que obtiveram 34 e 22% para a soja e gluten respectivamente. Um dos possíveis fatores que poderiam explicar a diferença verificada em relação à soja, é o fato dos autores terem utilizado animais com peso inicial para a soja, superior àquele da lactoalbumina. Como o consumo de alimento é função do peso corporal (CARPENTER⁴), a utilização de animais maiores deve ter interferido principalmente nos resultados iniciais de curva dose-resposta. HEGSTED et alii¹¹ e MERCER & GUSTAFSON¹⁵ utilizando ratos após o desmame obtiveram um RNV de 65 a 75% para a proteína de soja respectivamente, próximos, portanto, de nossos resultados. Em relação ao gluten de trigo os nossos valores de RNV foram substancialmente superiores ao obtido por HEGSTED et alii¹¹. Um dos fatores que poderia justificar esta diferença é o fato de que estes autores utilizaram uma linhagem de ratos diferente daquela empregada neste trabalho. Tem sido descrito na literatura que diferentes linhagens da mesma espécie animal diferem em sua habilidade para digerir proteínas de cereais

em virtude de diferenças em suas enzimas digestivas e em outras funções do sistema gastrointestinal. Estas diferenças afetariam a biodisponibilidade das proteínas, interferindo na sua eficiência (KIES¹⁴ e SAMPSON et alii²⁰). Tem sido observado também, que proteínas de baixo valor nutricional com limitações principalmente em lisina (gluten), provocam muitos problemas metabólicos conduzindo a variações nutricionais importantes e por conseqüência a obtenção de resultados de valor nutricional de proteínas muitas vezes significativamente diferentes (SAMPSON et alii²⁰ e IRITANI et alii¹²).

Por outro lado em uma revisão feita por HACKLER⁷ são relatados valores de RNV para o gluten de trigo próximos dos valores por nós obtidos.

O valor nutricional de uma proteína não é apenas determinado pelo seu conteúdo absoluto de aminoácidos essenciais, mas também pela proporção entre eles e os aminoácidos de uma proteína padrão (HARPER et alii⁶, HACKLER⁷) observou que existe um perfil ótimo de aminoácidos para uma determinada espécie animal. Desvio deste perfil reduz significativamente a eficiência de utilização proteica. Os valores de RNV obtidos neste trabalho concordam com a análise química das proteínas estudadas. Observa-se que o aminograma da proteína de soja é superior ao gluten de trigo, não só em valores absolutos como também relativo à proteína padrão. O aminograma da proteína de soja revela um teor de metionina em torno de 42% relativo àquele observado para a lactoalbumina. Para o gluten de trigo o teor de lisina, cerca de 15% em relação àquele observado para a lactoalbumina. Estes dados confirmam que a proteína de soja apresenta um valor nutritivo intermediário entre a lactoalbumina e o gluten de trigo e o gluten como a proteína mais deficiente dentre as analisadas neste trabalho.

ABSTRACT

The Relative Nutritive Value (R.N.V.) of protein was obtained with white rats, Rattus rattus, wistar strain, 23 days old, fed during 28 days with diets containing 4, 7, 10 and 20% lactoalbumin (standard); soy protein isolates and wheat gluten. The value obtained on RNV tests were calculated from regression analysis, on the range of linear protein consumption. The nutritional efficiency of soy protein isolates was of 64% and of wheat gluten, 34% both in relation to lactoalbumin.

KEY WORDS: Diets, R.N.V., Lactoalbumin, Isolate of soy protein, Wheat gluten.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - A.O.A.C. *Official Methods of Analysis*. 12. ed. Washington, 1975. 857p.
- 2 - BUASSI, N. *Farinha de soja integral; aspectos nutricionais e fisiológicos em modelo biológico*. Londrina, Universidade Estadual de Londrina, 1981. Tese (Mestr. Ciên.) Univer. Est. de Londrina.

