

ORIGINAL | ORIGINAL

Influência de frações da parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre alguns parâmetros nutricionais de ratos em crescimento

*Influence of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell wall fractions on some nutritional parameters of growing rats*

Saula Goulart CHAUD¹
Valdemiro Carlos SGARBIERI¹
Eduardo VICENTE²

RESUMO

Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência das frações de parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre alguns parâmetros nutricionais de ratos Wistar em crescimento.

Métodos

A biomassa de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), coletada sem sofrer o processo de termólise, foi recebida da usina São José, Zillo Lorenzetti (Macatuba, SP), em suspensão de, aproximadamente, (20% p/v) de células. O fracionamento da parede celular da levedura foi realizado por extração diferencial, centrifugação e secagem em *spray dryer*. A importância como fibra da dieta foi determinada em ratos da linhagem Wistar, recém desmamados, por meio das seguintes avaliações: ganho de peso corporal, consumo de dieta (28 dias), quociente de eficiência da dieta, digestibilidade aparente da proteína, quantidade total de fezes, lipídeos e colesterol excretados nas fezes.

Resultados

Os animais que receberam a dieta contendo a fração glicana mais manana ganharam menos peso em relação aos demais tratamentos. A dieta com a fração manana foi a que proporcionou maior ganho de peso, seguida pela dieta padrão (AIN-P) e a dieta com 10% de glicana insolúvel. Quanto ao quociente de eficiência da dieta, observou-se, ao longo dos 28 dias, que a dieta com a fração glicana mais manana foi a que apresentou os menores valores. As maiores porcentagens de digestibilidade aparente da proteína foram observadas nas dietas: padrão modificada (AIN-M), padrão (AIN-P) e (M) com 10% da fração manana. As quantidades de lipídeos totais e colesterol excretados nas fezes variaram bastante entre as dietas, sendo que a dieta formulada com 10% de fração manana foi a que promoveu maior excreção do colesterol.

¹ Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição. R. Monteiro Lobato, 80, 13083-970, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: V.C. SGARBIERI. E-mail: <sgarb@fea.unicamp.br>.

² Instituto de Tecnologia de Alimentos, Centro de Química de Alimentos. Campinas, SP, Brasil.

Conclusão

Ao final de 28 dias, os animais que receberam a dieta contendo 10,0% da fração glicana mais manana apresentaram o menor consumo de dieta e ganharam menos peso em relação às demais dietas. A digestibilidade aparente de todas as dietas foi elevada, em média 98,6%, contudo, as quantidades de lipídeos totais e colesterol excretados nas fezes variaram consideravelmente, sendo que a dieta contendo manana excretou, proporcionalmente, maior quantidade de colesterol.

Termos de indexação: Mananas. Parede celular. Polissacarídeos. *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

Objective

The objective of the present work was to assess the nutritional impact of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall fractions on some nutritional parameters in growing Wistar rats.

Methods

Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) biomass collected without undergoing thermolysis came from the mill São José, Zillo Lorenzetti (Macatuba, SP) in a suspension of approximately 20% p/v of cells. Fractionation of the cell wall material was done by differential extraction, centrifugation, and drying in "spray dryer". The importance of the yeast cell components as dietary fibers was assessed in recently weaned Wistar rats by measuring weight gain, diet consumption (28 days), diet efficiency ratio, apparent protein digestibility, total amount of feces and lipids and cholesterol excreted in feces.

Results

Rats which were submitted to diets containing glycan plus mannan gained less weight when compared with the other diets. The mannan-containing diet yielded the highest weight gain, followed by the standard AIN diet (S-AIN) and the insoluble glycan diet. Regarding diet efficiency ratio, the diet containing glycan plus mannan produced the lowest values throughout the 28 days. The highest apparent protein digestibility was obtained for the modified standard diet, for the standard AIN diet, as well as for the 10% mannan-containing diet (M). Total lipids and cholesterol excreted in the feces varied substantially among the diets. The diet containing 10% mannan was the one that promoted the greatest excretion of cholesterol.

Conclusion

At the end of 28 days, the rats submitted to the glycan plus mannan-containing diets consumed less food and gained less body weight than those submitted to the other diets. Apparent digestibility of all diets was high, 98.6% on average. The amounts of total lipids and cholesterol excreted in the feces varied considerably; however, the mannan-containing diet promoted proportionally more cholesterol excretion than the other diets.

Indexing terms: Mannans. Cell wall. Polysaccharides. *Saccharomyces cerevisiae*.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de álcool de cana de açúcar, com uma produção de 300 milhões de toneladas de cana de açúcar, 381 milhões de sacos de 50kg de açúcar e mais de 12 milhões de metros cúbicos de álcool anidro e hidratado na safra de 1999/00¹, e utiliza levedura na transformação do açúcar em álcool. Porém, o excesso de levedura, subproduto da produção de álcool por via fermentativa, é normalmente descartado ou usado somente como ração animal. A

fim de fazer melhor uso destas leveduras e diminuir a poluição ambiental, têm sido conduzidos estudos para recuperação e agregação de valor a este subproduto da produção de álcool etílico^{2,3}.

O uso de levedura íntegra em processamento de alimentos é, geralmente, limitado devido ao odor e sabor indesejáveis da levedura seca⁴. No entanto, o fracionamento da levedura produz derivados que podem ser adicionados em alimentos. Alguns desses derivados seriam o autolizado, obtido pelo processo de autólise das células;

o extrato de levedura e parede celular, obtidos pelo fracionamento do autolisado em fração solúvel (extrato) e insolúvel (parede celular) e o concentrado protéico⁵.

