

Universidade Federal de Pelotas

Faculdade de Nutrição

Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

**Avaliação do crescimento e desenvolvimento de ratos
tratados com *Pereskia aculeata*, Miller**

Débora Oliveira da Silva

PELOTAS, 2012

DÉBORA OLIVEIRA DA SILVA

**Avaliação do crescimento e desenvolvimento de ratos
tratados com *Pereskia aculeata*, Miller**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Dr. Álvaro Guerra Dias

Co-orientadora: Dra. Adriana Lourenço da Silva

Pelotas, 2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S586a Silva, Débora Oliveira da

Avaliação do crescimento e desenvolvimento de ratos tratados com
Pereskia aculeata, Miller / Débora Oliveira da Silva. Pelotas, 2012.
64 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Faculdade de
Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2012. Orientação: Álvaro
Renato Guerra Dias; co-orientação: Adriana Lourenço da Silva.

1. Nutrição. 2. Qualidade protéica. 3. Ora-pro-nobis. 4. Ratos. 5.
Desenvolvimento. I. Título.

CDD: 641.1

Catalogação na Fonte: Aline Herbstrith Batista CRB 10/ 1737
Biblioteca Campus Porto

Banca Examinadora

Professora Dra. Elizabete Helbig

Professora Dra. Elizandra Braganhol

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	04
Resumo.....	05
Projeto de Pesquisa.....	08
Artigo 1.....	25
Artigo 2.....	40

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à minha família por ser a minha base, meu porto seguro nessa caminhada terrena.

Minha sincera gratidão a Deus, que me permitiu viver mais essa conquista.

Sou também grata aos meus amigos e amigas, principalmente as minhas manas, Márcia e Carolina, que em todos os momentos do mestrado estiveram comigo, me dando motivação e alegria.

Agradecer à Professora Adriana que com sua determinação não deixou que eu largasse tudo e trocasse de projeto e também por ser essa pessoa tão acessível e competente.

À Professora Elizabete, que mesmo sem ser minha orientadora esteve me auxiliando em muitos momentos difíceis.

Ao Professor Álvaro, por ser meu orientador.

E a todos que de certa forma estiveram comigo me apoiando e incentivando em todos os momentos.

RESUMO

A planta *Perskia aculeata*, Miller, conhecida no Brasil como ora-pro-nobis, possui elevados teores de proteína, fibras dietéticas totais, minerais e vitaminas. O presente estudo buscou avaliar o crescimento e o desenvolvimento de ratos tratados com dietas contendo a planta *Pereskia aculeata*, Miller e restrição de proteína. Foram utilizados 24 ratos machos, recém desmamados da linhagem *Wistar*. Os animais foram divididos em 4 grupos de dieta: padrão de caseína; restrição total de proteína; substituição de caseína por 40% de *Pereskia aculeata* e restrição de 40% de proteína. Avaliou-se o crescimento por meio da qualidade protéica com os testes de Coeficiente de Eficiência Protéica (PER), Razão Protéica Líquida (NPR) e Digestibilidade Verdadeira. Já para a análise do desenvolvimento foram realizados os testes de esquiva inibitória, reconhecimento de objetos, testes de reflexo e locomoção. Os resultados demonstram que o grupo que teve restrição de 40% de proteína apresentou valores maiores de Coeficiente de Eficiência Protéica e Razão Protéica Líquida quando comparados ao grupo padrão ($p < 0,01$). Porém, quando analisado o ganho de peso, os animais com restrição protéica tiveram menor ganho ponderal que os do grupo padrão ($p < 0,01$). Já o grupo que recebeu a *Pereskia aculeata*, Miller apresentou menor ingestão alimentar e maior excreção fecal quando comparado com o grupo padrão ($p < 0,05$). Por isso, também revelou menores valores de Coeficiente de Eficiência Protéica e Razão Protéica Líquida ($p < 0,01$). Além disso, a Digestibilidade Verdadeira também foi significativamente menor que o grupo padrão ($p < 0,01$), fato provavelmente explicado devido ao alto teor de fibras da planta. Enquanto que os testes de desenvolvimento evidenciaram que as dietas com restrição de 40% de proteína e contendo a planta *Pereskia aculeata* não interferiram na memória dos animais ($p > 0,05$). Entretanto o grupo que recebeu a planta apresentou prejuízo em alguns testes de reflexo ($p < 0,05$). Conclui-se que a restrição de 40% de proteína promoveu menor ganho ponderal quando comparado ao grupo padrão, porém sem alterações nos testes de desenvolvimento. E ainda, que a planta *Pereskia aculeata*, Miller é efetiva no desenvolvimento cognitivo e exploratório, mas apresenta déficits em alguns

testes de reflexos. Por outro lado, não possui boa digestibilidade e não promove o crescimento adequado de ratos recém desmamados.

