

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

TESE

**Avaliação biológica e química do cálcio e ferro da
farinha obtida do casco de Tartaruga-da-Amazônia
(*Podocnemis expansa*) em ratos**

Renata Cristina Scarlato

2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO BIOLÓGICA E QUÍMICA DO CÁLCIO E FERRO
DA FARINHA OBTIDA DO CASCO DE
TARTARUGA-DA-AMAZÔNIA (*PODOCNEMIS EXPANSA*)
EM RATOS**

RENATA CRISTINA SCARLATO

Sob a Orientação da Professora

Arlene Gaspar

e Co-Orientação do Professor

Armando U. O. Sabaa Srur

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciência**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ
Junho de 2010

669.725
S286a
T

Scarlato, Renata Cristina, 1978-
Avaliação biológica e química do cálcio e ferro da
farinha obtida do casco de Tartaruga-da-Amazônia
(*Podocnemis expansa*) em ratos / Renata Cristina
Scarlato – 2010.
127 f. : il.

Orientador: Arlene Gaspar.
Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência
e Tecnologia de Alimentos.
Bibliografia: f. 70-86.

1. Cálcio - Avaliação – Teses. 2. Anemia - Teses. I.
Gaspar, Arlene, 1956-. II. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

RENATA CRISTINA SCARLATO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

TESE APROVADA EM 30/06/2010

Arlene Gaspar. DSc. UFRRJ
(Orientador)

Gilson Teles Boaventura. DSc. UFF
(Membro)

Sidinéia Cordeiro de Freitas. DSc. Embrapa - CTAA
(Membro)

Eliane Teixeira Mársico. DSc.UFF
(Membro)

Tatiana Saldanha. DSc. UFRRJ
(Membro)

*Dedico este trabalho
a todos os animais
utilizados nas pesquisas experimentais,
cujas vidas são empregadas
em benefício da ciência.*

*Que o alimento seja o medicamento,
e o medicamento seja o alimento.*

(Hipócrates)

*Bendito o homem que confia no Senhor,
e cuja esperança é o Senhor.
Porque ele será como a árvore plantada junto às águas,
que estende as suas raízes para o ribeiro e não receia quando vem o calor,
mas a sua folha fica verde; e, no ano de sequeidão,
não se afadiga nem deixa de dar fruto.*

(Jeremias 17:7-8)

Todo ser que respira louve ao Senhor. Aleluia!

(Salmo 150:6)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e ao Nosso Senhor Jesus Cristo, por ter me dado saúde, força, coragem e sabedoria para ter realizado este trabalho.

Agradeço aos meus queridos pais, Edna Scarlato e Wilson Scarlato e à minha irmã e amiga Márcia Scarlato, pelo apoio, incentivo e amor em todos os momentos da minha vida. Obrigada por terem me ensinado à ser uma pessoa honesta, por terem incentivado meus estudos e compreendido a minha ausência. Ao Diego do Nascimento Rocha, meu amor, pelo carinho, incentivo e por não ter me deixado parar.

À professora, orientadora e amiga Arlene Gaspar, pela confiança depositada em meu trabalho e pelo apoio e conhecimento que me foram transmitidos. Parabéns por tanto lutar pela melhoria do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRRJ.

Ao querido co-orientador Armando Sabaa Srur, pelo auxílio na elaboração deste trabalho. Obrigada pelo incentivo, otimismo, conhecimentos transmitidos e por ter concedido os equipamentos para moagem do material, na UFRJ.

Ao querido Gilson Teles Boaventura, sem o qual não teria sido possível realizar este trabalho. Pelo seu conhecimento, incentivo, boa vontade em ajudar sempre, por ter gentilmente concedido o Laboratório de Nutrição Experimental da UFF, os animais, equipamentos, enfim, muito obrigada por tudo.

À “família Labne”, por toda ajuda que me deram durante a etapa experimental, pela ajuda nas coletas de sangue, sacrifícios, preparo das rações, etc. Meu carinho especial a todos vocês. Às técnicas Fernanda e Solange pelo auxílio na realização dos hematócritos.

À querida Dra. Sidinéa Cordeiro de Freitas, sem a qual não teria sido possível realizar as determinações de minerais, obrigada por ter me recebido tão bem na Embrapa - CTAA.

À Juliana de Oliveira Santos (CTAA), pelos ensinamentos no laboratório de minerais, pela ajuda com as análises e pela amizade. Ao Epaminondas Simas (CTAA), pelas orientações no laboratório.

À Dra. Marília Stephan Penteado, por tão bem ter me recebido no Laboratório de proteínas e pela realização das análises de Eletroforese.

Ao Criatório Fazenda Moenda da Serra e seu proprietário José Roberto Ferreira Alves, pela matéria prima gentilmente concedida para realização deste estudo e por sempre estar à disposição para o fornecimento de informações.

Ao IBAMA, pela autorização para realização desta pesquisa.

Ao Professor Celso Barbosa, pelo auxílio nas análises estatísticas.

À banca examinadora da qualificação deste trabalho, pelas sugestões que tanto contribuíram para sua realização.

Aos amigos do LAAB Juarez Vicente, Tatiane Moura, Luciana, Gabriela, Elizângela e Isabela. Muito obrigada por tudo.

Aos funcionários Sr. José, Édio Mariano e Lucimar Storck, por estarem sempre dispostos a ajudar.

À professora Nadja Lima Pinheiro, pelo auxílio nas análises histológicas.

Aos amigos Fabiana de Carvalho Dias Araújo e Ednaldo Araújo, por estarem sempre presentes em todos os momentos. À companheira Sandra Batista dos Santos, pela grande amizade. À Ana Amélia Cordeiro, Kênia Pissinate e Fernanda Delgado pelos bons momentos de descontração. À Juliana Vilar, Fernanda Travassos e amigos da República de Nikity Nazareth, Karina, Maurício, Gabriel e Walassy.

Aos ratos utilizados neste experimento e a todos os animais que doam suas vidas em favor da ciência e em benefício de nós, seres humanos.

Ao meu gatinho branco “Cuscuz”, por me fazer rir e ser meu companheiro durante a escrita desta tese.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), por ter me concedido o sonho de me formar e de continuar me especializando.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRRJ, pelo conhecimento e suporte fornecido para realização deste trabalho.

A todos, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

SCARLATO, Renata Cristina. **Avaliação biológica e química do cálcio e do ferro da farinha obtida do casco de Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) em ratos**. 2010. 127 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2010.

Nos últimos anos, houve um crescimento da queloniocultura brasileira, com aumento do volume de abate de *Podocnemis expansa*. Considerando a grande quantidade de subprodutos de abate descartados e os estudos preliminares comprobatórios referentes à presença significativa de cálcio e ferro no casco de *P. expansa*, este estudo foi realizado com intuito de avaliar a biodisponibilidade destes minerais na farinha obtida a partir do casco em *Rattus norvegicus* machos, recém-desmamados, após desenvolvimento de metodologia para sua obtenção. Os cascos foram obtidos de tartarugas em idade de abate, originárias de criatório registrado pelo IBAMA. A farinha obtida apresentou 5,52% de umidade; 24,76% de proteínas; 0,64% de lipídeos; 42,45% de cinzas; 7.700,04mg Ca/100g; 19,65mg Fe/100 g e 104,82 kcal/100g. Esta foi utilizada na composição de ração para repleção de ratos previamente depletados em cálcio e ferro. Na 1ª etapa (depleção), que durou 35 dias, o grupo controle recebeu ração *ad libitum*, contendo fontes convencionais de cálcio e ferro em quantidades adequadas e os grupos depletados em cálcio e em ferro, rações contendo 50% do cálcio e do ferro, respectivamente, recomendados por Reeves et al. (1993), em quantidade diária correspondente à 50% da ingerida pelo grupo controle. Na 2ª etapa (repleção), com duração de 49 dias, os grupos controle e metade dos grupos depletados em cálcio e em ferro receberam ração controle e os demais, ração suplementada com farinha de casco, *ad libitum*. Foram analisados teores de cálcio, ferro, valor calórico e composição centesimal das rações. Determinou-se hematócrito; hemoglobina; cálcio, ferro e fósforo séricos; colesterol total; triglicerídeos; fosfatase alcalina; albumina; coeficientes de digestibilidade aparente do cálcio e do ferro; ganho de peso; consumo total de ração, proteínas e energia; índice de crescimento (IC) e coeficiente de eficiência alimentar. Conforme planejado, as rações atenderam os requisitos desejados, apresentando-se depletadas e suplementada em minerais. Concluiu-se que o objetivo de depletar em cálcio e ferro foi atingido, através da oferta das rações e que a ração suplementada com farinha de casco foi incapaz de recuperar os animais depletados em cálcio e em ferro, devido à baixa biodisponibilidade destes minerais na farinha estudada. Parece ocorrer uma interação negativa na absorção entre cálcio e ferro na farinha de casco, devido à superior concentração de cálcio presente. A proteína presente na farinha foi classificada como sendo de baixa qualidade, proporcionando baixo IC. Concluímos que a farinha de casco de *P. expansa* não é uma boa fonte de cálcio e ferro para ratos. Sugerimos estudos nas áreas de ciências do solo e agronomia, visando aproveitamento da farinha obtida em benefício da agricultura orgânica, evitando descarte inadequado e acúmulo ambiental do casco, havendo viabilidade econômica e tecnológica para tal.

Palavras chave: Deficiência de cálcio, anemia, subprodutos.

