EFEITOS ANÁTOMO-HISTOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS DE DIETA CONTENDO *Aphanothece* sp. EM RATAS, VISANDO SUA UTILIZAÇÃO COMO COMPLEMENTO ALIMENTAR

QUEIROZ, M. I.* SOARES, L.S.** SANTOS, S. *** BARROS, F.A.**** DADALT, G.***** BENITES, C.*****

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da dieta contendo Aphanothece sp. em ratos, quanto a alterações anátomo-histológicas e fisiológicas, visando a utilização deste microorganismo como proteína unicelular. Dois grupos de oito ratas Wistar, recém-desmamadas, foram alimentados com dieta conforme indicado por AOAC (1990). Reeves, Nielsen e Fahey (1993), assim definidos: grupo I (10% em proteína como caseína) e grupo II (10% em proteína, mistura mineral e fibras expressos pela Aphanothece sp.). Durante 28 dias, registrou-se o consumo de dieta, o ganho de peso e a excreta de cada grupo. Após este período, 13 ratas foram sacrificadas, deixando-se para procriação um exemplar do grupo I e dois do grupo II, submetidos às mesmas dietas por oito meses. Ao fim de cada período experimental, foram analisados no plasma, colesterol e proteínas totais, segundo metodologia indicada pela Labtest (1990). Os rins, fígado, baço e ceco foram avaliados anátomo-histologicamente. As dosagens de colesterol e proteína no plasma das ratas alimentadas com dieta de caseína e Aphanothece não diferiram ao nível de 5% de significância pelo teste de Student. A análise anátomo-histológica não indicou alterações tanto nas ratas em crescimento quanto nas adultas ou nos tecidos embrionários em formação.

PALAVRAS-CHAVE: Aphanothece, proteína unicelular, anatomia, histologia, ratos.

ABSTRACT

This research has as aim to evaluate the effect of a diet containing *Aphanothece* sp. in mice considering anatomic-histological and physiological alterations, looking at the utilization of this unicellular protein as suplementary food. Two goups of eight female mice were fed with a diet

^{*} Professora do Departamento de Química – Laboratório de Análise Sensorial e Controle de Qualidade – FURG; Doutora em Biotecnologia.

^{**} Professora do Departamento de Química – FURG; Doutora em Ciências de Alimentos.

^{***} Professora do Departamento de Ciências Morfo-biológicas – FURG.

^{****} Bolsista de Iniciação Científica - CNPq - FURG.

^{*****} Bolsista FAPERGS - UFPEL.

according to AOAC (1990) defined as: group I (10% in protein as caseina) and group II (10% in protein, mineral blend and fibers expressed by *Aphanothece* sp.). During 28 days, the consumption of this diet, increase of weight and excretion of each group were registered. After this period, 13 female mice were sacrificed but one exemplar from group I and two from group II were kept alive to procreate, being fed with these diets for eight months. In the end of each experimental period cholesterol and total proteins in plasma were analysed Labtest's metodology (1990). Kidneys, liver, spleen and caecum were anatomically and histologically evaluated. The level of cholesterol and protein in plasma of mice fed with caseina and *Aphanothece* sp. didn't differ 5% of significance by Student test. The anatomical and histological analysis didn't show any alterations in adult female mice, neither did in embryonic tissues or mice in growth process.

KEY-WORDS: Aphanothece, unicellular protein, anatomy, histology, mice.

1 - INTRODUÇÃO

A ocorrência de cianobactérias no planeta é tal que crescem praticamente em qualquer curso de água, tornando-se assim uma importante reserva alimentícia se tecnologicamente aproveitadas. São utilizadas como fonte de proteína unicelular em vários países do mundo para o combate à fome e para aumentar o valor nutritivo dos alimentos.

A Aphanothece é uma cianobactéria da família Choroococaceae; constitui um dos maiores subgrupos de procariontes, apresentando cerca de 150 gêneros e mais de mil espécies descritas (Ripka et al., 1979).