A fração parede celular (PC) é composta por mananas, beta-glicanas e glico-proteínas com propriedades fisiológicas e funcionais bastante interessantes⁶. A parede celular integral de levedura, bem como suas frações polissacarídicas, podem servir como fontes de fibra da dieta a qual é considerada agente hipocolesterolêmico⁷.

Estudos experimentais e epidemiológicos mostraram que as fibras apresentam, entre outras propriedades, a de atuar como um regulador intestinal, com efeito laxativo. As fibras também apresentam propriedades que ajudam no tratamento de doenças como diabetes e hipercolesterolemia e, por estas características, atuam na prevenção de doenças coronárias e câncer de cólon⁸. Segundo Sgarbieri & Pacheco⁸, alguns autores procuram explicar a ação preventiva da fibra da dieta sobre a diminuição da incidência de câncer de cólon por um dos seguintes efeitos: a) redução da exposição a agentes carcinogênicos, pelo aumento do bolo fecal ou pela diminuição do tempo de trânsito do bolo intestinal; b) redução da produção de ácidos biliares secundários, pela diminuição de bactérias produtoras da enzima 7- α -desidroxilase responsável pela conversão dos ácidos biliares primários nos ácidos secundários, que são pró-carcinogênicos; c) efeito ligante da fibra a hormônios (estrógenos promotores de câncer de cólon e de mama); d) produção de ácidos graxos de cadeia curta que contribuem para o abaixamento do pH do meio intestinal e desempenham papel fisiológico importante, nos tecidos epitelial e hepático. Além disso, para o combate à hipercolesterolemia é importante não apenas o tipo de fibra, mas também os níveis de colesterol dos pacientes⁹.

A incorporação de 20% da fração glicana na dieta hipercolesterolêmica de ratos baixou rapidamente e, de forma significativa, os níveis de colesterol sérico; por esse motivo, ela pode ser considerada um agente hipocolesterolêmico¹⁰.

Segundo Williams et al.¹¹, a β -glicana isolada de *Saccharomyces cerevisiae* apresenta propriedade imunoestimulante. Essa glicana pertence à classe das drogas conhecidas como Modificadoras da Resposta Biológica (*Biological Response Modifiers* - BRMs), com efeito benéfico em uma variedade de doenças experimentais causadas por bactérias, vírus, fungos e parasitas. Além disso, atua como modificadora da supressão imunológica e também de doenças neoplásicas, no plano experimental.

Uma vez que a parede celular de levedura é composta por carboidratos que auxiliam na redução do colesterol, é de interesse o estudo da eficiência das frações dela obtidas, como fonte de fibra da dieta. O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar o impacto de frações extraídas da parede celular de levedura, como única fonte de fibra dietética, no crescimento e em outros parâmetros fisiológicos, de ratos recém-desmamados.

MÉTODOS

Obtenção das frações

A biomassa de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), coletada sem sofrer o processo de termólise, foi recebida da usina São José, Zillo Lorenzetti (Macatuba, SP), em suspensão de, aproximadamente, 20% p/v de células. A higienização e o posterior fracionamento das células em extrato de levedura (Ex) e parede celular bruta (PC), na forma desidratada, foram realizados como descrito por Sgarbieri et al.¹² No processo de fracionamento, a parede celular bruta apresentou um rendimento de 70%, a partir da biomassa de levedura.

O fracionamento da parede celular para obtenção das frações: manana (M), glicana mais manana (G+M), glicana insolúvel (GI) e glico-proteína foi realizado em laboratório, mas pode ser empregado também em escala piloto.

A fração lipídica foi isolada da PC desidratada com etanol 95% na proporção de 1:2

p/v (2 extrações), n-hexano na proporção de 1:2 p/v (4 extrações). A combinação dos extratos obtidos com o etanol e com n-hexano foi filtrada e concentrada em rotavapor, conforme metodologia descrita por Kollar et al.¹³. Foram feitas as seguintes modificações: extrações com etanol 95% (2 extrações), n-hexano (4 extrações) utilizando a rotação de 14.000g, durante 20min, a temperatura de 10°C.

As frações de PC utilizadas neste trabalho foram obtidas seguindo metodologia proposta por Otero et al.⁶, a partir da parede celular desengordurada.

A seqüência de operações seguida para o fracionamento da PC desengordurada (lotes de 100g) foi a seguinte: a) extração com solução de NaOH 1% (1:3 p/v) a 75° por 20 min, com agitação; b) centrifugação (10.000g, 15min) para obtenção de resíduo de 700g (70,0%), que representou a fração glicana mais manana (G+M) e um sobrenadante; c) o sobrenadante foi tratado com 3 vol de etanol 95% (12h a 4°C) seguido de centrifugação, sendo que o precipitado foi desidratado (liofilização) para obtenção da fração glicoproteína (GP), com um rendimento de 94,9g (9,5%); d) a fração G+M foi extraída com solução de KOH a 2% (3h, 93°C) seguida de neutralização e centrifugação; e) a fração insolúvel (GI) foi lavada com água em repetidas centrifugações e, após resuspensa em água, foi desidratada por liofilização, com um rendimento de 429,2g (42,9%); f) o sobrenadante da extração alcalina foi tratado com 3 vol de etanol 95% (12h, 4°C) e, em seguida, submetido à centrifugação. O precipitado, após lavagem com etanol 95%, foi liofilizado, obtendo-se a fração manana, 250g (25,1%).