ABSTRACT

SCARLATO, Renata Cristina. **Chemical and biological evaluation of calcium and iron of the flour obtained from the shell of Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) in rats.** 2010. 127 p. Thesis (Doctorate in Food Science and Technology). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

The turtles creation in Brazil has increasing in the last years, with increased volume of *Podocnemis expansa* slaughter. Considering the large amount of subproducts of slaughter of this species discarded and preliminary studies concerning the significant presence of calcium and iron in the shell of *P. expansa*, this study was carried out to evaluate the bioavailability of these minerals in the flour obtained from the shell in male *Rattus norvegicus*, weaned, after development of methodology for obtaining of flour. The shells used were obtained from slaughter-age turtles kept in rearing them registered by IBAMA. The flour obtained was analyzed obtaining moisture (5.52%); protein (24.76%); lipid (0.64%); ashes (42.45%); 7700.04mg Ca/100g; 19.65mg Fe/100g and 104.82kcal/100g. This flour was used in the preparation of food for repletion of rats previously depleted in calcium and iron. In the first phase (depletion), which lasted 35 days, the control group received food *ad libitum*, containing conventional sources of calcium and iron in adequate quantity and groups depleted in calcium and iron were fed diets containing 50% calcium and iron, respectively, recommended by Reeves et al. (1993), being offered 50% of the daily volume consumed by the control group. In the second stage (repletion), lasting 49 days, the control group and half of the groups depleted in calcium and iron received control diet and other dietary supplementation with flour obtained from the shell, *ad libitum*. We analyzed levels of calcium, iron, caloric value and composition of rations. It was determined hematocrit; hemoglobin; calcium, iron and phosphorus in serum; total cholesterol; triglycerides; alkaline phosphatase; albumin; apparent digestibility of calcium and iron; total weight gain; total feed intake, protein and energy; growth rate (GR) and coefficient of feed efficiency of groups. As planned, the diets met the desired requirements, presenting depleted and supplemented in minerals. It was concluded that in order to deplete calcium and iron was achieved through the provision of rations and the ration supplemented with flour was unable to recover the animals depleted in calcium and iron, due to low bioavailability of these minerals in the flour studied. It seems to occur a negative interaction between calcium and iron absorption in the flour, due to higher concentration of calcium present. The protein flour studied was classified as low quality for providing low GR. We conclude that the flour obtained from the *P. expansa* shells is not a good source of calcium and iron for rats. We suggest studies in soil science and agronomy, seeking recovery of flour obtained in favor of organic agriculture to prevent inappropriate disposal and environmental accumulation of shells, if there are technological and economic feasibility for this.

Key words: Calcium deficiency, anemia, subproducts.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Formulação das quatro rações utilizadas durante o experimento.	38
Tabela 2	Resultados médios e desvio padrão da composição centesimal, teores de cálcio, ferro e fósforo e valor energético total da farinha do casco utilizada na formulação da ração enriquecida com a farinha do casco (RFC).	47
Tabela 3	Resultados médios e desvio padrão da composição centesimal, teores de cálcio e ferro e valor energético total das rações RC, RDCa, RDFe e RFC, utilizadas experimentalmente.	49
Tabela 4	Médias do ganho de peso total e consumo total de ração, proteínas e energia dos animais dos grupos controle (GC), depletado em cálcio (GDCa) e depletado em ferro (GDFe).	51
Tabela 5	Coefficiente de eficiência alimentar (CEA) e índice de crescimento (IC) dos animais dos grupos controle (GC) e grupos depletados em cálcio (GDCa) e em ferro (GDFe).	52
Tabela 6	Valores médios dos parâmetros sanguíneos Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Colesterol, Triglicerídeos, Cálcio sérico (Ca sérico), Ferro sérico (Fe sérico), Fósforo sérico (P sérico), Albumina e Fosfatase Alcalina obtidos nas análises sanguíneas dos grupos estudados para o cálcio (período de depleção).	53
Tabela 7	Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (Ca E) (mg) e Coeficiente de Digestibilidade Aparente do Cálcio (CDA Ca) (%) nos grupos controle (GC) e depletado em cálcio (GDCa), na primeira fase do experimento.	56
Tabela 8	Valores médios dos parâmetros sanguíneos Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Colesterol, Triglicerídeos, Cálcio sérico (Ca sérico), Ferro sérico (Fe sérico), Fósforo sérico (P sérico), Albumina e Fosfatase Alcalina obtidos nas análises sanguíneas dos grupos estudados para o ferro (período de depleção), na primeira fase experimental.	57
Tabela 9	Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) nos grupos controle e depletado em ferro, na primeira fase do experimento (28 a 56 dias).	59

Tabela 10	Ganho médio de peso total (GPT) e consumo total de ração (CTR), de proteínas (CTP) e energia (CTE) nos animais dos grupos controle (GC), grupos repletados em cálcio ingerindo ração controle (GRCaRC) e ração contendo farinha de casco (GRCaRFC) e repletados em ferro ingerindo ração controle (GRFeRC) e ração contendo farinha de casco (GRFeRFC).	60
Tabela 11	Coefficiente de eficiência alimentar (CEA) e índice de crescimento (IC) dos animais dos grupos controle (GC) e grupos repletados em cálcio ingerindo ração controle (GRCaRC) e ração contendo farinha de casco (GRCaRFC) e grupos repletados em ferro ingerindo ração controle (GRFeRC) e ração contendo farinha de casco (GRFeRFC).	62
Tabela 12	Valores médios dos parâmetros sanguíneos Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Colesterol, Triglicerídeos, Cálcio sérico (Ca sérico), Ferro sérico (Fe sérico), Fósforo sérico (P sérico), Albumina e Fosfatase Alcalina obtidos nas análises sanguíneas dos grupos estudados para o cálcio (período de repleção).	63
Tabela 13	Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) dos grupos GC, GRCaRC e GRCaRFC.	65
Tabela 14	Valores médios dos parâmetros sanguíneos Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Colesterol, Triglicerídeos, Cálcio sérico (Ca sérico), Ferro sérico (Fe sérico), Fósforo sérico (P sérico), Albumina e Fosfatase Alcalina para os grupos estudados para o ferro (período de repleção).	67
Tabela 15	Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) dos grupos GC, GRFeRC e GRFeRFC.	68

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** Valores médios do teor de ácidos graxos (g/100g) e colesterol (mg/100g) presente na gordura do casco da Tartaruga-da-Amazônia (*P. expansa*). **5**
- Quadro 2** Valores médios do teor de minerais (mg/100g) presentes no casco de *P. expansa*. **6**

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Esquematização do delineamento utilizado no presente experimento. **40**
- Figura 2** Ganho de peso dos animais dos grupos GC, GDCa e GDFe no período de vida de 28 a 56 dias. **51**
- Figura 3** Ganho de peso dos animais dos GC, GRCaRC, GRCaRFC, GRFeRC e GRFeRFC no período entre o 56^o ao 105^o dia de vida. **60**

LISTA DE ABREVIÇÕES, SIGLAS OU SÍMBOLOS

CaI - cálcio ingerido
CaE - cálcio excretado
CDA Ca - coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio
CDA Fe - coeficiente de digestibilidade aparente do ferro
CEA - coeficiente de eficiência alimentar
CTE - consumo total de energia
CTP - consumo total de proteína
CR - consumo de ração
CTR - consumo total de ração
FeI - ferro ingerido
FeE - ferro excretado
g - grama
GC - Grupo controle
GC1 - Grupo controle na primeira fase experimental
GC2 - Grupo controle na segunda fase experimental
GDCa - Grupo depletado em cálcio
GDFe - Grupo depletado em ferro
GP - ganho de peso
GPS - ganho de peso semanal
GPT - ganho de peso total
GRCaRC - grupo repletado em cálcio ingerindo ração controle
GRCaRFC - grupo repletado em cálcio ingerindo ração para repleção enriquecida com farinha de casco de *P. expansa*
GRFeRC - grupo repletado em ferro ingerindo ração controle
GRFeRFC - grupo repletado em ferro ingerindo ração para repleção enriquecida com farinha de casco de *P. expansa*
IC - índice de crescimento
kg - quilograma
kcal - quilocaloria
ppm - parte por milhão
RC - ração controle
RDCa - ração 50% depletada em cálcio
RDFe - ração 50% depletada em ferro
RFC - ração para repleção enriquecida com farinha de casco de *P. expansa*
VET - valor energético total

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Justificativa	1
1.2	Objetivos	2
1.2.1	Objetivo geral	2
1.2.2	Objetivos específicos	2
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	Características da Tartaruga-da-Amazônia	3
2.2	Criação e preservação da Tartaruga-da-Amazônia	3
2.3	Casco	4
2.4	Carências nutricionais	6
2.5	Minerais	7
2.6	Diagnóstico de anemia	20
2.7	Situação nutricional da população brasileira	25
2.8	Fortificação de alimentos como medida protecionista	26
2.9	Impacto ambiental X resíduos de abate	27
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	Viabilidade da pesquisa	33
3.2	Materiais	33
3.2.1	Matéria-prima	33
3.2.2	Animais de experimentação	33
3.2.3	Biotério	34
3.3	Métodos	34
3.3.1	Preparo do casco para elaboração da farinha	34
3.3.2	Determinação da composição centesimal e teor de minerais da farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia	35
3.3.3	Elaboração das rações	36
3.3.4	Determinação da composição centesimal e teor de minerais das rações	39
3.3.5	Obtenção dos animais utilizados experimentalmente	39
3.3.6	Determinação do ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) dos animais	41
3.3.7	Consumo de ração (CR)	41
3.3.8	Consumo protéico total e ingestão calórica total dos animais	41
3.3.9	Coefficiente de Eficiência Alimentar (CEA)	42
3.3.10	Coleta e análise das fezes	42
3.3.11	Determinação de cálcio e ferro das fezes	42
3.3.12	Determinação do coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio e do ferro (CDA)	43
3.3.13	Índice de crescimento (IC)	43
3.3.14	Coleta de sangue e preparo das amostras	44
3.3.15	Determinação dos parâmetros bioquímicos do sangue	44
3.3.15.1	Hematócrito	44