As microalgas são utilizadas pelo homem na extração de substâncias de interesse industrial, em sistemas de produção de pescado, na agricultura, na biodepuração de efluentes, em aplicações terapêuticas e na alimentação. No Oriente são muito usadas, e hoje, quando cientistas tanto se afligem com a carência de alimentos para a humanidade, suas vistas estão voltadas para o aproveitamento mais racional da atividade que a clorofila exerce com absoluta exclusividade: a síntese de produtos básicos que servem à planta para fabricar hidratos de carbono, proteínas, gorduras e vitaminas. E é exatamente nas algas, e, entre elas, nas microscópicas, que a tecnologia vem trabalhando para conseguir produção mais econômica em cultura artificial e a curto prazo, já que, segundo Sgarbieri (1996), as grandes vantagens para produção em larga escala de microorganismos para uso na alimentação humana e animal seriam sua multiplicação muito rápida e o fato de utilizarem como substratos para sua multiplicação fontes baratas de energia e de nutrientes.

Estes microorganismos têm sido utilizados como fonte de proteína unicelular, sendo esta toda a proteína proveniente de microorganismos unicelulares como bactérias, fungos, leveduras e algas (Sgarbieri, 1996).

A Aphanothece tem ocorrência representativa nos corpos hídricos adjacentes à cidade do Rio Grande – RS, e seu aproveitamento poderá representar uma importante fonte de proteína. Pode-se dizer que a Aphanothece possui um alto potencial alimentar não só devido ao fácil acesso e composição proximal (Teixeira, 1996), mas também por sua palatabilidade (Queiroz, Treptow e Koetz, 1996), aceitação pelo consumidor e baixo custo de produção (Queiroz, 1998), por não apresentar toxicidade (Matthiensen, 1996), ter uma alta digestibilidade e um NPU (Net protein utilization) característico de vegetais.

A análise de peso dos órgãos tem sido um parâmetro anatômico de avaliação do efeito das dietas. Oliveira et al. (1994) encontraram hipertrofia em órgãos de ratos alimentados com semente de *Canavalia brasiliensis*. Estes mesmos autores reportam que Grant (1989) verificou um pequeno aumento do peso intestinal em ratos com dieta contendo lecitina de soja.

Segundo Araújo (1990), degeneração ou distrofias são lesões que se estabelecem nas células porque nelas ocorrem algumas modificações metabólicas observadas ao microscópio, tornando a célula parcial ou totalmente impotente para exercer suas funções. Robbins et al. (1996) citam que a teoria da enfermidade é definida a partir de modificações bioquímicas, morfológicas e funcionais, e afirmam que toda a base da doença é uma alteração na menor unidade viva do organismo.

Frente à problemática do crescimento da população em progressão geométrica, da tendência à escassez de terras cultiváveis, do esgotamento de recursos alimentícios, da falta de acesso de milhões de pessoas à comida, do alto custo alimentar e do baixo valor nutritivo é que se propõe a utilização da *Aphanothece* como complemento da dieta alimentar.

Face ao exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos anátomo-histológicos e fisiológicos de ratas alimentadas com dieta contendo *Aphanothece* sp., visando sua utilização como complemento alimentar.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

A matéria-prima foi coletada no meio ambiente, lavada em água corrente, desidratada por exposição ao sol e então pulverizada. As dietas padrão e teste foram preparadas conforme a composição intrínseca de seus componentes, segundo indicação da AOAC (1990) e Reeves, Nielson e Fahey (1993). A dieta padrão foi constituída de 10% de proteína como caseína, 1,8% de fibras como Albran, 8% de lipídios (óleo de soja), 1% de mistura vitamínica, 5% de mistura de sais minerais, 0,3% de L-cistina, 0,25% de cloridrato de colina (sacarose e amido), para completar 100%. A dieta teste diferiu da padrão por conter 10% de proteína, bem como minerais e fibras expressos pela *Aphanothece*.