As frações obtidas em todo o processo de fracionamento, três repetições, foram reunidas e dialisadas (membrana MWCO 6000 a 8000 daltons, 50 milímetros x 30 metros - Thomas, Swedes-boro, *New Jersey* - EUA) em água destilada a 4°C, com agitação e troca de 3 vezes ao dia (volume 10L) durante 3 dias. O objetivo da diálise foi eliminar o cloreto de sódio (NaCl) e os compostos de baixo peso molecular (PM<8000

Da). Em seguida, as amostras dialisadas foram liofilizadas ou desidratadas em *spray dryer*, pesadas para determinação do rendimento e armazenadas a -18°C para posterior realização dos estudos programados.

Composição centesimal

A composição centesimal foi realizada para os seguintes materiais: PC, G+M, M e GI. Os cálculos foram feitos a partir da média de três repetições analíticas com estimativas de desvio-padrão. Umidade e sólidos totais foram determinados segundo a *Association of Official Agricultural Chemists*¹⁴. Os sólidos totais foram obtidos pela diferença entre o peso total da amostra e o conteúdo em umidade, após secagem em estufa a 105°C até peso constante. O teor de cinza¹⁴ representa o resíduo que permanece após a incineração da amostra a 500 - 550°C, com destruição da matéria orgânica. O nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldahl semi-micro¹⁴, multiplicando-se o teor de N pelo fator 6,25 para obter o conteúdo de proteína bruta. Os teores de fibra solúvel e insolúvel foram obtidos por método enzimático e gravimétrico¹⁵. Neste método, a amostra finamente moída foi resuspensa e submetida primeiramente à ação de protease e amiloglicosidase (Sigma nº P-3930, St. Louis, Estados Unidos). A partir deste hidrolisado, foram determinados os teores de fibra insolúvel por lavagem em um filtro com água e acetona, e a fibra solúvel foi obtida do filtrado por precipitação com etanol a 95% e por filtração, seguida de lavagem no próprio filtro com etanol e acetona. A filtração foi realizada com auxílio de lã de vidro. Após secagem, o material retido no filtro foi pesado e corrigido para teores de proteína e cinza. A fibra total foi estimada pela soma dos teores de fibra insolúvel e solúvel. Os lipídeos polares e apolares (lipídeos totais) foram determinados gravimetricamente após extração com uma mistura dos solventes clorofórmio: metanol: água na proporção de 10:20:0,8 e evaporação do solvente¹⁶.

A determinação de lipídeos totais nas fezes foi realizada segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz¹⁷. Em síntese, o método consta da extração de quantidade conhecida da amostra (ex. 5g) em uma mistura de água: HCl (100+60mL), que é aquecida à ebulição por 30 minutos. Após esse tempo, é deixada à temperatura ambiente para esfriar e é filtrada, lavando-se o filtro com água até eliminação total do íon Cl⁻. O funil, juntamente com o papel de filtro, é secado em estufa (2h, 70°C) e, após secagem, o papel de filtro é dobrado em cartucho e colocado em extrator Soxhlet, conectado a um balão de fundo chato, tarado, contendo 80mL de éter de petróleo aquecido à ebulição (6-8h) para extração dos lipídeos. Após evaporação do solvente, a porcentagem de lipídeos no balão foi calculada: % lipídeos totais=(peso do balão + matéria graxa) - tara do balão/peso da amostra x 100.

A determinação de colesterol nas fezes foi realizada por cromatografia gasosa pelo método de Jiang et al.¹⁸, com algumas modificações. Pesou-se 0,25g (Desvio-padrão - DP 0,01) de amostra em um tubo de ensaio de 70mL com tampa rosqueável, adicionou-se 5mL de KOH 2% em etanol absoluto, deixou-se em banho maria a 50°C, durante 2 horas com agitação. Adicionou-se 5mL de H₂O destilada, deixando-se em repouso até resfriar. Adicionou-se 10mL de hexano e agitou-se por 1 minuto. Transferiu-se 5mL do hexano (fase superior) para um tubo de ensaio de 15mL com tampa rosqueável. Secou-se completamente em banho maria na presença de N₂ a 40°C. Armazenou-se em freezer até o momento de ser injetado no cromatógrafo. A amostra seca foi dissolvida em um volume adequado (3 a 30µL) de solução do padrão interno contendo 100mg/mL de 5- α -colestano em isopropanol, de modo que a concentração de colesterol ficasse dentro da curva de calibração, injetando-se no cromatógrafo (1µL). A quantificação foi feita utilizando-se uma curva de calibração com padronização interna. Concentração do colesterol na curva: 12 a 160µg/mL. Condições cromatográficas: a) coluna: DB5, 30m, 0,25mm d.i.;

0,25µm de filme; b) temperaturas: coluna - 160°C/2min - 160 a 300 (8°C/min) - 300°C/20 min, injetor - 270°C, detector - 300°C; c) pressão na coluna: 12 psi (300°C); d) *Make up* (N₂): 30mL/min; e) hidrogênio: 30mL/min; f) ar sintético: 300mL/min; g) *split*:1:50; h) volume injetado: 1µL.

Ensaio biológico

Foram utilizados ratos machos Wistar, adquiridos do Centro de Bioterismo da Unicamp (CEMIB), com idade de 21 dias, os quais foram inicialmente pesados e separados em 5 grupos com 8 ratos cada, sendo que cada grupo, após a separação, foi tratado com a sua respectiva dieta sem período de adaptação. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais, com livre acesso às dietas e à água. Durante o ensaio, a temperatura do laboratório foi mantida em 22°C (DP=2°C), sendo que a iluminação foi controlada, com períodos alternados de luz e escuro de 12 horas.