Palavras-chave: Ora-pro-nobis, ratos, qualidade protéica, desenvolvimento.

Projeto de Pesquisa

Universidade Federal de Pelotas

Faculdade de Nutrição

Programa de Pós Graduação em Nutrição e Alimentos



Projeto de Pesquisa

**Avaliação do crescimento e desenvolvimento de ratos
tratados com *Pereskia aculeata*, Miller**

Débora Oliveira da Silva

PELOTAS, 2011

1. TÍTULO

Avaliação do crescimento e desenvolvimento de ratos tratados com *Pereskia aculeata*, Miller.

2. INTRODUÇÃO

Pereskia aculeata, Miller é uma planta que pertence à família das Cactaceae e se distribuem em diversas partes do mundo. No Brasil ela é conhecida como ora-pro-nobis e é distribuída desde o estado do Rio Grande do Sul até o estado da Bahia (TAKEITI et al., 2009). É uma planta perene, com características de trepadeira, mas pode crescer sem a presença de anteparo, com folhas suculentas e lanceoladas. As flores são pequenas e brancas. Os frutos são pequenas bagas amarelas. No caule há a presença de acúleos (falsos espinhos), que nos ramos mais velhos crescem aglomerados (BRASIL, 2010).

Nos últimos anos tem-se realizado alguns estudos com diferentes espécies de *Pereskia*, como avaliação da atividade citotóxica da *Pereskia bleo* (MALEK et al., 2009); análise do conteúdo fenólico e da atividade antioxidante de *Pereskia grandifolia* (SHIN; MALEK; WAHAB, 2010); e especificamente sobre *Pereskia aculeata* se tem estudos referentes ao seu teor de carotenóides – luteína – (NACHTIGALL et al., 2007), estudos anatômicos sobre folha e caule (DUARTE; HAYASHI, 2005), seu potencial na agricultura familiar (SOUZA et al., 2009), avaliação do seu teor nutritivo (TAKEITI et al., 2009), dentre outros (MERCÊ et al., 2001; PATERSON; VALENTE et al. 2007; DOWNIE; HILL, 2009).

A *Pereskia aculeata* possui folhas suculentas e comestíveis, podendo ser usada em várias preparações, como farinhas, saladas, refogados, pães, tortas e massas alimentícias (ROCHA et al., 2008). Além da alimentação, a planta pode ser utilizada como planta ornamental e cultivada para fins de produção de mel pelos apicultores, pois apresenta floração rica em pólen e néctar (BRASIL, 2010).

Estudos revelam que a ora-pro-nobis possui elevados teores de proteína (28,4g/100g), fibras dietéticas totais (39,1g/100g), minerais, principalmente ferro, cálcio, magnésio, manganês e zinco, e vitaminas, A, C e Ácido fólico. A

avaliação do teor de Aminoácidos evidenciou que essa planta possui o triptofano como o aminoácido mais abundante e lisina e metionina como os aminoácidos limitantes (TAKEITI et al., 2009).

A ora-pro-nobis é considerada uma hortaliça não-convencional e, como a maioria delas, ainda apresenta um número limitado de estudos que comprovem cientificamente suas propriedades. Por isso, faz-se necessário o conhecimento técnico sobre cultivo, componentes químicos, atuação *in vivo*, etc. de plantas tradicionais de uso popular (SOUZA et al., 2009).

3. JUSTIFICATIVA

A *Pereskia aculeata*, Miller é uma planta com elevado teor de proteína, fibras e micronutrientes, que já é utilizada na culinária em diversas regiões do país e que possui um fácil cultivo. Porém, não se tem dados da eficácia da sua proteína no crescimento e desenvolvimento de ratos.

4. HIPÓTESE

A dieta contendo 40% de *Pereskia aculeata*, Miller e 60% de caseína promoverá o crescimento e desenvolvimento de ratos semelhante ao dos ratos que receberão a dieta contendo somente caseína como fonte protéica.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo Geral

Avaliar a dieta contendo a planta *Pereskia aculeata*, Miller como complemento alimentar na promoção do crescimento e desenvolvimento cognitivo de ratos.