3.3.15.2	Hemoglobina	44
3.3.15.3	Colesterol	45
3.3.15.4	Triglicerídeos	45
3.3.15.5	Cálcio	45
3.3.15.6	Ferro	45
3.3.15.7	Fósforo	45
3.3.15.8	Albumina	45
3.3.15.9	Fosfatase Alcalina	45
3.4	Análise Estatística	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1	Composição centesimal da farinha do casco de Tartaruga-da-Amazônia	47
4.2	Composição centesimal das rações elaboradas para alimentação dos animais em ambas as fases experimentais	49
4.3	Dados obtidos na primeira fase do experimento no período de vida de 28 a 56 dias	51
4.3.1	Ganho de peso dos animais do grupo controle (GC), grupo depletado em cálcio (GDCa) e do Grupo depletado em ferro (GDFe)	51
4.3.2	Resultados obtidos nas análises sanguíneas e sorológicas dos grupos de animais estudados para o cálcio na etapa de depleção.	53
4.3.3	Comportamento alimentar dos grupos de animais estudados na primeira fase experimental (28 a 56 dias) quanto ao cálcio	55
4.3.4	Resultados obtidos nas análises sanguíneas e sorológicas dos animais estudados para o ferro na etapa de depleção.	56
4.3.5	Comportamento alimentar dos grupos de animais estudados na primeira fase experimental (28 a 56 dias) quanto ao ferro	59
4.4	Dados obtidos na segunda fase do experimento (período entre o 56º e o 105º dia de vida)	59
4.4.1	Avaliação do ganho de peso total dos animais repletados em cálcio e ferro alimentados com ração controle (RC) e ração enriquecida com farinha do casco (RFC)	59
4.4.2	Resultados obtidos nas análises sanguíneas e sorológicas dos grupos de animais estudados para o cálcio na etapa de repleção	63
4.4.3	Comportamento alimentar dos grupos de animais estudados na segunda fase experimental (56 a 105 dias de vida) quanto ao cálcio	65
4.4.4	Resultados obtidos nas análises sanguíneas e sorológicas dos grupos de animais estudados para o ferro na etapa de repleção	67
4.4.5	Comportamento alimentar dos grupos de animais estudados na segunda fase experimental (56 a 105 dias de vida) quanto ao ferro	68
5	CONCLUSÕES	70
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	71
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
8	ANEXOS	89

8 ANEXOS

Anexo 1 -	Composição centesimal, teores de cálcio, ferro e fósforo e valor energético total (VET) da farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia (<i>P. expansa</i>).	89
Anexo 2 -	Composição centesimal, teor de cálcio e ferro e valor energético total (VET) da ração RC.	89
Anexo 3 -	Composição centesimal, teor de cálcio e ferro e valor energético total (VET) da ração RDCa.	90
Anexo 4 -	Composição centesimal, teor de cálcio e ferro e valor energético total (VET) da ração RDFe.	90
Anexo 5 -	Composição centesimal, teor de cálcio e ferro e valor energético total (VET) da ração RFC.	90
Anexo 6 -	Estatísticas dos anexos 2, 3, 4 e 5.	91
Anexo 7 -	Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g) de seis ratos pertencentes ao grupo GC alimentados com ração RC, com início e término aos 28 e 105 dias de vida, respectivamente.	92
Anexo 8 -	Consumo de ração RC semanal e total (CT) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GC, com início e término aos 28 e 105 dias de vida, respectivamente.	92
Anexo 9 -	Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CT) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GDCa recebendo ração RDCa.	93
Anexo 10 -	Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CT) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GDFe recebendo ração RDFe.	93
Anexo 11 -	Estatísticas dos anexos 7, 9 e 10.	94
Anexo 12 -	Estatísticas dos anexos 8, 9 e 10.	94
Anexo 13 -	Estatística dos anexos 8 e 9.	94
Anexo 14 -	Estatística dos anexos 8 e 10.	95
Anexo 15 -	Estatística dos anexos 8, 9 e 10.	95
Anexo 16 -	Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g) de seis ratos pertencentes ao grupo GC alimentados com ração RC, com início e término aos 56 e 105 dias de vida (segunda fase experimental).	96
Anexo 17 -	Consumo de ração RC semanal e total (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GC, com início e término aos 63 e 105 dias de vida.	96
Anexo 18 -	Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GRCa recebendo ração RC (GRCaRC).	97
Anexo 19 -	Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GRCa recebendo ração RFC (GRCaRFC).	97

Anexo 20 -	Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GRFE recebendo ração RC (GRFeRC).	98
Anexo 21 -	Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GRFe recebendo ração RFC (GRFeRFC).	98
Anexo 22 -	Estatística dos anexos 17, 18 e 19.	99
Anexo 23 -	Estatística dos anexos 17, 20 e 21.	99
Anexo 24 -	Consumo de ração (CR) (g), Cálcio ingerido (CaI) (mg), Cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) no grupo GC ingerindo ração RC, durante a primeira fase experimental.	99
Anexo 25 -	Consumo de ração (CR) (g), Ferro ingerido (FeI) (mg), Ferro excretado (FeE) (mg) e coeficientes de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) no grupo GC ingerindo RC, durante a primeira fase experimental.	100
Anexo 26 -	Consumo de ração (CR) (g), Cálcio ingerido (CaI) (mg), Cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) no GDCa ingerindo RDCa, durante a primeira fase experimental.	100
Anexo 27 -	Consumo de ração (CR) (g), Ferro ingerido (FeI) (mg), Ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) no grupo GDFe ingerindo RDFe, durante a primeira fase experimental.	101
Anexo 28 -	Estatística dos anexos 24 e 26.	101
Anexo 29 -	Estatística dos anexos 24 e 27.	101
Anexo 30 -	Estatística dos anexos 24 e 26.	102
Anexo 31 -	Estatística dos anexos 25 e 27.	102
Anexo 32 -	Estatística dos anexos 24 e 26.	103
Anexo 33 -	Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC1) no período de 28 a 56 dias de vida (primeira fase experimental).	103
Anexo 34 -	Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC2) no período de 63 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).	104
Anexo 35 -	Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC) no período de 28 a 105 dias de vida (primeira e segunda fases experimentais).	104
Anexo 36 -	Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GDCa no período de 28 a 56 dias de vida (primeira fase experimental).	105

Anexo 37 -	Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GDFe no período de 28 a 56 dias de vida (primeira fase experimental).	105
Anexo 38 -	Estatísticas dos anexos 33, 36 e 37.	106
Anexo 39 -	Estatística dos anexos 33 e 36.	106
Anexo 40 -	Estatística dos anexos 33 e 37.	107
Anexo 41 -	Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GRCa com a ração RC (GRCaRC), no período de 56 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).	107
Anexo 42 -	Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GRCa com a ração RFC (GRCaRFC), no período de 56 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).	108
Anexo 43 -	Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GRFe com a ração RC (GRFeRC), no período de 56 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).	108
Anexo 44 -	Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GRFe com a ração RFC (GRFeRFC), no período de 56 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).	109
Anexo 45 -	Estatísticas dos anexos 34, 41, 42, 43 e 44.	110
Anexo 46 -	Estatística dos anexos 34, 41 e 42.	111
Anexo 47 -	Estatística dos anexos 34, 43 e 44.	111
Anexo 48 -	Estatística dos anexos 34, 41, 42, 43 e 44.	111
Anexo 49 -	Estatística dos anexos 17, 18, 19, 20 e 21.	111
Anexo 50 -	Valores obtidos nas análises de hematócrito (%) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.	112
Anexo 51 -	Estatística do anexo 50.	112
Anexo 52 -	Valores obtidos nas análises de hemoglobina (g/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.	113
Anexo 53 -	Estatísticas do anexo 52.	114
Anexo 54 -	Valores obtidos nas análises de colesterol (mg/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.	115
Anexo 55 -	Estatística do anexo 54.	115

Anexo 56 -	Valores obtidos nas análises de triglicerídeos (mg/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.	116
Anexo 57 -	Estatísticas do anexo 56.	116
Anexo 58 -	Valores obtidos nas análises de cálcio sérico (g/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimental.	117
Anexo 59 -	Estatísticas do anexo 58.	118
Anexo 60 -	Valores obtidos nas análises de ferro sérico (µg/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.	119
Anexo 61 -	Estatísticas do anexo 60.	119
Anexo 62 -	Valores obtidos nas análises de fósforo sérico (mg/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.	120
Anexo 63 -	Estatísticas do anexo 62.	121
Anexo 64 -	Valores obtidos nas análises de albumina (g/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.	122
Anexo 65 -	Estatísticas do anexo 64.	122
Anexo 66 -	Valores obtidos nas análises de fosfatase alcalina (U/L) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.	123
Anexo 67 -	Estatísticas do anexo 66.	124
Anexo 68 -	Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC2) na segunda fase experimental.	125
Anexo 69 -	Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) dos animais pertencentes ao GRCaRC na segunda fase experimental.	125
Anexo 70 -	Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) dos animais pertencentes ao grupo GRCaRFC na segunda fase experimental.	125
Anexo 71 -	Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC2) na segunda fase experimental.	125
Anexo 72 -	Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) dos animais pertencentes ao grupo GRFeRC, na segunda fase experimental.	126
Anexo 73 -	Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) dos animais pertencentes ao grupo GRFeRFC na segunda fase experimental.	126

Anexo 74 -	Estatísticas dos anexos 68, 69 e 70.	126
Anexo 75 -	Estatísticas dos anexos 68, 72 e 73.	126
Anexo 76 -	Estatísticas dos anexos 68, 69 e 70.	127
Anexo 77 -	Estatísticas dos anexos 71, 72 e 73.	127

1 INTRODUÇÃO

A Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) é um quelônio de água doce que habita rios e lagos da bacia Amazônica. No Brasil, encontra-se nas Regiões Norte e Centro-Oeste, em rios e criatórios licenciados pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente (IBAMA). O consumo da carne e das vísceras desta espécie é um hábito alimentar comum na região Norte do Brasil, originado na antiguidade com os povos indígenas e permanecendo até a atualidade entre a população indígena remanescente, a população ribeirinha e o caboclo, estendendo-se aos indivíduos que habitam as grandes capitais desta e de outras regiões do país, como a Sudeste. A comercialização da sua carne em restaurantes especializados em carnes exóticas é voltada aos consumidores de elevado poder aquisitivo.

Considerando a dificuldade de mudança nos hábitos alimentares regionais, tão arraigados entre os povos do Norte brasileiro, o IBAMA, através do Centro de Conservação e Manejo de Répteis e Anfíbios (RAN), regulamenta a criação em cativeiro e o abate da Tartaruga-da-Amazônia, como medida protecionista à espécie. O controle da captura e exploração de exemplares de vida livre tem como objetivo evitar a extinção da espécie, atualmente classificada como de baixo risco, dependente de conservação, segundo classificação da lista vermelha de espécies de animais ameaçadas.