Utilizaram-se ratos do sexo feminino, da linhagem Wistar, recémdesmamados, adaptados à dieta padrão por 24 horas logo após desmame. Seguindo-se o período de adaptação, as ratas foram divididas em blocos casualizados em função de seus pesos, em dois grupos de oito ratas. Em seguida, foram acomodadas em gaiolas coletivas para coleta diária de reieitos, excretas e sobras. Água e dieta foram ofertadas ad libitum por 28 dias. O consumo de cada grupo foi registrado e a ingesta e excreta calculadas. A proteína ingerida foi determinada a partir do conteúdo em proteína na dieta, avaliada pela determinação de nitrogênio total pelo método Kieldahl, e o valor resultante multiplicado pelo fator 6,25. Os cálculos foram feitos tendo como base a diferença entre a dieta fornecida e as sobras computadas. Após este período, uma rata do grupo padrão e duas do grupo teste foram separadas para procriação, mantendo-se por oito meses submetidas à dieta teste e padrão, sendo observadas quanto ao comportamento e aparência externa. Os ratos reprodutores também eram alimentados com as dietas em estudo. As demais (13 ratas) foram anestesiadas em câmara com éter etílico. Os resultados gerais da análise anátomo-histológica são oriundos de 40 ratas, tendo sido feitos em média 12 cortes por órgão e por rata. Os rins, fígado, baço e ceco foram coletados e fixados em formol para o processamento de cortes histológicos, os quais foram corados com hematoxilina e eosina. No final de oito meses, as ratas estavam prenhas, sendo da mesma forma anestesiadas e o sanque coletado por punção cardíaca em seringa heparinizada. O sangue foi centrifugado a 3.500rpm, para obtenção do plasma, no qual foram avaliados os níveis de colesterol e proteínas totais, segundo técnicas indicadas pela Labtest (1995). Nesta fase do experimento, foram processados ainda cortes histológicos dos embriões.

Uma relação peso do órgão por peso corpóreo foi determinada. A análise estatística para ganho de peso das ratas seguiu um delineamento experimental inteiramente ao acaso, com três grupos e seis repetições, e as diferenças analisadas segundo Duncan a nível de 5% de probabilidade. Para análise dos parâmetros proteína plasmática e colesterol total foi efetuado o teste t (p < 0,05). Os dados foram processados utilizando-se o software "Sanest", proposto por Zonta e Machado (1984).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os pesos, tamanhos e dosagens bioquímicas de ratas alimentadas com dieta teste e padrão por um período de oito meses. Avaliando estes resultados é possível constatar que as ratas alimentadas por oito meses com a dieta teste atingiram tamanhos equivalentes às que foram submetidas à dieta padrão.

É importante salientar que, independente das fontes energéticas

(gordura e amido), a dieta teste foi elaborada exclusivamente com *Aphanothece*. Isso sugere que as necessidades em sais minerais e vitaminas foram suficientemente supridas.

Os níveis de colesterol registrados tornam-se importantes no momento em que as concentrações encontradas situam-se bem abaixo dos limites de máximo para ratos, indicados por Harkness e Wagner (1993), como sendo o intervalo de 40 a 130 mg/dl.

TABELA 1 – Avaliação biométrica e dosagens bioquímicas para as ratas alimentadas por oito meses com as dietas padrão (caseína) e teste (Aphanothece).

Dieta	Peso (g)	Tamanho (cm)	Colesterol (mg/L)	Proteína plasmática (g/dl)
Caseína	268	39.00	54.32	Control Control
Aphanothece a	203	36,00	40.22	6,88
Aphanothece b	234	39,50 45,62		5,93 6,43

^{*}a e b correspondem aos exemplares de ratas alimentadas com Aphanothece por oito meses.

Cabe ressaltar que, para as ratas com oito meses de idade (tabela 1), os níveis de colesterol foram notadamente menores que o registrado para a rata padrão. Embora o número de ratos amostrados não tenha valor estatístico, esta constatação vem ao encontro dos dados bibliográficos que citam que os ratos alimentados com dietas contendo cianobactérias (Spirulina) apresentam baixo índice de colesterol; Devi e Venkataraman, (1983); Klausner, (1986), o que seria atribuído aos ácidos graxos poliinsaturados, característicos desses microorganismos. No entanto, é preciso considerar que, apesar de ambas as dietas terem teores de lipídios totais semelhantes, estas diferem entre si quanto a sua composição. O efeito hipocolesterolêmico, demonstrado também nas ratas submetidas à dieta teste, pode estar associado ao componente fibra da Aphanothece. Segundo Von der Heyde, Daudt Von der Heyde e Woslaeki (1993), o efeito de algumas fontes de fibras pode ser atribuído ao aumento de excreção fecal de ácidos biliares, o que provocaria uma redução no colesterol total.