5.2. Objetivos específicos

Analisar a composição centesimal da planta e das dietas;

Avaliar o crescimento dos ratos por meio de:

- Ganho de peso;
- Consumo alimentar;

- Cálculo de Coeficiente de Eficiência Protéica e Razão Protéica Líquida;
Avaliar a digestibilidade;

Avaliar o desenvolvimento cognitivo por meio de:

- Testes de memória;
- Testes de locomoção;
- Testes de reflexo.

Determinar o conteúdo de minerais;

Determinar a absorção aparente relativa de ferro e zinco;

Avaliar a biodisponibilidade relativa de ferro e zinco;

Analisar a disponibilidade de Ferro *in vitro*;

Determinar o conteúdo de fenóis totais da planta.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1. Materiais

Dieta AIN padrão para ratos em crescimento AIN-93G

Folhas de *Pereskia aculeata* secas e trituradas

Gaiolas metabólicas

Balança

Caixa de condicionamento automatizada

Caixa de madeira

Peças de Lego

Animais para experimentação: 24 ratos machos *Wistar*, recém desmamados, da cepa do Biotério da Universidade Federal de Pelotas, RS.

6.2. Métodos

6.2.1. Delineamento Experimental

O experimento conta com 4 tratamentos, 6 repetições e 11 avaliações, ou seja, 264 determinações (tabela 1).

Tabela 1. Delineamento experimental para avaliação biológica de *Pereskia aculeata*, Miller

Tratamentos	Variáveis independentes	Nº de animais	Variáveis dependentes
1	Controle (AIN-93G)	6	PER, NPR
2	Aproteico	6	Digestibilidade
3	60% caseína e 40% <i>Pereskia aculeata</i>	6	Memória, Locomoção e Reflexo
4	60% Caseína	6	Absorção aparente e biodisponibilidade de ferro e zinco

6.2.2. Processamento da amostragem

6.2.2.1. Obtenção e Processamento da *Pereskia aculeata* Miller

A planta *Pereskia aculeata* Miller será obtida do município de Canelinha-SC, por meio de uma parceria firmada com a Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (Embrapa Clima Temperado). As plantas serão lavadas em água corrente e secas em estufa com circulação de ar forçada a 30°C por 72 horas. Será realizada análise química de teor de umidade, proteína bruta, extrato etéreo e de cinzas de acordo com a metodologia indicada pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995).

6.2.2.2. Dietas Experimentais

As dietas administradas aos animais serão formuladas conforme o padrão recomendado pelo American Institute of Nutrition AIN-93G (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) para ratos em crescimento, com modificação na fonte de proteína, sendo todas isocalóricas. O grupo controle (GC) receberá a dieta AIN-93G sem nenhuma modificação; o grupo aprotéico (GA) receberá uma dieta sem proteína; o grupo tratamento 1 (GT1) receberá 60% da fonte protéica de caseína e o restante da planta *Pereskia aculeata*, Miller e o grupo tratamento 2 (GT2) receberá somente os 60% de caseína, com isso, busca-se

analisar a eficácia da planta sendo utilizada como um complemento alimentar pelos ratos.

Serão realizadas análises químicas de teor de umidade, proteína bruta, extrato etéreo e de cinzas de acordo com AOAC (1995).

6.2.2.3. Protocolo para Ensaio Biológico

Serão utilizados 6 ratos por dieta que receberão água e ração *ad libitum*. Os animais serão mantidos em gaiolas metabólicas individuais no Laboratório de Ensaio Biológicos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas. Será controlada a temperatura e umidade relativa, $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e 50 – 60%, respectivamente, com ciclo de claro/escuro de 12 horas.

O experimento será realizado em 33 dias, no qual os 4 primeiros serão o período de adaptação. Os animais serão pesados no 1º, 4º, 14º e no 28º dia do experimento. O consumo da dieta será monitorado diariamente e serão coletadas as fezes dos animais em duas etapas, primeiro do 11º ao 13º dias e depois do 25º ao 27º dia de tratamento.

A eutanásia ocorrerá em dois períodos, no grupo aprotéico será realizada no 14º dia de tratamento e nos outros animais ao fim do experimento. Para tanto, os ratos serão anestesiados com éter etílico e então decapitados. Será coletado sangue para posterior análise e a laparotomia para a retirada de órgãos, dentre eles, coração, fígado e cérebro. Após a eutanásia os animais serão encaminhados ao Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, em sacos apropriados, onde então os mesmos serão dirigidos a incineração.