A Tartaruga-da-Amazônia tem sido considerada uma excelente oportunidade de negócio, gerando aumento no número de criadouros legalizados, com estoques prontos para o abate na região Amazônica. Em 2001, existiam no Brasil pelo menos 80 criatórios de tartarugas, e em 2007, só no estado do Amazonas, havia 70 criadouros.

A demanda pela carne da Tartaruga-da-Amazônia criada em cativeiro tem aumentado constantemente, inclusive por países europeus. Restaurantes licenciados que comercializam pratos preparados a partir da carne desta espécie tem sofrido crescente demanda, aumentando em até três vezes o pedido de tartarugas aos criatórios. O valor comercial da carne de Tartaruga-da-Amazônia chega a ser 15 vezes superior ao da carne bovina (EMBRAPA, 2004).

Conseqüentemente, o volume de abate e de subprodutos gerados, sem valor comercial, também tem crescido, entre estes, o casco, subproduto de abate não comestível, utilizado apenas na fabricação de artesanatos e utensílios.

1.1 Justificativa

É considerável, no Brasil, o crescimento da queloniocultura e do volume de abate de Tartaruga-da-Amazônia, com crescente descarte de subprodutos, em especial, do casco. Este representa significativo valor percentual sobre o peso da carcaça e quantidades significativas de minerais, como o cálcio e o ferro.

A farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia pode ser uma fonte alternativa de alimentação humana ou animal, carecendo de mais estudos, objetivando-se sua máxima utilização como matéria-prima, como ocorre com a farinha de carne e ossos, no enriquecimento de ração para consumo animal ou como fertilizante.

A farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia não apresenta um padrão de identidade e qualidade, por tratar-se de um novo material, necessitando de estudos de composição centesimal, teor de minerais e biodisponibilidade de cálcio e ferro.

Portanto, a busca por alternativas de utilização para o casco mostra-se viável economicamente, podendo gerar novas fontes de renda aos criadores da espécie, e do ponto de vista ambiental, favorecerá a redução de matéria orgânica descartada no meio ambiente.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Elaborar farinha a partir do casco de Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*), avaliando bioquimicamente o cálcio e ferro presentes, através da administração de rações contendo essa farinha, em ratos em crescimento, previamente depletados em cálcio e em ferro.

1.2.2 Objetivos específicos

- Elaborar farinha a partir do casco de Tartaruga-da-Amazônia;
- Elaborar rações padrão controle, rações deficientes em cálcio e em ferro e adicionadas de farinha de casco como fonte de suplementação de cálcio e de ferro;
- Avaliar a composição centesimal, valor energético total e teores de cálcio, ferro e fósforo das farinhas obtidas;
- Induzir deficiência de cálcio e de ferro em ratos, através da oferta de rações com quantidades reduzidas desses minerais;
- Avaliar a deficiência do cálcio e ferro nos ratos alimentados com as rações;
- Realimentar os animais depletados com ração controle e ração elaborada com adição de farinha de casco;
- Avaliar nos ratos o ganho de peso (GP), consumo diário de ração (CDR), consumo total de ração (CTR), Ganho de peso total (GPT), Coeficiente de eficiência alimentar (CEA);
- Avaliar nos ratos a ingestão, excreção e o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) de Cálcio e Ferro;
- Avaliar nos ratos a recuperação do estado de anemia ferropriva e da deficiência em cálcio, através de análises bioquímicas do sangue.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características da Tartaruga-da-Amazônia

A Tartaruga-da-Amazônia pertence ao Filo Cordados, Sub-filo Vertebrados, Super-Classe Tetrápodos, Sub-Classe Anapsida, Classe Reptilia (dos Répteis), Ordem Chelonia ou Testudinata, Sub-Ordem 1, Pleurodiros, Família Pelomedusidae, Gênero *Podocnemis* e Espécie *Podocnemis expansa* (SCHWEIGGER, 1812; SECRETARIA PRO TEMPORE, 1997; LUZ e REIS, 1998).

O gênero *Podocnemis* possui quatro espécies descritas na Amazônia: as espécies *Podocnemis expansa*, *P. erythrocephala*, *P. sextuberculata* e *P. unifilis*. A *P. expansa* também é conhecida popularmente como Tartaruga-da-Amazônia e tartaruga-grande-do-Amazonas (LUZ e REIS, 1998).

Além do Brasil, a *P. expansa* distribui-se em países como Bolívia, Colômbia, Equador, Guianas, Peru, Trinidad Tobago e Venezuela. Seu habitat é semi-aquático, sendo encontrada em grandes rios e seus afluentes, lagoas adjacentes e rios de florestas (IUCN, 2009).

A Tartaruga-da-Amazônia é uma espécie de quelônio consumida frequentemente pelas comunidades ribeirinhas, indígenas remanescentes e pela população das principais capitais da região Norte do Brasil (BRITO e FERREIRA, 1978). Produz ovos, carne e vísceras com elevada aceitação pelos consumidores, que as utilizam na elaboração de pratos típicos regionais (PEREIRA, 1958; VIANNA, 1991).

Considerando a dificuldade de modificação de um hábito alimentar regional, o IBAMA elaborou duas portarias com o objetivo de regulamentar a criação em cativeiro e o comércio de exemplares dessa espécie. O peso mínimo obrigatório para abate é de 1,5kg e a exportação de exemplares abatidos só pode ser feita mediante licença fornecida pelo IBAMA, objetivando-se reduzir a pesca predatória e o comércio ilegal da espécie (BRASIL, 1992; BRASIL, 1996). O Ministério da Agricultura denomina quelônios genericamente como pescado (BRASIL, 2008).

2.2 Criação e preservação da Tartaruga-da-Amazônia

A criação de quelônios, no Brasil, surgiu para reduzir a captura ilegal das espécies e fornecer produtos e subprodutos aos consumidores (ALFINITO, 1980; LUZ et al., 1997). Na Amazônia, a queloniocultura iniciou-se como ação para contrapor a exploração, com finalidade de domesticar e obter excedentes que permitissem o repovoamento nas áreas onde as espécies estavam diminuindo ou desaparecendo (FACHIN-TERAN, 1999).

O Brasil possui programas de preservação da espécie através do Centro de Conservação e Manejo de Répteis e Anfíbios (RAN), um centro de pesquisa e de conservação da fauna, que possui os objetivos de coordenar, promover e realizar, em âmbito nacional, ações de conservação e manejo de répteis e anfíbios da fauna brasileira, tendo como prioridade as espécies brasileiras ameaçadas de extinção e as de interesse comercial (RAN, 2007).

A Portaria n.º 142 (BRASIL, 1992) regulamenta a criação em cativeiro da Tartaruga-da-Amazônia (*P. expansa*) e tracajás (*P. unifilis*), determinando que 10% do número de filhotes produzidos nas áreas de ocorrência natural podem ser disponibilizados para a criação em cativeiro e que, nestes locais, seja mantido um lote de reprodutores com no mínimo 10% do número de animais recebidos, garantindo a sustentabilidade do criatório e da espécie. Os animais só poderão ser comercializados com peso vivo médio a partir de 1,5 kg (BRASIL, 1996). A comercialização deve seguir as normas da Vigilância Sanitária Estadual e do Ministério da Agricultura. Em relação ao comércio internacional, somente poderão ser comercializados animais abatidos, com licença de exportação fornecida pelo IBAMA,

evitando-se o contrabando de animais da fauna brasileira. Os estabelecimentos revendedores (supermercados, restaurantes, abatedouros, etc.) deverão ser registrados no IBAMA conforme Portaria n.º 070 (BRASIL, 1996).

A criação comercial de tartaruga é uma alternativa para a preservação da espécie e recuperação do estoque natural, considerando-se a dificuldade de modificação de hábitos alimentares regionais (MELO et al., 2004).

De acordo com informações fornecidas por Cotomi (2010), o maior criatório de Tartaruga-da-Amazônia fica no estado do Acre, com 200.000 animais. Existem vários criatórios nos estados do Amazonas e do Pará, onde o consumo de tartaruga faz parte da alimentação ribeirinha há mais de 200 anos. Em Goiás e em Tocantins existiam vários criatórios, porém, atualmente, devido às dificuldades encontradas pelos criadores, só existe o Criatório Fazenda Moenda da Serra, em Goiás, e um em Lagoa da Confusão, no estado do Tocantins.

Existe um criatório de Tartaruga-da-Amazônia localizado em Goiás, no município de Araguapaz, de propriedade particular (Criatório Fazenda Moenda da Serra), um no estado do Tocantins, um no estado do Pará, um no Acre e vários outros nos estados do Amazonas e Rondônia¹. O criatório Fazenda Moenda da Serra obteve no ano de 2009 o registro do SIF (Serviço de Inspeção Federal), possuindo autorização para realizar o abate legal da espécie, sendo este o único criatório autorizado para realizar o abate legal da espécie¹.

A tartaruga é o único alimento que os ribeirinhos e os índios conseguem conservar por longo período, nas grandes cheias quando a pesca fica difícil. Ela é extremamente importante na cadeia alimentar dos habitantes das margens dos rios da região Norte do Brasil (COTOMI, 2010).

A preservação da espécie deve conter programas de esclarecimento à população ribeirinha, mostrando a importância e os benefícios futuros que eles terão ao adotarem práticas de proteção à espécie, considerando-se a necessidade proteica elevada e o hábito de consumo da carne de tartaruga bastante arraigado nessas comunidades (VIANNA, 1991). Sete restaurantes oferecem carne de Tartaruga-da-Amazônia, sendo cinco em Goiás (quatro na capital do estado e um em Pirenópolis), um em Brasília e outro no Mato Grosso do Sul. A carne é comercializada congelada (COTOMI, 2010).

Como a queloniocultura no Brasil é uma atividade altamente rentável e em crescente desenvolvimento, o volume de animais abatidos tem aumentado constantemente, sendo produzido grande volume de subprodutos de abate classificados como comestíveis e não comestíveis, que quando não devidamente aproveitados podem ocasionar sérios problemas de poluição ambiental (LIMA, 2000; FERREIRA, 2002).