A fração glicoproteína não foi utilizada na elaboração das dietas e nem nas análises de composição centesimal, pois o intuito deste trabalho foi avaliar os efeitos das frações ricas em fibras, provenientes da parede celular (PC), e não da proteína.

As dietas foram elaboradas seguindo as recomendações da AIN-93G¹⁹, com algumas modificações, na dieta padrão (dieta AIN-P) que contém 17% de caseína e 5% de celulose: a) dieta padrão modificada (AIN-M) com 10% de celulose comercial, adicionada de 1% de colesterol e 10% de gordura de coco. A gordura de coco contém elevada percentagem de ácidos graxos saturados e foi introduzida para promover hipercolesterolemia por facilitar a observação do efeito hipocolesterolêmico; b) as dietas experimentais foram preparadas contendo 10% de cada fração de PC mais 1% de colesterol e 10% de gordura de coco e foram denominadas dietas G+M, M ou GI, conforme a fração de PC incorporada. Os outros nutrientes foram ajustados de acordo com

a dieta padrão (AIN-93G)¹⁹. No cálculo da composição das dietas foram levados em consideração os nutrientes contidos nas frações de PC, conforme indicação que consta da Tabela 1.

Foram realizados 5 tratamentos com 8 ratos em cada tratamento (totalizando 40 ratos), que foram sacrificados nos tempos: T₀, 8 ratos, antes de receberem as dietas; T₁₄, 14 dias recebendo as dietas, (4 ratos) e T₂₈, 28 dias recebendo as dietas (4 ratos de cada tratamento). O consumo de dieta e, conseqüentemente, de proteína, foi avaliado duas vezes por semana e o somatório dessas avaliações foi utilizado para o cálculo do consumo total no final dos 28 dias.

As fezes foram cuidadosamente coletadas nos intervalos T₀-T₁₄, T₁₄-T₂₁ e T₂₁-T₂₈ e os pesos dos animais tomados no final de cada período. Depois de separados os contaminantes (partículas de alimentos, pelos etc.), as fezes foram secas em estufa à temperatura (105°) para moagem e posterior análise.

Com base na dieta e na proteína ingeridas, no nitrogênio absorvido e excretado nas fezes e no ganho de peso corporal, puderam ser calculados: o quociente de eficiência alimentar (CEA) pela relação ganho de peso (g)/consumo de dieta (g), o quociente de eficiência protéica (PER), pelo ganho de peso (g)/proteína ingerida (g) e a diges-

tibilidade aparente da proteína pela relação (nitrogênio ingerido - nitrogênio nas fezes/nitrogênio ingerido x 100).

Os resultados foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) e as diferenças significantes entre as médias ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey, utilizando-se o programa *Statistica: Basic Statistics and Tables*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da composição centesimal da PC semi-purificada e das frações dela extraídas é apresentada na Tabela 1.

Na parede celular semi-purificada (PC), o componente quantitativamente mais importante foi a fibra (77,8%), com uma predominância de fibra solúvel (74,0%). Na PC permaneceram, mesmo depois de lavada exaustivamente com água, de 18,0% a 20,0% de proteínas, que são glicoproteínas estruturais²⁰. Nas frações extraídas da PC semi-purificada, a fibra foi o componente quantitativamente mais importante, representando 70% na fração G+M e 84,0% nas frações M e GI. Nas frações G+M e M predominaram as fibras solúveis nas concentrações de 60,0% e 70,0%, respectivamente, enquanto na fração GI predo-

Tabela 1. Composição centesimal da parede celular (PC) semi-purificada de levedura da fermentação alcoólica obtida pelo processo de autólise industrial e de suas respectivas frações dialisadas.

Componente (% b.s.) ¹	PC		G+M		M		GI	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
Proteína (Nx6,25)	18,8	0,50 ^b	21,4	0,20 ^a	6,0	0,40 ^c	6,2	0,50 ^c
Fibra alimentar:								
Total	77,8	0,60 ^b	69,7	0,20 ^c	83,9	0,10 ^a	84,4	0,20 ^a
Insolúvel	3,8	0,10 ^d	9,5	0,50 ^c	13,5	0,50 ^b	75,2	0,20 ^a
Solúvel	74,0	0,60 ^a	60,2	0,40 ^c	70,3	0,60 ^b	9,2	0,50 ^d
Cinza	1,4	0,02 ^c	3,2	0,09 ^b	3,1	0,02 ^b	4,0	0,08 ^a
Lipídeos totais	2,0	0,05 ^c	3,8	0,03 ^b	0,6	0,06 ^d	4,0	0,05 ^a
Não determinados ² (diferença)	0		1,9		6,8		1,4	

b.s. - base seca; ¹ Média de três determinações (triplicata) DP: desvio-padrão. Os resultados seguidos de mesma letra minúscula (linhas) não diferem ao nível de 5% ($p > 0,05$); PC: parede celular; G+M: glicana+manana; M: Manana; GI: glicana insolúvel. ² Não determinados: 100 menos somatória dos demais componentes.

minaram as fibras insolúveis perfazendo 75,0% dessa fração.

Manana (M) e GI apresentaram, em cada uma das frações, cerca de 6,0% de proteína enquanto a fração G+M, por conter ainda as glicoproteínas, apresentou teor bem mais alto (21,4%) de proteína. Essas porcentagens de proteínas foram descontadas quando se estava preparando as dietas, sendo que todas as dietas foram preparadas com uma porcentagem de 17,0% de proteínas.

A literatura traz poucas referências à quantidade e à proporção de frações de polissacarídeos na parede celular de *S. cerevisiae*. Além disso, três aspectos se destacam: a) são referências das décadas de 1950 e 1960; b) são analisadas células cultivadas em meio sintético de laboratório, em condições de crescimento ideais; c) os dados referem-se, exclusivamente, a duas frações denominadas glicana e manana.