6.2.3. Avaliações

6.2.3.1 Avaliações do crescimento dos ratos

6.2.3.1.1. Coeficiente de Eficiência Protéica (PER)

O Coeficiente de Eficiência Protéica (PER) será determinado por meio do método de Osborne, Mendel e Ferry, de acordo com a AOAC (1995). Este método relaciona o ganho de peso dos animais com o consumo de proteína. O PER será calculado pela seguinte equação:

$$\text{PER} = \frac{\text{Ganho de peso}_{(g)}}{\text{Proteína consumida}_{(g)}}$$

6.2.3.1.2. Razão Protéica Líquida (NPR)

A Razão Protéica Líquida (NPR), que é uma modificação do PER, será determinada de acordo com Bender e Doell (1957), no 14º dia de tratamento, levando-se em consideração o ganho de peso dos grupos tratamento, mais a perda de peso do grupo com dieta aprotéica em relação ao consumo de proteína dos grupos tratamento. O NPR será calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\text{NPR} = \frac{\text{Ganho de peso GT1 OU GT2}_{(g)} + \text{Perda de peso GA}_{(g)}}{\text{Proteína consumida}_{(g)}}$$

6.2.3.2. Avaliação da digestibilidade in vivo

Para determinar a digestibilidade as fezes serão coletadas do 11º ao 13º e do 25º ao 27º dias de tratamento, em recipientes individuais para cada animal e mantidas sob refrigeração. Ao término do experimento, as fezes serão secas em estufa com circulação de ar, a 105 °C, por 24 h. Após resfriamento, as fezes serão pesadas e trituradas e será determinada a concentração de nitrogênio pelo método semimicro Kjeldahl (AOAC, 1995). A partir desse resultado, se calculará o percentual de digestibilidade, determinando as quantidades de nitrogênio ingeridas por meio da dieta (NI), excretada nas fezes (NF) e a perda metabólica fecal, estimada pela quantidade de nitrogênio excretado pelos animais do grupo alimentado com dieta aprotéica (NFa) nos primeiros dias de coleta das fezes.

$$\% \text{ de Digestibilidade} = \frac{\text{NI} - (\text{NF} - \text{NFa})}{\text{NI}} \times 100$$

6.2.3.3. Avaliação do desenvolvimento dos ratos

6.2.3.3.1. Testes de Memória

6.2.3.3.1.1. Esquiva inibitória

O método utilizado é adaptado de Netto e Izquierdo (1985) e será realizado no 18º dia de tratamento. O equipamento da esquiva inibitória consiste em uma caixa de condicionamento automatizada, medindo 40 x 25 x 25 cm, o assoalho

é constituído de uma grade de barras de bronze paralelas com 1mm de diâmetro com um espaço de 1cm entre as barras, onde é possível aplicar uma diferença de potencial elétrico variável. A caixa contém uma plataforma de madeira compensada revestida por fórmica.

O método consiste em duas etapas, uma etapa de treino e uma etapa de teste que será realizada 24h depois do treinamento. Na etapa de treino o animal é colocado gentilmente sob a plataforma do equipamento, e é medido o tempo que o animal leva para descer da plataforma e colocar as quatro patas sobre a grade abaixo da plataforma. A seguir o animal recebe descargas elétrica intermitentes de 0,7 mA por 5 segundos. Na etapa de teste o animal é colocado sobre a plataforma e é medido o tempo que o animal permanece sobre a plataforma, com um limite máximo de 180 segundos. Nessa etapa os animais não recebem descargas elétricas se descenderem da plataforma. A diferença entre os tempos de permanência sobre a plataforma nas duas etapas é tomada como uma medida de memória.

O teste da esQUIVA inibitória reflete o tipo de memória emocional, que é formada no dia-a-dia, e que nenhum outro teste é capaz de reproduzir. O choque, não causa dano físico aos animais, pois é, somente, um sinal de advertência. Com o choque o animal entende que determinado local é de acesso proibido e evita retornar ao mesmo. Este tipo de memória é de fixação rápida, fielmente reproduzível e aceita no meio científico. Além disso, esse tipo de experimento tem base etológica sendo vivenciada por qualquer animal (experimental ou selvagem) quando enfrenta outra espécie (predadora ou não).