2.3 Casco

O casco pode ter sido uma estratégia adaptativa da ordem Chelonia, possivelmente o responsável pela longevidade dessa ordem, sendo formado pela fusão das costelas, externo e vértebras (ZANGERL, 1969). Possui função de defesa e proteção dos órgãos internos e acomodação da cabeça, pescoço, membros e cauda, além de ser o local de inserção para os músculos e tecido conjuntivo (ZANGERL, 1969; LUZ e REIS, 1998; JACKSON, 2000). O casco pode ter permitido a estocagem de grandes quantidades de alimento, água, ar, gordura e outros componentes durante extensos períodos de adversidade, contribuindo para sua maior longevidade (ZANGERL, 1969).

¹ Informação fornecida por José Roberto F. Alves, Goiás, em fevereiro de 2010.

Os ossos da carapaça geralmente são recobertos por escudos córneos de origem epidérmica que não coincidem, em número e posição, com os ossos subjacentes, tornando o casco extremamente resistente a choques mecânicos (POUGH et al., 1993).

Zangerl (1969) e Jackson (2000) classificam o casco como um tecido vivo, irrigado com sangue, capaz de crescer e remodelar-se, servindo como reserva de minerais para o corpo.

O casco da Tartaruga-da-Amazônia é um subproduto de abate até então classificado como não comestível. É utilizado na fabricação de uma infinidade de objetos e artesanatos, tais como brinquedos, bijuterias, pentes, broches, utensílios de cozinha, dentre outros (PEREIRA, 1958; ANDRADE, 1988).

Segundo Silva Neto (1998), na avaliação do rendimento de carcaça de 71 espécimes de Tartaruga-da-Amazônia, com peso médio de 2,53 kg para abate comercial, o casco representou 20,68% ($\pm 1,05\%$) do seu peso.

Segundo Scarlato e Gaspar (2007), o casco da Tartaruga-da-Amazônia é um material rico em proteína (23,04%), sendo superior à carne da mesma espécie, segundo Aguiar (1996) e Gaspar e Rangel Filho (2001), com 21,17% e 17,39%, respectivamente. Essa proteína, quando comparada com a proteína padrão da Food and Agriculture Organization (FAO, 1991), apresentou o teor de aminoácidos essenciais requerido por um indivíduo adulto, atendendo parcialmente essas exigências para crianças em idade escolar (SCARLATO e GASPAR, 2007). Segundo estes autores, o casco apresentou quantidade significativa de lipídios (6,66%), com bom perfil em ácidos graxos monoinsaturados com ligação *cis* e ácidos graxos essenciais (Quadro 1). Obteve teor de umidade de 53,89% e baixo teor de colesterol (36,23 mg/100g), sendo este inferior ao encontrado na carne de exemplares machos e fêmeas (50,71 mg/100g e 49,86 mg/100g, respectivamente) (GASPAR, 2003 e SCARLATO e GASPAR, 2007). O teor calórico determinado foi de 152,07 kcal/100g, além de 20,69% de cinzas e elevado teor de minerais (Quadro 2) (SCARLATO e GASPAR, 2007).

Quadro 1. Valores médios do teor de ácidos graxos (g/100g) e colesterol (mg/100g) presente na gordura do casco da Tartaruga-da-Amazônia (*P. expansa*).

Ácidos Graxos	Teores
Ac. Mirístico C _{14:0}	3,59 ($\pm 0,33$)
Ác. Miristoleico C _{14:1}	0,66 ($\pm 0,07$)
Ác. Pentadenoico C _{15:0}	0,78 ($\pm 0,15$)
Ác. Palmítico C _{16:0}	40,00 ($\pm 0,06$)
Ac. Palmitoleico C _{16:1}	7,71 ($\pm 0,24$)
Ác. Margárico C _{17:0}	0,94 ($\pm 0,04$)
Ác. Esteárico C _{18:0}	22,70 ($\pm 0,47$)
Ac. Oléico C _{18:1 trans}	3,59 ($\pm 0,23$)
Ac. Oléico C _{18:1 cis} ($\omega 9$)	18,59 ($\pm 0,23$)
Ac. Linoléico C _{18:2 cis} ($\omega 6$)	1,44 ($\pm 0,03$)
Ac. Graxos saturados	68,02 ($\pm 0,07$)
Ác. Graxos monoinsaturados	30,55 ($\pm 0,04$)
Ac. Graxos poliinsaturados	1,44 ($\pm 0,03$)
Colesterol	36,23 ($\pm 1,49$)

Fonte: Scarlato e Gaspar (2007).

Quadro 2. Valores médios do teor de minerais (mg/100g) presentes no casco de *P. expansa*.

Parâmetros	Teores
Cálcio (Ca)	7843,33 ($\pm 51,32$)
Fósforo (P)	3000,00 ($\pm 55,22$)
Cobre (Cu)	0,22 ($\pm 0,02$)
Ferro (Fe)	20,76 ($\pm 0,29$)
Manganês (Mn)	1,02 ($\pm 0,21$)
Zinco (Zn)	5,66 ($\pm 0,21$)
Cobalto (Co)	0,79 ($\pm 0,06$)

Fonte: Scarlato e Gaspar (2007).

Estes minerais apresentam várias funções metabólicas e a deficiência dos mesmos acarreta uma série de transtornos ao organismo humano. Se for comprovada a adequada biodisponibilidade dos minerais presentes no casco, definida por Krause et al. (2005) como “disponibilidade de um mineral dentro do intestino delgado que, para sua absorção eficaz, implica em sua retenção no corpo e utilização nas funções celulares ou teciduais,” o mesmo poderá atuar como fonte nutricional de cálcio e ferro.

2.4 Carências nutricionais

A saúde é um estado de bem estar físico, psíquico e social aspirado por todos os indivíduos, constituindo um direito de todos os habitantes deste planeta. No final do século 20, mais da metade da população mundial recebia quantidade insuficiente de alimentos, de acordo com as exigências nutricionais estabelecidas (WHO, 1980; UNICEF-CEPAL, 1986).

Para a manutenção da saúde, faz-se necessária a ingestão de alimentos combinados de maneira adequada e na quantidade certa, atendendo as exigências de determinada faixa etária e grupo populacional (DAWSON, 2007).

As crianças são mais susceptíveis ao desenvolvimento de carência nutricional em comparação aos indivíduos adultos, pois seus requerimentos nutricionais são os mais elevados e específicos da vida pós-natal. O primeiro ano de vida de uma criança é um período crítico, por ser o momento em que os processos de crescimento e desenvolvimento ocorrem na maior velocidade da sua vida e pela sua alimentação depender exclusivamente de terceiros. Qualquer deficiência nutricional pode ocasionar seqüelas permanentes, independente de tentativas posteriores de reabilitação (WINICK e NOBLE, 1966; FISH e WINICK, 1969; MUZZO, 2002).

A desnutrição calórica protéica primária é uma enfermidade nutricional de alta prevalência nos países subdesenvolvidos. É conseqüência da deficiência global de nutrientes, produto da falta de recursos econômicos, de higiene ambiental e de conhecimentos em nutrição (MONCKEBERG, 1979).

Foram demonstrados dois tipos diferentes de desnutrição na infância, a calórico-protéica, conhecida como marasmo e a desnutrição protéica ou pluricarencial, denominada Kwashiorkor. O marasmo é uma desnutrição crônica, portanto, o organismo é capaz de se adaptar para sobreviver, enquanto o Kwashiorkor é agudo, devendo ser tratado rapidamente para que não haja óbito. O marasmo acontece antes do primeiro ano de vida, conseqüência de desmame prematuro e alimentação deficitária em calorias e proteínas, enquanto o Kwashiorkor apresenta-se após o segundo ano de vida, após a lactação materna prolongada, necessária para a sobrevivência da criança, devido ao uso de nutrientes de custo reduzido para

saciar a fome, especialmente carboidratos, produzindo exclusivo déficit protéico (KRAUSE et al., 2005).

O marasmo não gera alterações hematológicas, de proteínas sanguíneas nem infiltração gordurosa do fígado, porém no Kwashiorkor observam-se sintomas de carências vitamínicas, anemia, hipoproteinemia, fígado gorduroso e edema. Esses ocorrem devido ausência de transportadores plasmáticos de vitaminas e lipoproteínas, produto da redução de cortisol plasmático necessários para manutenção dos níveis normais de proteínas plasmáticas, retirando-as dos músculos durante a etapa aguda de desnutrição (VASHI e JAGATIANI, 1980; INFERYONWA et al., 1981).

2.5 Minerais

O cálcio é o quinto elemento em abundância da crosta terrestre, constituindo-a em 3,6% (DECHEN e NACHTIGALL, 2007). É um nutriente fundamental para o crescimento, manutenção das funções orgânicas e reprodução durante toda a vida humana. Exerce funções reguladoras do organismo, tais como contração e relaxamento muscular, coagulação sanguínea, transmissão de impulsos nervosos, ativação de reações enzimáticas e estimulação da secreção hormonal. Nos casos de deficiência de ingestão de cálcio alimentar, o organismo tende a manter seus níveis sanguíneos reduzindo sua excreção, aumentando sua absorção e promovendo sua retirada dos ossos (BATTESTIN et al., 2002).

Na natureza, está presente na constituição de conchas de ostras e corais (DECHEN e NACHTIGALL, 2007).

O decréscimo na ingestão de cálcio, vitamina D e ácido fólico dietético em humanos tem sido sugerido como fatores de risco da ocorrência de câncer de cólon (NEWMARK et al., 2001).

A ingestão deficiente de cálcio pode comprometer a estrutura óssea, causando raquitismo, retardo do crescimento, falhas no mecanismo de coagulação sanguínea, distúrbios nervosos, contrações musculares convulsivas e osteoporose. A ingestão de vitamina D aumenta significativamente a absorção do íon cálcio, sendo recomendada no tratamento do raquitismo (PALLAORO, 1997; BATTESTIN et al., 2002).