MacWilliam²¹ relata que glicanas representam 30% a 45% do peso seco da parede celular de levedura de cervejaria; e as mananas representam também 30% a 45%. Cita ainda que o valor médio para cada uma dessas frações é de 40%. A literatura aponta para a existência de glicanas e mananas em proporção praticamente igual na parede celular de *S. cerevisiae* e com teor total entre 60% a 90%. A composição centesimal da PC foi bastante semelhante à relatada

na literatura por vários pesquisadores, do Brasil e do exterior^{21,22,23}.

A Tabela 2 mostra o consumo médio comparativo de dieta pelos ratos nos grupos experimentais e padrão, nos vários períodos. Verificou-se que os animais alimentados com a dieta contendo 10% da fração glicana mais manana (G+M) apresentaram o menor consumo, somente não diferindo estatisticamente quando comparado à dieta contendo 10% da fração glicana insolúvel (GI). Conseqüentemente, o ganho de peso dos animais alimentados com a dieta G+M foi significativamente menor (Tabela 3), demonstrando, talvez, a propriedade da fração G+M de promover saciedade, resultando em perda de apetite, promovendo baixo consumo da dieta e de ganho do peso. Os animais em dietas padrão AIN-P, padrão modificado (AIN-M) ou contendo 10% da fração manana (M) foram os que consumiram maior quantidade de dieta em relação às demais durante todo o experimento.

Segundo Sgarbieri & Pacheco⁸, as fibras insolúveis, tais como celulose, algumas hemilceluloses e ligninas, exercem um efeito físico-mecânico, aumentando o volume do bolo alimentar e das fezes e diminuindo o tempo de trânsito intestinal e de esvaziamento gástrico. Assim sendo, as fibras insolúveis aumentam o volume do bolo fecal, proporcionando uma diminuição de consumo de dieta e, conseqüentemente, menor ganho de peso.

Tabela 2. Consumo de dieta (g) de ratos Wistar para os diferentes tratamentos dietéticos, com 17% de proteína, nos tempos 0-7, 7-14, 14-21, e 21-28 dias.

Tratamentos (fonte de fibras)	Consumo médio de dieta (g)/grupos									
	T0-T7		T7-T14		T14-T21		T21-T28		T0-T28	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
AIN-P	111,3	10,4 ^{cB}	156,3	11,6 ^{aA}	137,7	13,7 ^{bA}	131,5	16,6 ^{bA}	536,8	7,8 ^A
AIN-M	108,8	8,6 ^{cBC}	148,8	7,2 ^{aA}	126,9	14,7 ^{bA}	132,2	11,4 ^{bb}	516,7	8,8 ^B
G+M	91,1	7,3 ^{bD}	126,0	7,4 ^{aB}	93,7	6,5 ^{bb}	95,9	8,9 ^{bb}	406,7	10,9 ^F
GI	97,1	7,7 ^{bCD}	136,0	6,5 ^{aB}	102,9	8,2 ^{bb}	106,5	6,1 ^{aA}	442,5	9,1 ^D
M	126,9	7,9 ^{aA}	105,4	10,6 ^{bC}	124,8	7,8 ^{aA}	129,9	9,4 ^{aA}	487,0	10,5 ^C

Dieta padrão AIN-93G (AIN-P); dietas modificadas: padrão modificada (AIN-M) → 10% celulose comercial; G+M → 10% glicana + manana; GI → 10% glicana insolúvel; M → 10% manana. Resultados são médias e DP: desvios-padrão de oito ratos por tratamento; letra maiúscula (colunas) representa as comparações estatísticas entre tratamentos; letra minúscula (linhas), comparações entre períodos. Tempo inicial (T₀), 7 d (T₇), 14 d (T₁₄), 21 d (T₂₁), 28 d (T₂₈).

As pesquisas têm demonstrado que alguns oligossacarídeos não digeríveis estimulam, efetivamente, a absorção de alguns minerais, como cálcio, magnésio, ferro e zinco.²⁴

Na Tabela 3 é apresentado o ganho de peso corporal médio para os ratos nas diferentes dietas. Constatou-se que os animais submetidos aos vários tratamentos inicialmente ganharam peso no mesmo ritmo em todos os tratamentos. Entre 21 e 28 dias, observou-se que os ratos de todos os grupos apresentaram menor ganho de peso. A única hipótese plausível para esse fenômeno seria uma diminuição na intensidade e eficiência metabólica, uma vez que houve uma diminuição correspondente do quociente de eficiência alimentar (CEA). As dietas contendo 10% de glicana insolúvel (GI) e, por último, a dieta com 10% da fração glicana mais manana (G+M), promoveram crescimento inferior às demais dietas.

Face ao consumo médio total de dieta (Tabela 2) e ao ganho médio total de peso (Tabela 3) no intervalo T_0 - T_{28} , e considerando que as dietas continham 17% de proteína, pode-se calcular o PER_{op} (ganho de peso (g)/proteína ingerida (g)) para todos os tratamentos com 10% dos diversos tipos de fibra da dieta. Os valores de PER_{op} variaram de 1,6 para a dieta G+M, a 1,9 para a dieta M. Na dieta padrão (AIN-P), este índice foi de 1,7 e 1,8 para as dietas AIN-M e GI.