6.2.3.3.1.2. Reconhecimento de objetos

O método utilizado seguirá a proposta de Deschaux, Bizot e Goyffon (1997). No 26º dia do tratamento os animais serão colocados em uma caixa de madeira de tamanho 40 x 50 cm e com altura de 50 cm, com uma parede de vidro frontal, que estará localizada em uma sala com baixa iluminação. Os animais terão 2 minutos para habituação ao ambiente o qual estará sem objetos. 24 horas após o período de exploração ocorrerá o treinamento, durante 5 minutos, no qual os animais serão colocados individualmente na caixa contendo 2 objetos idênticos (A1 e A2 brinquedos Lego) posicionados em

cantos opostos a 10 cm das paredes. A exploração será definida como cheirar ou tocar o objeto com o nariz ou patas dianteiras. A sessão de teste ocorrerá 24h após o treinamento, em que os ratos poderão explorar a caixa por 5 minutos na presença de um objeto já conhecido (A) e um objeto novo (B). Todos os objetos utilizados possuirão tamanho, cor e textura semelhantes, porém formas distintas. Após o treinamento e teste os objetos serão limpos com etanol 10% para descartar cheiros ou resíduos. O índice de reconhecimento será calculado para cada animal segundo Lima et al. (2005) que é expresso pela taxa de $TB / (TA + TB)$ [TA = Tempo em explorar o objeto familiar A; TB = tempo gasto na exploração do objeto novo B].

6.2.3.3.2. Testes de Reflexo

Todos os testes de reflexo serão adaptados de Rhodem, E. e Rhodem, C. (2006) e realizados no 13º e no 23º dias de tratamento.

6.2.3.3.2.1. Reflexo de flexão

O animal será erguido gentilmente pela pele da região dorsal e uma agulha hipodérmica será colocada em contato com uma das patas. A resposta imediata é a retirada do membro e a flexão é momentaneamente mantida. O teste será repetido nos outros membros e se observará alguma assimetria.

6.2.3.3.2.2. Reflexo de preensão palmar

O animal será colocado em posição suspensa e será encostado levemente a palma com um fio rígido. A tendência é que o animal flexione os dedos ao redor do fio.

6.2.3.3.2.3. Reflexo postural

O animal será posicionado em decúbito dorsal em uma superfície plana. A tendência imediata é de assumir a posição habitual ereta.

6.2.3.3.3. Teste de locomoção

O método será adaptado de Creese; Burt e Snyder (1976) e Linck et al (2009) no qual os animais no 11º dia de tratamento serão colocados em uma caixa de madeira de tamanho 40 x 50 cm e com altura de 50 cm. A caixa terá

uma parede de vidro frontal e o chão será previamente marcado por 20 divisões de tamanho 10 x 10 cm. A caixa estará localizada em uma sala com baixa iluminação. Os ratos serão colocados individualmente no centro da caixa e durante 5 minutos se contará quantos quadrantes cada rato irá cruzar e se ele se deslocará pelo centro ou pelas extremidades da caixa.

6.2.3.4. Determinação do conteúdo de minerais

Será determinado o conteúdo de Ferro e Zinco da planta, dieta, fígado e fezes, no qual serão calcinados até o término do desprendimento de fumaça. Posteriormente transferidas para o equipamento mufla a 500°C por 48 horas. Ao conteúdo de cinzas resultantes será adicionado 0,5 mL de ácido nítrico, com aquecimento até secagem. A solubilização da amostra adição de 2,5 mL de ácido nítrico diluído em água destilada (25%), em aquecimento. As amostras serão filtradas em papel livre de cinzas e diluídas a 100 mL com água destilada.

Os minerais ferro e zinco serão determinados por meio de leitura em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme descrito por Domene (1996) e AOAC (1995).

6.2.3.5. Determinação da absorção aparente relativa de ferro e zinco

A absorção aparente relativa dos minerais será determinada pelo cálculo da quantidade ingerida destes minerais e a excreção fecal em relação à ingestão $[(\text{Ingestão} - \text{Excreção Fecal}) \div \text{Ingestão}] \times 100$ (SOUZA, 2002)

6.2.3.6. Avaliação da biodisponibilidade relativa de ferro e zinco

A biodisponibilidade relativa para o zinco será estimada a partir da razão entre o ganho de peso e o consumo de zinco; considerando como tendo 100% de biodisponibilidade a razão obtida para o grupo controle (SOUZA, 2002).