Na tabela 2 estão os valores obtidos do peso dos órgãos em relação com o peso corporal das ratas com 28 dias e 8 meses de idade e o resultado da avaliação estatística pelo teste de Duncan a nível de 5% de probabilidade.

TABELA 2 – Peso dos órgãos (g) em relação com o peso corporal (%) das ratas alimentadas com as dietas padrão e teste, aos 28 dias e aos oito meses.

Órgão	Caseína (28 dias)*	Aphanothece (28 dias)*	Caseína (8 meses)**	Aphanothece (8 meses)***
Fígado		Market St.	Charles Carry	SATE PAGE TOWN
Peso médio	5,71	2,62	9,03	7,26+0,340
Relação peso corporal	3,76ª	3,44 ^a	3,37	3,32
Baço				
Peso médio	0,36	0,15 ^a	0,49	0.54+0.056
Relação peso corporal	0,24 ^a	0,20 ^a	0,22	0,25
Ceco				
Peso médio	2,42	1,64	1,73	3,14+0.0
Relação peso corporal	1,59 ^a	2,16b	0,65	1,43
Rim				
Peso médio	1,24	0,75 ^a	1,81	1,62+0,13
Relação peso corporal	0,89 ^a	0,98	0,67	0.74

^{*}Valores médios de 7 ratas; **Valor de uma rata; ***Valores médios de 3 ratas. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si, pelo teste de Student a nível de 5% de probabilidade.

Avaliando estes resultados observa-se que não houve diferenças estatisticamente definida entre as relações peso corporal/órgão para fígado. baco e rim. No entanto, a relação peso corporal/ceco difere significativamente entre os ratos alimentados com dieta caseína e Aphanothece, refletindo diferenças quanto ao teor de fibras na dieta. conforme se pode verificar na tabela 3, pela quantidade de excretas produzidas pelas ratas alimentadas com diferentes dietas. homogeneidade na relação peso órgão/peso corporal indica a viabilidade da utilização desta cianobactéria na dieta alimentar e pode ser corroborada pelos resultados das análises histológicas, as quais estão representadas pelas figuras 1 a 5. Este conteúdo de fibra é importante, uma vez que esse componente se relaciona com a diminuição do teor de colesterol do sangue e aumento do volume fecal; Von der Heyde, Daudt Von der Heyde, Woslaeki, (1993). Desta maneira, o aumento do volume fecal explicaria as diferenças estatisticamente definidas na relação ceco e peso corporal. Ao observar o hábito intestinal dos ratos alimentados com a dieta teste a partir da tabela 3, percebe-se que estes apresentaram uma maior quantidade de fezes, porém não só a quantidade de fezes diz respeito ao hábito intestinal, mas também o seu aspecto. É importante ressaltar também que houve a manutenção do hábito intestinal dos ratos alimentados com a dieta teste desde o início do experimento até seu final. O maior trânsito intestinal, por sua vez, diminui o tempo de permanência dos alimentos no tubo digestivo, diminuindo, portanto, o tempo de absorção. Por outro lado, aumentando a

motilidade intestinal, tem-se uma maior descamação das células epiteliais que ficam em constante renovação e produzem-se fezes com consistência e umidade mais favoráveis, evitando a formação de bolos fecais endurecidos que eventualmente venham a lesar a mucosa intestinal, além do que a permanência de bolos fecais por mais tempo no intestino favorece a proliferação de microorganismos, desestabilizando a flora intestinal.

TABELA 3 – Médias de dietas consumidas e excretas produzidas pelo período de 28 dias.