Esses valores de PER_{op} são considerados baixos para a caseína, usada como proteína padrão em todas as dietas. O valor padrão para a caseína é de 2,5, normalmente ultrapassando esse valor para caseína de boa qualidade. A explicação para os baixos valores de PER_{op} pode estar em dois fatores, a saber: a elevada concentração (17%) de proteína nas dietas, uma vez que a técnica para a determinação de $PER_{padrão}$ recomenda usar 10%, no máximo 12% de proteína na dieta²⁵; outros fatores poderiam ter sido a diminuição da ingestão de dieta e o reduzido crescimento dos animais na última semana (T_{21} - T_{28}) do experimento.

Quanto ao quociente de eficiência alimentar (CEA), observou-se que, ao longo dos 28 dias, a dieta G+M foi a que apresentou os menores índices. A dieta M, apesar de apresentar o menor índice no período 0-7 dias, ao longo dos 28 dias apresentou um dos melhores índices. Observou-se uma diminuição sensível do CEA no período T_{21} - T_{28} para todos os tratamentos (Tabela 4).

Da mesma forma que para o PER_{op} os valores de CEA, para o período total do experimento (T_0 - T_{28}), foram inferiores aos valores calculados para as três primeiras semanas, mas superiores aos da última semana (T_{21} - T_{28}) que foram, em geral, bastante baixos. Considerando o período total (T_0 - T_{28}), a dieta G+M foi a que apresentou os menores valores, tanto para o PER_{op}

Tabela 3. Ganho de peso em gramas de ratos Wistar para os diferentes tratamentos dietéticos, com 17% de proteína em vários estádios de desenvolvimento.

Tratamentos (fonte de fibras)	Ganho médio de peso (g)/grupos									
	T0-T7		T7-T14		T14-T21		T21-T28		T0-T28	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
AIN-P	44,6	12,1 ^{aA}	49,6	10,6 ^{aA}	44,1	19,7 ^{aA}	15,2	17,6 ^{bA}	153,5	10,8 ^B
AIN-M	44,0	12,9 ^{aA}	48,2	15,6 ^{aA}	46,1	16,9 ^{aA}	22,8	11,6 ^{bB}	161,1	13,2 ^A
G+M	37,3	8,0 ^{aA}	39,1	8,2 ^{aA}	31,6	10,2 ^{aB}	4,4	12,2 ^{bB}	112,4	10,1 ^D
GI	43,2	8,3 ^{aA}	46,6	9,2 ^{aA}	41,7	12,0 ^{aAB}	7,6	16,3 ^{aA}	139,1	6,8 ^C
M	44,1	6,5 ^{aA}	47,7	8,8 ^{aA}	49,3	15,8 ^{aA}	16,2	13,4 ^{aA}	157,3	11,5 ^B

Dieta padrão AIN-93G (AIN-P); dietas modificadas: padrão modificada (AIN-M) → 10% celulose comercial; G+M → 10% glicana + manana; GI → 10% glicana insolúvel; M → 10% manana. Resultados são médias e DP: desvios-padrão de oito ratos por tratamento; letra maiúscula (colunas) representa as comparações estatísticas entre tratamentos; letra minúscula (linhas), comparações entre períodos. Tempo inicial (T_0), 7 d (T_7), 14 d (T_{14}), 21 d (T_{21}), 28 d (T_{28}).

(1,6), como para o CEA (0,28) e a dieta M os maiores valores PER_{op} (1,9) e CEA 0,34.

A quantidade de nitrogênio ingerido (NI) e de nitrogênio excretado nas fezes (NF) permitiram o cálculo da digestibilidade aparente (Da) para os vários tratamentos: $Da = NI - NF / NI \times 100$.

A digestibilidade aparente da proteína foi elevada para todos os tratamentos, nos vários períodos avaliados, apresentando pequenas variações na faixa de 97,5% a 99,9%, média geral de 98,6%. Esses valores sugerem que os diferentes tipos de fibra (frações), extraídas da parede celular (PC) de *Saccharomyces cerevisiae*, exerceram pequena influência na digestibilidade da proteína (caseína) das várias dietas experimentais.

As quantidades totais de fezes produzidas em todo o ensaio, bem como as quantidades

totais de lipídeos e colesterol excretados nas fezes, são apresentadas na Tabela 5.

Pode-se observar que a dieta que promoveu maior excreção de fezes, em todo o ensaio, foi a dieta padrão modificada (AIN-M), com 10% de celulose, seguida pelas dietas contendo 10% da fração glicana mais manana (G+M) e pela dieta padrão (AIN-P). As dietas com 10% glicana insolúvel (GI) ou 10% manana (M) foram as que produziram quantidades menores de fezes.

Ao final de 28 dias, os animais que receberam a dieta GI excretaram menos fezes em relação às outras dietas. Notou-se uma variação significativa em relação à quantidade de fezes excretadas nas dietas analisadas, com diferenças estatísticas entre todas elas.

Tabela 4. Quociente de eficiência alimentar (CEA) de ratos Wistar para os diferentes tratamentos dietéticos, com 17% de proteína, nos tempos 0-7, 7-14, 14-21 e 21-28 dias.