Para avaliar a biodisponibilidade de Ferro será coletado o fígado e determinado a dosagem desse mineral no órgão.

6.2.3.7. Análise da disponibilidade de Ferro *in vitro*

Para verificar a disponibilidade de Ferro da planta se realizará uma análise *in vitro* seguindo o método proposto por Miller et al. (1981), que se fundamenta

na simulação das etapas de digestão humana com pepsina e pancreatina, seguida da diálise do ferro (MW *cut off* 6000 – 8000) que é liberado dessa matriz alimentar. O procedimento conta ainda com as seguintes etapas: acidificação do homogenato até pH 2, digestão com pepsina, alcalinização do digesto (pH 7), digestão com pancreatina/bile e diálise (MILLER et al., 1981). Os dados obtidos serão expressos como percentuais de ferro biodisponível.

6.2.3.8. Determinação do conteúdo de fenóis totais da planta

A determinação do teor de fenóis totais presentes nas plantas será feita por meio de espectroscopia com modificações do método proposto por Folin-Ciocalteu (BONOLI et al., 2004). Serão produzidos extratos de etanol com a planta seca que posteriormente serão dissolvidos em metanol e acrescidos do reagente de Folin-Ciocalteu. A absorbância terá como o “branco” o metanol e todos os reagentes, menos o extrato. O teor de fenóis totais será determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico.

6.2.4. Considerações éticas

O presente projeto será submetido à aprovação ética do Comitê de Ética de Pesquisas Experimentais da Universidade Federal de Pelotas.

6.2.5. Análise estatística

Os resultados serão submetidos à análise de variância ANOVA. Os testes de memória serão analisados pelo Kruskal-Wallis seguido de Mann-Whitney quando necessário. E para a análise de amostras dependentes será usado o teste de Wilcoxon. Considerar-se-á o nível de significância 5% nos testes estatístico de Tukey.

7. CRONOGRAMA

Atividade	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Revisão da Literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Qualificação	X												
Processamento da planta					X	X	X						
Experimento									X	X			
Análise de dados										X	X		
Elaboração da Dissertação											X	X	X
Defesa Dissertação													X

8. ORÇAMENTO

Item	Quantidade	Valor total
Caseína	1 kg	R\$ 153,00
Maltodextrina	2 kg	R\$ 15,80
Amido de milho	3 kg	R\$ 29,46
Arroz	1 kg	R\$ 1,98
Feijão	1 kg	R\$ 2,95
Sacarose	1 kg	R\$ 1,89
Óleo de soja	1 lt	R\$ 2,15
Folha de papel A4	3.000 fl	R\$ 77,76
Tonner	1 un	R\$ 181,15
Luva para procedimentos	600 un	R\$ 59,10
Total		R\$ 525,24

Obs.: Alguns itens não foram listados acima devido à ausência de orçamento até o presente momento.

REFERÊNCIAS

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 16 ed. Washington. 1995.

BENDER, A. E.; DOELL, B. H. Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. **British Journal of Nutrition**. V. 11, p. 138-143. 1957.

BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F. **Journal of Agriculral and Food Chemistry**. V. 52. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Hortaliças não-convencionais**. 1ed. Brasília, 2010. 92 p.

CREESE, I.; BURT, D. R.; SNYDER, S. H. DA receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. **Science**, V.192, p. 481– 483. 1976.

DESCHAUX, O.; BIZOT, J. C.; GOYFFON, M. Apamin improves learning in an object recognition task in rats. **Neuroscience Letters**. V. 222, p. 159-162. 1997.

DOMENE, S. M. A.; ASSUMPÇÃO, D. Estimativa de ferro absorvível em dietas de pré-escolares residentes em bolsões de pobreza do município de Campinas. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**. V. 33, p. 75-86. 2008.

DUARTE, M. R.; HAYASHI, S. S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, V. 15, p. 103-109. 2005.

LIMA, M. N.; LARANJA, D. C.; CALDANA, F.; BROMBERG, E.; ROESLER, R.; SCHRODER, N. Reversal of age-related deficits in object recognition memory in rats with L-deprenyl. **Experimental Gerontology**. V. 40, p. 506-511. 2005.

LINCK, V.M.; SILVA, A. L.; FIGUEIRÓ, M.; PIATO, A.L., HERRMANN, A. P.; BIRCK F. D.; CARAMÃO, E. B.; NUNES, D. S.; MORENO, P. R.; ELISABETSKY, E. Inhaled linalool-induced sedation in mice. **Phytomedicine**, V. 16, p. 303-307. 2009.