Ingesta (g)	Caseína	Aphan	Aphanothece	
	2280,50 ^a	1466,00b	Total Williams	
Excreta (g)	153,72ª	477,00b*	idale, digulari	

^{*}Médias seguidas por letras distintas são iguais entre si, pelo teste de Duncan

De acordo com Araújo (1990), existem várias maneiras de enfatizar o problema das alterações nutricionais. De qualquer forma, estas estão sempre compreendidas como uma alteração em nível celular que incapacita o organismo de utilizar corretamente os nutrientes, o que torna impossível para qualquer célula desenvolver sua função normal. Assim, a análise histológica dos órgãos dos ratos submetidos a uma dieta visando sua utilização na alimentação para o homem é ponto decisório para indicar sua viabilidade.



FIGURA 1 – Corte histológico de embrião de rata submetida à dieta contendo Aphanothece sp. (HE 500X) 1.Células do sincício trofoblasto 2. Células do sincício citoblasto 3. Tubo neural 4. Somitos.

A figura 1 mostra o corte histológico de embrião de uma rata que foi submetida à dieta *Aphanothece* por um período de oito meses. Demonstra ser um embrião normal, de aproximadamente sete dias, com presença de tubo neural, células que darão origem aos dermátomos (somitos), primórdios do aparelho urinário (metanéfrons), ectoderma com esclerótomo e dermátomo, porém o miótomo ainda não é visível, presença de saco vitelino e ilhotas sanguíneas.

Levando-se em consideração as características próprias do fígado, dentro do repertório limitado de resposta aos eventos lesivos desse órgão (necrose, degeneração, inflamação, regeneração e fibrose), devido à enorme reserva funcional do fígado (Robbins, 1996) e ao fato de que a alga *Aphanothece* não apresenta toxicidade, como discutido anteriormente na introdução deste trabalho, e por seu baixo conteúdo de gordura em base seca (Teixeira, 1996), dificilmente se encontrariam alterações hepáticas.

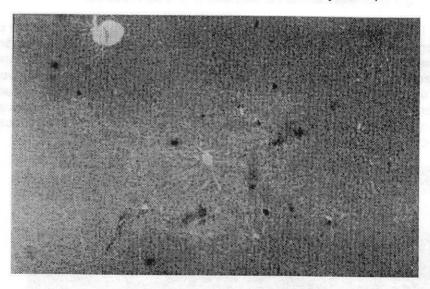


FIGURA 2 – Corte histológico de fígado de rata submetida à dieta contendo *Aphanothece* sp. (HE 200X). Ao centro da figura observa-se uma veia centrolobular.

Na figura 2 pode-se observar o corte histológico de fígado com preservação do parênquima hepático, isto é, os hepatócitos coraram-se homogeneamente, mantendo seus tamanhos e formas, podendo-se, portanto, concluir que há ausência de áreas isquêmicas e de necrose centrolobular; observa-se uma veia centrolobular e tanto os hepatócitos centrais quanto periféricos deste lóbulo hepático demonstram perfusão tecidual preservada, através da homogeneidade da coloração. Da mesma maneira, a ausência de vacúolos intracelulares permite-nos dizer que não houve acúmulo de substâncias; também mostra o espaço porta sem

infiltrado inflamatório agudo ou mesmo crônico, específico ou inespecífico, assim como no restante do parênquima hepático. Não houve proliferação nem espessamento dos cordões de hepatócitos, sem desorganização da estrutura parenquimatosa, e não há evidências de algum processo regenerativo.

Pode-se ainda perceber ausência de deposição de colágeno no parênquima hepático, estando ausentes também nódulos regenerativos, dando-nos a certeza de que não ocorreu processo fibrótico.

Os hepatócitos ainda demonstram ausência de atipia celular.