- 3 – CANFIELD, L.M. & CHYTIL, F. Effects of low lysine diet on rat protein metabolist. *J. Nutr.*, 108: 1343-1347, 1978.
- 4 – CARPENTER, K.J. The concept of an "Appetite quotient" for the interpretation of "ad libitum" feeding experiments. *J. Nutr.*, 51: 435, 1953.
- 5 – GUMBMAN, R.M. & FRIEDMAN, M. Effect of sulfur aminoacid Supplementation of raw soy flouf on the growth and pancreatic weightsof rats. *J. Nutr.*, 117: 1018-1023, 1987.
- 6 – HARPER, A.E.; BENEVENGA, N.J.; WOHLHUETER, R.M. Effects of ingestion of disproportionate amonts of aminoacids. *Physiol. Rev.*, 50: 428, 1970.
- 7 – HACKLER, L.R. Methods of measuring protein quality a review of biossay procedures. *Cereal Chem.*, 54: 984-995, 1976.
- 8 – HARPER, A.E. McCollum and diretions in the evolution of protein quality. *J. Agric. Food. Chem.*, 29: 429-435, 1981.
- 9 – HEGSTED, D.M. & CHANG, Y. Protein utilization in growing rats. *J. Nutr.*, 85: 159-167, 1965.
- 10 – HEGSTED, D.M. & JULIANO, B.O. Difficulties in Assessing the nutricional quality of rice protein. *J. Nutr.*, 103: 772-781, 1974.
- 11 – HEGSTED, D.M.; NEFF, R.; WORCESTER, J. Determination of the Relative Nutritive Value of proteins. *J. Agr. Food. Chem.*, 16: 190-195, 1968.
- 12 – IRITANI, N.; NAGASHIMA, K.; FUKUDA, H.; KATSURADA, A.; TANAKA, T. Effects of Dietary Proteins on Lipogenic Enzymes in Rat Liver. *J. Nutr.*, 116: 190-197, 1986.
- 13 – JANSEN, G.R.; SCHIBLY, M.B.; MASOR, M.; SAMPSON, D.A.; LONGENECKER, J.B. Free Aminoacid During Lactation in Rats: Effects of Protein Quality and Protein Quantity. *J. Nutr.*, 116: 376-387, 1986.
- 14 – KIES, C. Bioavailability: the factors in proteins Quality. *J. Agric. Food. Chem.*, 29: 435-440, 1981.
- 15 – MERCER, L.P. & GUSTAFSON, J.M. A New Protein Quality Evolution Idex Based on Growth Responses of Rats. *J. Nutr.*, 113: 911-919, 1986.
- 16 – OSBORNE, T.B. & MENDEL, L.B. Aminoacids in Nutrition and Growth. *J. Biol. Chem.*, 17: 325, 1914.
- 17 – OSBORNE, T.B.; MENDEL, L.B.; FERRY, E.L. The Method of Expressing Numerically the Growthpromoting Value of Proteins. *J. Biol. Chem.*, 37: 223, 1919.
- 18 – RICHTER, B.D. & SCHINEEMAN, B.O. Pancreatic Response to Long-Term Feeding of Soy Protein Isolate, Casein or Egg White in Rats. *J. Nutr.*, 117: 247-252, 1987.
- 19 – ROSE, W.C. The Nutritional Significance of the Aminoacids. *Physiol Rev.*, 18: 109, 1938.
- 20 – SAMPSON, D.A.; HUNSAKER, H.A.; JANSEN, G.R. Dietary protein Quality, Protein Quantity and food Intake: Effects on Lactation and on Protein Synthesis and Tissue Composition in Mammary Tissue and Liver in Rats. *J. Nutr.*, 116: 365-375, 1986.
- 21 – WILLCOK, E.G. & HOPKING, F.G. The Importance of Individual Aminoacids in Metabolism; Observations on the effect of Adding Tryptopham to a Dietary in Wich Zein is the Sole Nitrogenous Constitnent. *J. Physiol.*, 35: 88, 1906.

Recebido para publicação em 20/03/89