MALEK, S. N. A.; SHIN, S. K.; WAHAB, N. A.; YAACOB, H. Cytotoxic Components of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) Leaves. **Molecules**, V. 14, p. 1713-1724. 2009.

MERCÊ, A. L. R.; LANDALUZE, J. S.; MANGRICH, A. S.; SZPOGANICZ, B.; SIERAKOWSKI, M. R. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} and Ni^{2+} . **Bioresource Technology**, V. 76, p. 29-37. 2001.

MILLER, D.D.; SCHRICKER, B.R.; RASMUSSEN, R.R.; VAN CAMPEN, D. An in vitro method for estimation of iron availability from meals. **The American Journal of Clinical Nutrition**. V. 34, p. 2248-2256. 1981.

NACHTIGALL, A. M.; STRINGHETA, P. C.; FIDELIS, P. C.; NACHTIGALL, F. M. Determinação do teor de Luteína em hortaliças. **Boletim do CEPPA**, v. 25, p. 181-192. 2007.

NETTO, C. A.; IZQUIERDO, I. On how passive is inhibitory avoidance. **Behavioral and Neural Biology**. V. 43, p. 327-330. 1985.

PATERSON, I. D.; DOWNIE, D. A.; HILL, M. P. Using molecular methods to determine the origin of weed populations of *Pereskia aculeata* in South Africa and its relevance to biological control. **Biological Control**, V. 48, p. 84–91. 2009.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**. V.123, p. 1939-1951. 1993.

RHODEN, E. L.; RHODEN, C. R. **Princípios e técnicas em experimentação animal**. Editora UFRGS, 1 Ed. Porto Alegre, 2006. 568 p.

ROCHA, D. R. C.; PEREIRA JÚNIOR, G. A.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L.; SANTOS, A. S.; PINTO, N. A. V. D. Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. **Alimentos e Nutrição**, V.19, p. 459-465. 2008.

SHIN, S. K; MALEK, S. N. A.; WAHAB, N. A. Phenolic content and antioxidants activity of *Pereskia grandifolia* Haw. (cactaceae) extracts. **Pharmacognosy Magazine**, V.6. 2010.

SOUSA, L. M. **Efeito da proteína e do NaCl na biodisponibilidade de Ca, P, Fé e Zn da multimistura**. Brasília, 2002. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília.

SOUZA, M. R. M.; CORREA, E. J. A; GUIMARÃES, G.; PEREIRA, P. R. G. O Potencial do Ora-pro-nobis na diversificação da Produção Agrícola Familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**. V. 4. 2009.

TAKEITI, C. Y.; ANTONIO, G. C.; MOTTA, E. M. P.; COLLARES-QUEIROZ, F. P.; PARK, K.J. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, p. 148-160. 2009.

VALENTE, L. M. M.; SCHEINVAR, L.A.; SILVA, G. C.; ANTUNES, A.P.; SANTOS, F. A. L.; OLIVEIRA, T. F.; TAPPIN, M. R. R.; AQUINO NETO, F. R.; PEREIRA, A. S.; CARVALHAES, S. F.; SIANI, A. C.; SANTOS, R. R.;

SOARES, R. O. S.; FERREIRA, E. F.; BOZZA, M.; STUTZ, C.; GIBALDI, D.
Evaluation of the antitumor and trypanocidal activities and alkaloid profile in
species of Brazilian Cactaceae. **Pharmacognosy Magazine**, V. 3. 2007.

A determinação do conteúdo, absorção e biodisponibilidade de minerais, bem como a determinação de antioxidantes, que foi prevista no projeto, não pode ser realizada até o presente momento devido a dificuldades de recursos.

ARTIGO 1

QUALIDADE PROTÉICA DE DIETAS COM *Pereskia aculeata*, Miller E RESTRIÇÃO DE PROTEÍNA EM RATOS

Este artigo, após a defesa, será encaminhado a Revista de Nutrição.

ARTIGO 2

**COMPARAÇÃO ENTRE AS DIETAS CONTENDO *Pereskia aculeata*, Miller
E RESTRIÇÃO PROTÉICA NO DESENVOLVIMENTO DE RATOS WISTAR.**

O artigo a seguir, após a defesa será traduzido para a língua inglesa e encaminhado à revista Behavioural Pharmacology.