Já a figura 3 nos demonstra um corte histológico de rim de rata alimentada com a dieta *Aphanothece*. Em relação às estruturas renais, na análise histológica, a totalidade das lâminas das ratas alimentadas com a dieta teste apresentaram manutenção do limite córtico-medular, com ausência de infiltrado inflamatório tanto em nível de parênquima renal quanto em nível de interstício, traduzindo-se, portanto, na inexistência de qualquer tipo de processo inflamatório como mostra a figura. Afasta-se, então, a possibilidade de glomerulonefrites, pielonefrites ou nefrites intersticiais, até porque os ratos não apresentaram sinais indicativos de tais enfermidades.

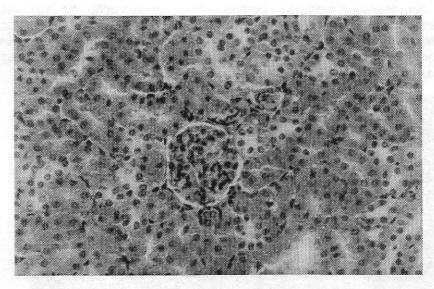


FIGURA 3 – Corte histológico de rim de rata submetida à dieta contendo *Aphanothece* sp. (HE 500X) Ao centro da figura observa-se um glomérulo.

Não existem crescentes glomerulares, focos de necrose ou esclerose segmentar ou global; os glomérulos apresentam-se sem proliferação celular e sem áreas hemorrágicas, evidenciando-se a ausência de glomerulonefrites.

A análise histológica permite dizer, ainda, que não houve a formação de micro ou macro abscessos, mas manutenção da forma dos cálices e pelves renais, evidenciando-se a ausência de pielonefrites.

Em relação à vascularização renal, pode-se observar ausência de comprometimento tanto arterial quanto venoso, já que não existem áreas isquêmicas, pois, assim como a figura 3, as demais lâminas de rim de ratas submetidas à dieta *Aphanothece* coraram-se homogeneamente, sem apresentar qualquer palidez tecidual. Houve a conservação do calibre e da luz dos vasos, sem processos fibróticos associados.

Em nível celular não houve alteração na relação núcleo/citoplasma; observou-se que estas células mantiveram a polaridade, ausência de figuras mitóticas anormais, com manutenção do volume celular, indicando ausência de atipia celular e descartando-se a presença de algum processo tumoral.

A esplenomegalia é uma manifestação importante de distúrbios desse órgão, como inflamações sistêmicas, afecções hematopoiéticas generalizadas e distúrbios metabólicos; portanto, através da análise estatística demonstrada na tabela 2, constatou-se a ausência de esplenomegalia nos ratos submetidos à dieta teste.

Na análise histológica, percebeu-se a preservação da estrutura esplênica, como se pode observar na figura 4 em que os corpúsculos de Malphighi mantiveram seu centro germinativo normal, isto é, sem proliferação celular, e o restante do parênquima não apresenta sinais de infarto, necrose, fibrose ou congestão.

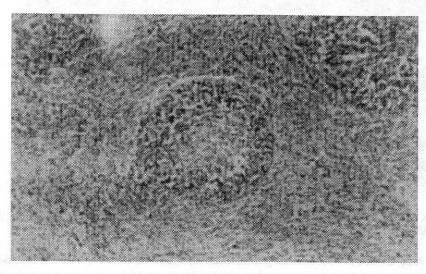


FIGURA 4 – Corte histológico de baço de rata submetida à dieta contendo *Aphanothece* sp. (HE 200X). Ao centro da figura observa-se a polpa branca.

A porção intestinal analisada foi o ceco, o qual apresentou ausência de exsudato inflamatório em mucosa, submucosa, muscular e serosa. A serosa apresentou-se normalmente corada, lisa e brilhante. Observou-se ausência de congestão venosa, ulcerações, focos de abscesso ou necrose, indicando, conforme Robbins (1996), ausência de apendicite ou qualquer outra afecção, já que, como se pode observar na figura 5, as células epiteliais de revestimento mantiveram o padrão cilíndrico simples, com borda estriada delgada e poucas células caliciformes. Ainda se pode observar a preservação das formações glandulares e ausência de áreas hemorrágicas.