Tratamentos (fonte de fibras)	Quociente de eficiência alimentar (CEA)									
	T0-T7		T7-T14		T14-T21		T21-T28		T0-T28	
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
AIN-P	0,40	0,05 ^{aA}	0,32	0,03 ^{bB}	0,32	0,03 ^{bB}	0,15	0,03 ^{cA}	0,30	0,07 ^{BB}
AIN-M	0,41	0,03 ^{aA}	0,33	0,04 ^{bB}	0,37	0,04 ^{bAB}	0,17	0,02 ^{cA}	0,32	0,04 ^{AB}
G+M	0,41	0,04 ^{aA}	0,31	0,03 ^{bB}	0,34	0,03 ^{bB}	0,07	0,03 ^{cB}	0,28	0,06 ^C
GI	0,44	0,04 ^{aA}	0,34	0,04 ^{bB}	0,41	0,04 ^{aA}	0,06	0,02 ^{bB}	0,31	0,04 ^{AB}
M	0,34	0,08 ^{aA}	0,50	0,07 ^{aA}	0,39	0,07 ^{bAB}	0,15	0,03 ^{cA}	0,34	0,03 ^A

Dieta padrão AIN-93G (AIN-P); dietas modificadas: padrão modificada (AIN-M) → 10% celulose comercial; G+M → 10% glicana + manana; GI → 10% glicana insolúvel; M → 10% manana. Resultados são médias (M) e DP: desvio-padrão (DP): desvios-padrão de oito ratos por tratamento; letra maiúscula (colunas) representa as comparações estatísticas entre tratamentos; letra minúscula (linhas), comparações entre períodos. Tempo inicial (T₀), 7 d (T₇), 14 d (T₁₄), 21 d (T₂₁), 28 d (T₂₈).

Tabela 5. Quantidade total de fezes produzidas, lipídeos totais e colesterol excretados nas fezes no decorrer do ensaio (28 dias). Local, ano.

Dietas	Total de fezes (g)		Lipídeos totais (g)		Colesterol (g)		Col/Lipx100* (%)
	M	DP	M	DP	M	DP	
AIN-P	42,1	0,2 ^C	0,91	0,1 ^D	0,04	1,3 ^D	4,39
AIN-M	63,4	0,3 ^A	5,06	0,1 ^A	2,96	1,0 ^A	58,50
G+M	43,8	0,3 ^B	3,93	0,1 ^B	1,83	1,2 ^C	46,56
GI	37,2	0,3 ^E	4,23	0,1 ^B	2,45	0,9 ^B	57,92
M	38,7	0,4 ^D	3,20	0,1 ^C	2,38	1,3 ^B	74,37

Dieta padrão AIN-93G (AIN-P); dietas modificadas: padrão modificada (AIN-M) → 10% celulose comercial; G+M → 10% glicana + manana; GI → 10% glicana insolúvel; M → 10% manana. Os resultados (M: médias, DP: desvio-padrão de 8 ratos por dieta) seguidos de mesma letra maiúscula (colunas) não diferem ao nível de 5% (p>0,05). *Col/Lipx100: relação percentual entre colesterol e lipídeos totais excretados nas fezes.

Alguns autores relataram que, em ratos, quanto maior a fermentação da fibra no cólon, menor será o volume fecal²⁶. As fibras solúveis retardam o esvaziamento gástrico e a velocidade do trânsito intestinal, enquanto as fibras insolúveis aceleraram a velocidade de trânsito intestinal. As fibras solúveis sofrem fermentação quase total no cólon²⁶ e as fibras insolúveis praticamente não sofrem ação das bactérias no intestino grosso, pois não sendo digeridas completamente, sofrem reduzida fermentação das bactérias colônicas.²⁷

Em todos os grupos foi observado que as quantidades de fezes excretadas não mantiveram relação com as quantidades de lipídeos e de colesterol excretados. A dieta padrão AIN-P resultou na eliminação de fezes com reduzidos teores de colesterol. A dieta que mais promoveu a excreção de lipídeos e colesterol foi a dieta padrão modificada (AIN-M), seguida da dieta contendo a fração glicana insolúvel (GI) e da dieta contendo a fração manana (M).

A relação colesterol/lipídeos totais variou na faixa de 4,4% para a dieta AIN-P até 74,4% para a dieta contendo 10% da fração manana (M). Isto sugere uma maior capacidade dos componentes da fração manana para a ligação e excreção do colesterol.

A inclusão de 5% de fibra (farelo de trigo, soja e milho) em dietas hipercolesterolêmicas contendo 1% de colesterol, reduziu os níveis de lipídeos totais no plasma e nos tecidos hepáticos e cardíacos de ratos Wistar durante um período de 4 semanas de alimentação. Além disso, o colesterol total também diminuiu²⁸.

CONCLUSÃO

As frações de parede celular de levedura de *Saccharomyces cerevisiae* apresentaram elevados teores de fibra, predominando a fibra insolúvel na fração glicana insolúvel e fibras solúveis nas frações manana e glicana + manana. As dietas contendo glicana insolúvel e glicana + manana promoveram uma menor ingestão de dieta pelos ratos, que resultou no menor cres-

cimento no grupo glicana + manana. O quociente de eficiência alimentar diminuiu significativamente na última semana ($T_{21}-T_{28}$) para todas as dietas e especialmente para as dietas contendo glicana insolúvel ou glicana + manana. A digestibilidade aparente da proteína, embora com oscilações semanais estatisticamente significantes, manteve-se alta (média 98,6%) em todos os tratamentos, sem influência marcante do tipo de fibra. A maior quantidade de fezes, de lipídeos e de colesterol excretados foi determinada no grupo em dieta padrão modificada (AIN-M). A fração manana, embora produzindo uma das menores quantidades de fezes, promoveu, proporcionalmente, a maior excreção de colesterol, sugerindo uma maior capacidade desta fração para ligação e excreção do colesterol. Os resultados apontam para possíveis aplicações dos materiais estudados no desenvolvimento de produtos alimentícios, sugerindo a realização de estudos com este objetivo.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo suporte financeiro para esta pesquisa e pela bolsa de estudos concedida à Saula Goulart Chaud.