A ingestão adequada de cálcio proveniente dos alimentos é muito importante na manutenção da estrutura óssea, já que os ossos são reservatórios de cálcio em contínuo processo de manutenção (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). Apenas 1% do cálcio corporal encontra-se no interior das células, estando o restante localizado nos ossos e dentes (CRISÓSTOMO et al., 2007).

A manutenção dos níveis normais de cálcio plasmático e a proteção do osso contra a desmineralização estão relacionadas à ação da Calcitonina, que é um hormônio polipeptídico composto por 32 aminoácidos, produzido nos mamíferos pelas células C (células parafoliculares) tireoidianas, relacionado ao metabolismo de cálcio (COIFMAN et al., 1997; HAUACHE et al., 2003).

Elevações agudas dos níveis de cálcio plasmático estimulam a secreção de calcitonina, que, por sua vez, exerce seu efeito hipocalcemiante, inibindo a ação dos osteoclastos na reabsorção óssea e retardando a absorção intestinal de cálcio (AIRES, 2008).

Do ponto de vista terapêutico, a calcitonina é aplicada no controle da hipercalcemia e também como agente anti-reabsortivo ósseo (HAUACHE et al., 2003). A calcitonina de salmão é bastante utilizada no tratamento da osteoporose, inibindo a reabsorção óssea dos osteoclastos, por ser mais potente e apresentar maior período de duração em comparação à calcitonina humana (COPP, 1994).

O Paratormônio ou PTH é um hormônio secretado pela paratireóide, glândula formada por quatro glândulas situadas posteriormente à glândula tireóide. Sua principal função é

regular o teor de cálcio e fósforo no organismo, atuando no aumento do número de osteoclastos, promovendo ativa osteólise osteocítica, atuando também na modulação da atividade osteoblástica. O PTH aumenta a liberação de cálcio e fósforo dos ossos e reduz a perda de cálcio pela urina por aumentar sua reabsorção no túbulo renal distal. Aumenta a excreção urinária de fósforo por diminuir sua reabsorção no túbulo proximal. Quando os níveis séricos de cálcio estão baixos, ocorre um aumento da secreção do PTH (MIGUEL Jr., 2007).

O excesso de hormônio da paratireóide (PTH) ativo é clinicamente diagnosticado como hiperparatireoidismo e está relacionado às causas de osteoporose através de densitometria óssea e ao elevado risco de fraturas (MARX, 2000).

Trabalhos demonstram a existência de diversas vias de atuação do PTH no osteoblasto, dependentes da dose, tempo de exposição e dos fragmentos de PTH utilizados. Seu uso como terapêutico anabólico no tratamento da osteoporose, em dose única diária, por via subcutânea, tem promovido ganho de massa óssea e prevenção de fraturas, superando os resultados obtidos pelo uso de terapêuticos anti- reabsortivos.

Estes resultados têm modificado as formas de tratamento da osteoporose, além de estimular o desenvolvimento de estudos sobre possíveis associações e esquemas terapêuticos com drogas pré-existentes (GRACITELLI et al., 2002).

Segundo Proudlove (1996), o cálcio parece ser também ativador de alguns hormônios, assim como da insulina que controla o metabolismo do açúcar no sangue.

Segundo Zemel et al. (2000), a alta ingestão dietética de cálcio estimula a lipólise e inibe a lipogênese, modulando o metabolismo energético e levando à perda de peso e atenuação do risco de obesidade.

O aumento do cálcio na dieta de pacientes obesos durante um ano resultou em uma perda de 4,9 kg de gordura corporal. Foi testada a possibilidade de ação de hormônios calciotróficos em adipócitos no aumento do metabolismo lipídico pela medição dos efeitos de 1,25 - (OH) 2-D (ZEMEL et al., 2000).

Estudos realizados em animais de laboratório e humanos apoiaram a teoria de que o cálcio, no intestino, estabelece um tipo de ligação com ácidos graxos, limitando de forma sutil sua absorção, gerando maior perda fecal de gordura, em situações de alta suplementação do mineral (CRISÓSTOMO et al., 2007). Segundo estes autores, a baixa ingestão de cálcio interfere no nível desse mineral no interior dos adipócitos, favorecendo as vias metabólicas envolvidas no acúmulo de ácidos graxos nessas células.

A suplementação de cálcio reduz a massa adiposa, ocasionando perda de peso corporal, benéfica no tratamento da obesidade, doença que atualmente atinge proporções epidêmicas, cuja tendência é crescente, assim como a tendência ao sobrepeso (OKIGAMI, 2002; TEEGARDEN e GUNTHER, 2008).

Existem vários indícios sobre mecanismos pelos quais o cálcio ou os produtos lácteos ingeridos podem afetar o peso corporal ou a massa gorda corpórea, incluindo um possível efeito sobre o apetite relacionado à hormônios (CCK, Ghrelina, GLP-1, ou ppy). Porém, estas novas evidências não sustentam a hipótese de que a elevada ingestão de cálcio ou laticínios reduz o apetite ou a ingestão alimentar, segundo Teegarden e Gunther (2008).

Estudos observacionais mostraram uma relação inversa entre ingestão dietética de cálcio e gordura corporal, sugerindo a favorável influência do cálcio no equilíbrio energético de pessoas com problemas de peso. Porém, a maioria dos estudos refere-se ao cálcio oriundo de produtos lácteos, podendo essa associação estar relacionada à ação de outros constituintes presentes em sua composição, como proteínas ou peptídeos bioativos. Há boas evidências da atuação do cálcio na regulação e na perda de peso corpóreo em humanos. Estudos são necessários para elucidar a forma ou formas que o cálcio dos laticínios aumenta a excreção

fecal de gordura, além da importância quantitativa desse processo no controle de peso (ASTRUP, 2008).

Belizam (1991) demonstrou que a suplementação de 2g diários de cálcio na dieta de mulheres nulíparas na 20^a semana de gestação reduziu a incidência de hipertensão arterial na gravidez. A suplementação de cálcio como medida dietética no tratamento da hipertensão arterial resultou efeitos benéficos sobre a pressão arterial diastólica (CUTLER e BRITAIN, 1990) e sobre a pressão arterial sistólica e diastólica (MCCARRON e REUSSER, 2001). Segundo Lopes et al. (2003), o consumo do ácido graxo poliinsaturado ômega 3 (ácido linolênico) é uma medida dietética que merece destaque no controle da pressão arterial.

Há uma relação inversa entre ingestão de cálcio e desordens hipertensivas na gravidez, com redução da prevalência de pré-eclampsia e eclampsia. Um possível modo de ação do cálcio suplementado durante a gestação seria a redução da liberação de hormônio paratireoideano e cálcio intracelular, bem como a redução da contratilidade muscular lisa. A suplementação de cálcio durante a gravidez em mulheres com ingestão deficiente de cálcio dietético ofereceu modestos benefícios, reduzindo pré-eclampsia, óbito materno e morbidades severas, porém, estes benefícios não são conclusivos à gestantes que ingerem cálcio dietético adequadamente (HOFMEYR et al., 2007).

O consumo reduzido de cálcio pode contribuir para o aumento do risco de derrame isquêmico em mulheres de meia-idade (ISO et al., 1999). Sua ingestão adequada, principalmente via alimentos, onde encontra-se associado com outros nutrientes essenciais, contribuiu para a saúde global e do sistema cardiovascular, inclusive reduzindo os riscos da ocorrência de derrame isquêmico (MCCARRON e REUSSER, 2001).

Vários fatores podem interferir na absorção do cálcio ingerido. Fatores fisiológicos interferem na biodisponibilidade do cálcio, como a vitamina D, os níveis de cálcio e fósforo, idade do indivíduo e gravidez. Ingestão de alimentos ricos em ácido oxálico e ácido fítico reduzem a disponibilidade do mineral por formar sais insolúveis, além do ácido fosfórico, presente nos refrigerantes, da cafeína, do álcool e de diversos medicamentos que também prejudicam sua biodisponibilidade (SIGNORINI e SIGNORINI, 1997; BATTESTIN et al., 2002).

Os teores de ácido fítico encontrados nas misturas de leite desnatado e integral combinados a algumas frutas, infusão de café e achocolatado foram baixos, comparados aos presentes em grãos, sendo pouco maiores na mistura com achocolatado, sendo de 0,30% e 0,22% nas misturas com leite integral e desnatado, respectivamente (NOGUEIRA e CANNIATTI-BRAZACA, 2008).

As fibras são classificadas como potentes inibidores da absorção de minerais e elementos traço em geral (BOSSCHER et al., 2001), explicando a superioridade em cálcio disponível das amostras de leite misturado à maçã sem casca em comparação à mistura de maçã com a casca obtidas no estudo realizado por Nogueira e Canniatti-Brazaca (2008).

O ferro apresentou correlação positiva com a disponibilidade de cálcio e a maior disponibilidade de cálcio foi encontrada na mistura de leite com banana, provavelmente devido à composição da banana, que apresenta compostos derivados de aminoácidos na forma livre, podendo servir como complexador do cálcio, formando quelatos (NOGUEIRA e CANNIATTI-BRAZACA, 2008).

São fatores dietéticos que interferem na biodisponibilidade do cálcio, a presença de lactose, proteínas e o balanço fósforo/cálcio (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000).

O consumo excessivo de proteínas promove aumento na eliminação urinária do cálcio e, em crianças, conseqüente redução na velocidade de crescimento, conforme foi observado em recém-nascidos de baixo peso (OMS, 1985). Contudo, a ingestão excessiva do mineral também é prejudicial, pois pode promover calcificações excessivas nos ossos ou formação de cálculo nos rins (PALLAORO, 1997).

A absorção de cálcio está relacionada à presença de vitamina D, sendo esta obtida através da ingestão de fontes alimentícias como ovo, margarina, manteiga, entre outras, além de ser formado na pele exposta à luz solar (ALBUQUERQUE e MONTEIRO, 2002).

A suplementação diária com compostos de cálcio é uma medida preconizada para praticamente todos os pacientes com osteoporose senil, pois a ingestão diária de cálcio varia de 400 a 500mg, mesmo nos países desenvolvidos. Essa quantidade é insuficiente para a manutenção de níveis plasmáticos desejáveis, portanto a suplementação reduz a reabsorção e a perda de massa óssea (DOURADOR, 1999).