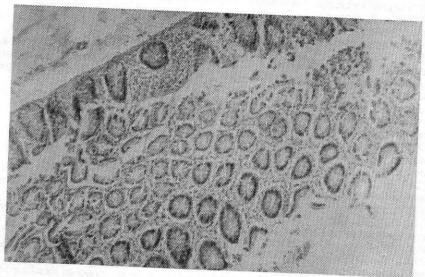


FIGURA 5 – Corte histológico de ceco de rata submetida à dieta contendo $\it Aphanothece sp.$ (HE 200X).

4 - CONCLUSÕES

As ratas alimentadas com dieta caseína e *Aphanothece* não apresentaram diferenças estatisticamente definidas quanto à concentração em proteínas totais e colesterol total no plasma sanguíneo.

As ratas de oito meses de idade não apresentaram distúrbio comportamental ou dérmico, não indicando a análise histológica alterações nas ratas em crescimento, adultas ou nos tecidos embrionários em formação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, R. A. Compêndio de Patologia da Nutrição. Belém: Universidade Federal do Pará, 1990.
- ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTIS (AOAC). Official Methods of Analysis. 15. ed. Washington, 1990. 1141 p.
- DEVI, M. A., VENKATARAMAN, L. V. Hipocholesterolemic effect of the blue-green algal Spirulina platensis in albino rats (Índia). Nutrition Reports International, v. 8, p. 519-530, 1983.
- HARKNESS, E. J., WAGNER, E. J. Biologia e clínica de coelhos e roedores. 3. ed. Rocca, 1993. p. 48-55.
- KLAUSNER, A. Algaculture: food for thought. Biotechnology, v.4, p. 947-953, 1986.
- LABTEST. Diagnóstica Labtest. Sistemas por diagnóstico. Belo Horizonte: Labtest. 1990.
- MATTHIENSEN, A. Ocorrência, distribuição e toxicidade de Microcystis aeruginosa (Kutz Emend. Elenkin) no Estuário da Lagoa dos Patos. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 1996.
- OLIVEIRA, A. T. J., VASCONCELOS, M. I., GONDIN, L. J. M., CAVADA, S. B., MOREIRA, A. R., SANTOS, F. C., MOREIRA, M. I. L. *Canavalia brasiliensis* seeds. Protein quality and nutritional implications of dietary lectin. *Great Britain J. Sci Food Agric.*, v. 64, p. 417-424, 1994.
- QUEIROZ, M. I., TREPTOW, R. O., KOETZ, P. R. Caracterização sensorial do odor da Aphanothece microscópica Nageli desidratada. I Simpósio Iberoamericano de Análise Sensorial (SENSIBER 96), Campinas, 1996.
- QUEIROZ, M. I. Remoção de nitrogênio em efluente da indústria de parboilização do arroz e conversão em biomassa por *Aphanothece* microscópica Nägeli. Plano de Tese de doutorado em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, 1998.
- REEVES, P. G., NIELSN, F. H., FAHEY Jr., G. C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76 Rodent Diet. Illinois: American Institute of Nutrition, 1993. p.1439-1451.
- RIPKA, R., DUREELLES, J., WATERBURY, J. B., HERDMAN, M., STANIER, R. Y. Generic assignments strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*, Great Britain, n. 111, p. 1-61, 1979.
- ROBBINS, L. S., COTRAN, R. S., KUMAR, V., SCHOEN, J. F. *Patologia estrutural e funcional*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
- SGARBIERI,V.C. *Proteínas em alimentos protéicos*: propriedades-degradações-modificações. São Paulo: UniCamp, 1996. 386p.
- VON DER HEYDE, Daudt, WOSLAEKI. Relação entre fibras alimentares, lipídeos sangüíneos e excreção fecal de ácidos biliares. Um estudo experimental em ratos. *Arq. Biol. Tecnol.*, v. 36, n. 2, p. 207-218, 1993.
- ZONTA, E. P., MACHADO, A. A. Sanest Sistema de análise estatística para microcomputadores (registro na secretaria de informática sob nº 066060/Cat. A). Pelotas; 1984.

Recebido: 23/08/00 Aceito: 18/10/00