COLABORADORES

S.G. CHAUD participou da execução da pesquisa e dos resultados apresentados. V.C. SGARBIERI foi o idealizador e co-responsável pela análise da qualidade dos dados da pesquisa. E. VICENTE participou da obtenção e interpretação dos dados da análise do colesterol, por cromatografia gasosa.

REFERÊNCIAS

1. São Paulo. Instituto de Eletrotécnica e Energia da Universidade de São Paulo. Cana de açúcar no Brasil. São Paulo. [acesso 2007 maio 5]. Disponível em: <http://infoener.iee.usp.br/scripts/biomassa/br_cana.asp>.
2. Salgado JM, Sarruge JR. Efeito da lavagem sobre a qualidade do concentrado protéico obtido em

- destilaria de álcool. Rev Bras Tecnol. 1976; 7:339-44.
3. Benassi VT, Camargo CRO, Ciacco CF. Caracterização química e redução do conteúdo de ácidos nucléicos das células de levedura (*Saccharomyces sp.*) provenientes da produção de álcool de cana. Ciênc e Tecnol Aliment. 1990; 10(2):249-60.
 4. Halász A, Lásztity R. Use of yeast biomass in food production. Boca Raton: CRC Press; 1991.
 5. Yamada EA, Sgarbieri VC. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) protein concentrate: preparation, chemical composition and nutritional functional properties. J Agric Food Chem. 2005; 53(10):3931-6.
 6. Otero MA, Vasallo MC, Verdieira O, Fernandez V, Betancourt D. A process for the complete fractionation of baker's yeast. J Chem Technol Biotechnol. 1996; 67(1):67-71.
 7. Abreu J, Millán N. Effect of addition of brewer's yeast to soy protein and casein on plasma cholesterol levels of rabbits. Arch Latinoam Nutr. 1994; 44(1):18-22.
 8. Sgarbieri VC, Pacheco MTB. Physiological functional foods. Braz J Food Tech. 1999; 2(1/2):7-19.
 9. Bell PL, Hectorne K, Reynolds H, Balm LT, Hunninghake BD. Cholesterol-lowering effects of psyllium hydrophilic mucilloid. Adjunct therapy to a prudent diet for patients with mild to moderate hypercholesterolemia. J Am Med Assoc. 1989; 261(23):3419-23.
 10. Robbins EA, Seeley RD. Cholesterol lowering effect of dietary yeast and yeast fractions. J Food Sci. 1977; 42(3):694-8.
 11. Williams DL, McNamee RB, Jones EL, Pretus HA, Ensley HE, Browder WI, et al. A method for the solubilization of $\alpha(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-glucan}$ isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. Carbohydr Res. 1991; 219:203-13.
 12. Sgarbieri VC, Alvim ID, Vilela ESD, Baldini VLS, Bragagnolo N. Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) para uso como ingredientes na formulação de alimentos. Braz J Food Technol. 1999; 2(1/2):119-25.
 13. Kollar R, Sturdik E, Sajbidor J. Complete fractionation of *Saccharomyces cerevisiae* biomass. Food Biotechnol. 1992; 6(3):225-37.
 14. Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis. 17th ed. Gaithersburg, Maryland; 2000.
 15. Prosky L, Asp N, Schweizer TF, Devries JW, Furda I. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. J Assoc Of Analyt Chem. 1988; 71(5):1017-23.
 16. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol. 1959; 37(8):911-7.
 17. São Paulo. Instituto Adolpho Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Vol. 1. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo; 1985. p.38-39.
 18. Jiang Z, Fenton M, Sim, JS. Comparison of four different methods for egg cholesterol determination. Poultry Sci. 1991; 70(4):1015-9.
 19. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey JGC. AIN-93G purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition *ad hoc* writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr. 1993; 123(11):1939-51.
 20. Vukovic R, Hundina-Dom Lado Vec M, Mrsa V. Structure of the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. Croat Chem Acta. 1995; 68(3):597-605.
 21. Dziezak JD, Editor. Yeasts and yeast derivatives: definitions, characteristics, and processing. Food Technol. 1987; 41(2):103-21, 122-5.
 22. Macwilliam IC. The structure, synthesis and functions of the yeast cell wall: A review. J Inst Brewing. 1970; 76(6):524-35.
 23. Pacheco MTB, Caballero-Córdoba GM, Sgarbieri VC. Composition and nutritive value of yeast biomass and yeast protein concentrates. J Nutr Sci Vitaminol. 1997; 43(6):601-12.
 24. Scholz-Ahrens K, Schaafsma G, Van Der Heuvel E, Schrezenmeir J. Effects of prebiotics on mineral metabolism. Am J Clin Nutr. 2001; 73:4595-645.
 25. Sgarbieri VC. Proteínas em alimentos protéicos. São Paulo: Varela; 1996. p.366-82.
 26. Mongeau R, Siddiqui IR, Emery J, Brassard R. Effect of dietary fiber concentrated from celery, parsnip, and rutabaga on intestinal function, serum cholesterol, and blood glucose response in rats. J Agric Food Chem. 1990; 38(1):195-200.
 27. Eastwood AM, Morris RE. Physical properties of dietary fiber that influence physiological function: a model for polymers along the gastrointestinal tract. Am Soc Clin Nutr. 1992; 55(7):436-42.
 28. Uberoi SK, Vadhera S, Soni GL. Role of dietary fibre from pulses and cereals as hypocholesterolemic and hypolipidic agent. J Food Sci Technol. 1992; 29(5):281-3.

Recebido em: 21/3/2006
 Versão final reapresentada em: 26/2/2008
 Aprovado em: 26/2/2008