A ingestão de cálcio pode inibir a absorção de ferro, especialmente quando ingeridos simultaneamente. Porém, no estudo realizado em seis países europeus, com mulheres jovens com idades médias de 13,5 e 22 anos, respectivamente, concluiu-se que a ingestão de cálcio dietético está inversamente associada, de forma leve e consistente, com o status de ferro sanguíneo, independente do cálcio ter sido ingerido simultaneamente com o ferro. O objetivo do uso de indivíduos de seis diferentes países foi ampliar a variabilidade dos níveis de cálcio e ferro consumidos (VAN DE VIJVER et al., 1999).

O equilíbrio positivo do cálcio, que significa absorção maior do que sua demanda pode ser ideal no início da vida adulta, auxiliando o aumento da densidade óssea, proporcionando um pico de massa óssea adequada e conseqüentemente menor perda óssea posterior (BATTESTIN et al., 2002).

Na infância, adolescência, gravidez e lactação, quantidades superiores a 1000 mg de cálcio diários são necessárias para manter seu equilíbrio ideal, já que nessas condições os indivíduos têm alterações deste mineral no organismo, pelo consumo ou pela sua absorção (BATTESTIN et al., 2002).

Existe polêmica sobre as melhores fontes de cálcio disponível nos alimentos. Dietas ricas em proteínas aumentam a excreção de cálcio, assim como o consumo de aminoácidos sulfurados como a metionina e a cisteína, a cafeína e o sódio, aumentando a ocorrência de osteoporose (SILVA, 2002). Os vegetais, em geral, são fontes ricas em bicarbonato de potássio, que aumenta a absorção do cálcio presente nestes alimentos (SCHILLER, 2007).

Quanto à solubilidade dos sais de cálcio, Silva e Cozzolino (2005) citam que sais como acetato, lactato, gluconato, citrato e carbonato apresentam absorção similar, variável entre 25% a 40%. Além da solubilidade, outro requisito importante na escolha de sais de cálcio para adição em alimentos é a biodisponibilidade (SILVA e COZZOLINO, 2005).

Suplementos de cálcio somente devem ser utilizados em situações de emergência e sob orientação médica, pois sempre são produzidos na forma composta, sendo eliminados pelo organismo em sua maioria. Na ingestão de suplementos compostos, como o carbonato de cálcio, o organismo precisa fazer a separação do cálcio e do carbonato, produzindo radicais livres nessa reação química (SIGNORINI e SIGNORINI, 1997). O cálcio não absorvido pelo organismo é excretado pelas fezes e seu excesso é eliminado através do suor e urina (FAO, 1991).

O cálcio pode estar nos alimentos de diversas formas, dentre elas na forma de sais, como o carbonato de cálcio (CaCO_3), presente na casca do ovo. Estes interferem negativamente na biodisponibilidade do ferro (COELHO, 1995).

De acordo com Silva e Cozzolino (2005), a absorção do carbonato de cálcio é de aproximadamente 30%, sendo a forma preferencialmente empregada em suplementos de cálcio, por apresentar peso molecular relativamente baixo. Já o citrato de cálcio é mais rapidamente absorvido comparado ao carbonato, embora essa diferença aparentemente não influencie na disponibilidade do cálcio.

O pó de concha de *Crassostrea risiphora*, molusco bivalvo conhecido como ostra, é fonte natural de cálcio, podendo ser utilizado na suplementação alimentar dos habitantes da região litorânea brasileira (NUNES et al., 2006).

Pesquisas demonstraram que o cálcio contido nos suplementos à base de carbonato de cálcio, como o pó da concha de ostra, é tão bem absorvido quanto o cálcio contido nos alimentos (AGRIPINO, 2009).

Porém, segundo alguns autores, o carbonato oriundo de conchas de ostras pode apresentar vestígios de elementos potencialmente tóxicos como chumbo, alumínio, cádmio e mercúrio, podendo representar um problema quanto ao seu consumo (OLIVEIRA et al., 2009).

Considerando a concentração de cálcio na farinha de casco de *P. expansa*, segundo Scarlato e Gaspar (2007), a ingestão de apenas 12,75g e 15,30g dessa farinha, por indivíduos adultos e mulheres gestantes, respectivamente, supriria as necessidades diárias de ingestão de cálcio recomendadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2005).

Os alimentos aumentam a absorção de suplementos de cálcio em 10 a 15% em indivíduos saudáveis, tanto nas formas solúveis quanto insolúveis. Os suplementos de cálcio, tanto nas formas solúveis quanto insolúveis, sofrem aumento de aproximadamente 10 à 15% em sua absorção quando consumidos em conjunto com alimentos (SILVA e COZZOLINO, 2005).

Nada substitui o benefício de uma alimentação balanceada, que contenha todos os nutrientes necessários em quantidades suficientes para interagirem, promovendo a boa saúde e mantendo o indivíduo saudável (BATTESTIN et al., 2002).

Estudos sobre consumo alimentar em crianças em idade escolar demonstraram que estes não ingeriram as quantidades de cálcio recomendadas para a faixa etária estudada, refletindo o baixo consumo de alimentos fontes deste mineral. Este fato é bastante preocupante, pois é durante a puberdade e adolescência que as necessidades deste mineral são maiores, devido ao acelerado desenvolvimento muscular, esquelético e endócrino (ALBUQUERQUE e MONTEIRO, 2002).

Maurer et al. (2005) demonstraram que o uso de terapia de reposição hormonal em mulheres pós menopausa parece influenciar positivamente as associações de ferro e cálcio na mudança da densidade mineral óssea.

Segundo Pannemans et al. (1997), o aumento da ingestão de proteínas, de 12 para 21% do total da energia ingerida, não teve efeito negativo sobre o equilíbrio do cálcio. Não existe um consenso sobre o efeito da ingestão dietética de proteínas sobre o esqueleto, mas há indicações de que a baixa ingestão de cálcio pode influenciar negativamente a ação de proteínas dietéticas sobre o risco de ocorrência de fraturas (DAWSON-HUGHES e HARRIS, 2002).

O aumento da longevidade populacional unido à ingestão deficiente de cálcio na infância e na adolescência predispõe à osteoporose, doença de alto impacto econômico que se manifesta nos idosos (DOURADOR, 1999; PEREIRA, 2003).

A osteoporose é uma doença multifatorial, que afeta um número significativo de pessoas no mundo todo, especialmente nos países subdesenvolvidos. Caracteriza-se pela perda gradual da massa e da densidade óssea, através da deterioração microarquitetural do tecido ósseo, provocando fragilidade óssea podendo culminar com fraturas (WOOLF e PFLEGER, 2005; NUNES et al., 2006).

A osteoporose pode ser classificada como Osteoporose Tipo I ou Pós-menopausa, Tipo II ou Relacionada à Idade e Osteoporose Secundária. Na primeira, ocorre perda de densidade mineral óssea após declínios significativos dos hormônios sexuais, principalmente nas mulheres. Caracteriza-se por fraturas distais do rádio distal e ulna e fraturas por esmagamento das vértebras lombares. Envolve, primariamente, o tecido ósseo trabecular. Na Osteoporose Tipo II há perda de densidade mineral óssea nos ossos corticais e trabeculares.

Ocorre em idosos do sexo feminino e masculino, após os 70 anos de idade, podendo gerar fraturas nas vértebras e quadril. Na Osteoporose secundária, ocorre perda de densidade óssea secundária à outra patologia, como doenças renais e hepáticas (KRAUSE et al., 2005).

Segundo dados do Ministério da Saúde, citados por Zepeda (2009), a osteoporose afeta em torno de oito milhões de pessoas com idade acima de 55 anos no Brasil.

Veras (2008), membro do Conselho Nacional dos Direitos do Idoso, alerta que até 2025 o Brasil possuirá, em seu território, 40% do total de idosos da América Latina, em decorrência do aumento da expectativa de vida da população brasileira. Esse aumento da expectativa de vida pode gerar um acréscimo no número de casos de osteoporose no Brasil.

As fraturas ósseas, principalmente as dos ossos do quadril, são causas importantes de morbidade e mortalidade entre idosos. O risco de ocorrência de fraturas é três vezes superior nas mulheres comparado aos homens, pois além da osteoporose senil, pode ocorrer a osteoporose da pós-menopausa, decorrente da queda do nível de estrógenos no sangue (CUMMINGS et al., 1989; DOURADOR, 1999; KATO et al., 2000).

As fraturas osteoporóticas ocorrem mais frequentemente nos ossos do quadril e pulso e nas vértebras (CUMMINGS et al., 1989).

A força óssea e o risco de queda são dois fatores determinantes para a ocorrência de fraturas osteoporóticas, sendo associadas ao estilo de vida, características demográficas e antropométricas, influenciando direta ou indiretamente o metabolismo ósseo e o impacto do trauma físico originado pela queda (CUMMINGS et al., 1989; LAURITZEN, 1997).

A perda de massa óssea é mais frequente em mulheres, iniciando por volta dos 35 anos de idade e aumentando, anualmente, durante a menopausa. Porém, o consumo adequado de cálcio pelos adolescentes é fundamental para a prevenção da osteoporose na população (LERNER et al., 2000; NUNES et al., 2006).

No tratamento da osteoporose senil, pode-se utilizar o calcitriol (1,25 diidroxí vitamina D), composto ativo da vitamina D, que atua aumentando a absorção de cálcio no intestino ou outros análogos da vitamina D, como Vitamina D₂ ou D₃, alfacalcidol ou fórmulas magistrais que podem ser formuladas com cálcio, associadas ao cálcio elemento. Contudo, o controle dos níveis séricos e urinários de cálcio é obrigatório a cada três ou quatro meses, para monitorizar as doses de vitamina D, evitando-se intoxicações (DOURADOR, 1999).

Segundo Kanis (1999), não existem estudos adequadamente controlados para mostrar a relação entre o aumento da ingestão de cálcio e a consolidação do esqueleto ou redução no risco de fraturas subsequentes, antes ou após o término do crescimento longitudinal. O mesmo autor acredita que a suplementação com cálcio diminui perdas ósseas em estudos em curto prazo, mas diz serem incertos os efeitos à longo prazo na mineralização óssea e, portanto, na frequência de fraturas.

A ingestão dietética afeta diretamente o metabolismo mineral ósseo, enquanto o histórico reprodutivo da mulher, como a idade em que entrou na menarca e na menopausa pode ter um efeito indireto pela determinação do tempo de exposição do organismo à ação de estrógenos ovarianos (KATO et al., 2000).

Quanto à relação entre ingestão dietética e prevenção de osteoporose, o alto consumo de cálcio tem sido amplamente recomendado, embora existam pequenas evidências sobre a efetividade da alta ingestão desse mineral na prevenção da osteoporose (HEGSTED, 2001).

De acordo com o estudo realizado por Kato et al. (2000), uma dieta rica em lipídios pode ocasionar aumento moderado no risco de fraturas em mulheres pós-menopausa. Adicionalmente, o mesmo estudo ofereceu evidências de que a obesidade, estatura baixa e etnia americana africana são fatores protetores à ocorrência de fraturas.

Segundo Hegsted (2001), existem evidências que a redução dos índices de colesterol sérico, do risco de doenças cardiovasculares e o alto consumo de frutas e vegetais atuem na prevenção de fraturas, sugerindo fatores de origem alimentar para a ocorrência das mesmas.

Segundo Lima (2009 apud ZEPEDA, 2009, p 1), roedores apresentando hipertireoidismo apresentavam estruturas ósseas com menor concentração de cálcio e zinco, deficiência que pode evoluir para um quadro de osteoporose. Novas pesquisas estão sendo realizadas para saber se o hipertireoidismo em humanos também pode evoluir para uma osteoporose, assim como nos ratos.

O ferro é um microelemento que constitui aproximadamente 5% da crosta terrestre (DECHEN e NACHTIGALL, 2007). Essencial à formação da hemoglobina e presente na mioglobina muscular, é depositado no fígado, baço e medula óssea, nas células como constituinte de enzimas como citocromo-oxidase e catalases, desidrogenases do músculo esquelético, metaloenzimas teciduais com função no metabolismo aeróbico (SCHMIDT-NIELSEN, 2002).

Aproximadamente, 75% do ferro está no organismo presente em compostos metabolicamente ativos. Os 25% restantes são uma reserva dinâmica de renovação constante, garantindo adequada demanda para o funcionamento normal dos órgãos, apesar das variações em curto prazo na absorção ou perda de ferro pelo organismo (BADHAM et al., 2007).

Reservas de ferro utilizadas são gradualmente substituídas através do aumento da absorção do mineral. A Transferrina circulante supre quase todas as necessidades operacionais. Os seres humanos contêm de 40 a 50 mg de ferro por kg de peso corporal (BADHAM et al., 2007).

No corpo, o ferro está distribuído nas proporções de 70%; 4%; 1%; 20 a 25% e 0,1% na hemoglobina; mioglobina; nas enzimas intracelulares; fígado, baço e medula óssea e depositado na forma de ferritina e hemossiderina e ligado à transferrina, respectivamente (MARTINS e HIROSE, 2010).

O ferro pode ser classificado em ferro heme, ou hemínico, quando se encontra na forma iônica reduzida ou ferrosa (Fe^{+2}) ou ferro não heme ou não hemínico, quando está na forma oxidada férrica (Fe^{+3}) (OSKI, 1993; MARTINS e HIROSE, 2010). O primeiro é ligado ao grupo heme e deriva da hemoglobina, mioglobina e outras heme proteínas, presente nas carnes bovina, de aves e peixes, não sofrendo interferência dos alimentos para a sua absorção, que é duas a três vezes maior em comparação a forma férrica (OSKI, 1993; MARTINS e HIROSE, 2010).

É absorvido como complexo ferro-porfirínico intacto, sendo liberado na circulação, seguindo diretamente para o fígado, através da circulação entérica. O Fe^{+2} não representa mais do que 10 à 15% do total do ferro das dietas não vegetarianas ocidentais (MARTINS e HIROSE, 2010).

O ferro não heme, presente nos alimentos de origem vegetal, é absorvido com maior dificuldade. Está presente nos alimentos como Fe^{+3} , mais precisamente como hidróxido, ou ligado labilmente a compostos orgânicos como citratos, lactatos e açúcares. Nessa situação, para ser absorvido, faz-se necessário que o ferro seja liberado desses compostos e seja reduzido à Fe^{+2} (forma ferrosa). Esta redução é altamente facilitada pela presença de ácido clorídrico e outras secreções como bile e bicarbonato secretado pelo pâncreas (MARTINS e HIROSE, 2010).

Nos mamíferos, é utilizado principalmente na síntese da hemoglobina nos eritroblastos, da mioglobina nos músculos e dos citocromos no fígado (WIJAYANTI e KATZ, 2004). Sua participação nos processos de oxidação e redução pode gerar radicais livres, causando efeitos tóxicos (BADHAM et al., 2007).

O ferro é fundamental para o metabolismo energético. É um cofator importante para enzimas da cadeia respiratória mitocondrial e para a fixação do nitrogênio (GROTTO, 2008).

Desempenha funções vitais no metabolismo oxidativo, na proliferação celular, na síntese de colágeno e no metabolismo dos ácidos nucleicos (BADHAM et al., 2007; MARTINS e HIROSE, 2010).

O fornecimento de ferro para as células corporais é estritamente regulamentado pelo controle da absorção e da liberação das reservas (MARTINS e HIROSE, 2010).

A absorção do ferro se dá, sobretudo, no duodeno e jejuno proximal, passivamente, se a sua concentração no lúmen é elevada, ou ativamente e com dispêndio de energia, se estiver presente em pequena quantidade (MARTINS e HIROSE, 2010).

A absorção do ferro ocorre principalmente na porção proximal do intestino delgado. O enterócito, célula altamente especializada localizada no ápice das vilosidades duodenais, controla a passagem do ferro oriundo da dieta (TAPIERO et al., 2001). Dos transportadores, a Proteína Transportadora Hemo 1 (PTH1) e o Transportador de Metal Divalente 1 (TMD1) parecem mediar a entrada da maioria do ferro nas células da mucosa (TAPIERO et al., 2001).

O ferro heme é sempre mais facilmente absorvido. As moléculas heme intactas são transportadas dentro dos enterócitos. Sem dúvida, a porção heme constitui uma pequena proporção do ferro da dieta, ainda para aqueles indivíduos que consomem muita carne ou pescado. A maior parte do ferro está presente na forma não heme ou inorgânica. Este é transportado nos enterócitos pelo TMD1, porém, anteriormente deve ser solubilizado e reduzido ao estado ferroso. A presença de fitatos e polifenóis nos alimentos pode inibir a união do ferro não heme ao TMD1, inibindo, conseqüentemente, a absorção (BADHAM et al., 2007).

Nas células da mucosa, o Fe^{++} é oxidado a Fe^{+++} . Esta oxidação é direta no ferro não heme e após prévia ruptura do anel porfirínico, no caso do ferro heme. Parte do ferro passa para o plasma e é transportado no sangue pela transferrina, uma beta-globulina que se liga a dois íons de ferro. A quota remanescente se liga no citoplasma das células intestinais à apoferritina, transformando-se em ferritina (o tecido hepático, a medula óssea e o baço também armazenam o ferro na forma de ferritina). Esta é liberada de acordo com as exigências do organismo e cedida à transferrina plasmática (MARTINS e HIROSE, 2010).

Para que o ferro seja liberado e, conseqüentemente, utilizado, precisa se ligar a receptores específicos, que existem abundantemente nas células que sintetizam hemoglobina, através de receptores para transferrina na superfície celular. Após a sua entrada na célula eritróide, uni-se à protoporfirina, nas mitocôndrias, para a formação de heme (a medula óssea é a que mais necessita de ferro, em função da hemoglobina contida nas hemácias) (MARTINS e HIROSE, 2010).

O consumo de ferro total e de ferro biodisponível em crianças sem anemia foi 10% e 19% superior ao consumo em crianças anêmicas, respectivamente. Crianças com inadequação do consumo de ferro apresentaram 2,28 vezes mais chances de desenvolver anemia grave quando comparadas às crianças com consumo adequado de ferro. Crianças que consumiram ferro biodisponível inadequadamente apresentaram 1,71 vezes mais chances de ter anemia grave comparadas às que consumiram ferro biodisponível adequadamente (LACERDA e CUNHA, 2001).

A absorção de ferro é determinada por diversos fatores como: quantidade ingerida do mineral; forma química (heme ou não-heme); presença de outros constituintes alimentares nas refeições, como os aminoácidos cisteína, lisina e histidina, além de acontecer de forma inversamente proporcional ao status de ferro do indivíduo (BENDER, 1993; SPEAR, 1996 apud ALBUQUERQUE e MONTEIRO, 2002, p. 297).

Substâncias redutoras como o ácido ascórbico, que reduz o ferro férrico em ferro ferroso, grupos SH e substâncias que mantêm o ferro solúvel, como a frutose, favorecem sua absorção (MARTINS e HIROSE, 2010; KRAUSE et al., 2005). Ácidos orgânicos, como o

cítrico, láctico e málico promovem aumento da absorção de ferro (MARTINS e HIROSE, 2010).

A absorção do ferro pode ser reduzida por diversos fatores alimentares. O leite materno e de vaca apresentam pequenas quantidades de ferro, porém o ferro presente no leite materno apresenta maior biodisponibilidade comparado ao leite de vaca, protegendo o lactente da anemia (STEKEL et al., 1986).

Estudos em humanos demonstraram que o cálcio reduz a absorção de ferro em até 60% (GLEERUP et al., 1993). Recomenda-se a redução do consumo de alimentos lácteos junto às refeições contendo ferro hemínico, especialmente para indivíduos que consomem grande quantidade de produtos lácteos e têm alta necessidade de ferro, como os lactentes (HALLBERG et al., 1992; GLEERUP et al., 1993).

O leite e os achocolatados e alimentos como queijo, requeijão e chocolate contêm nutrientes que reduzem experimentalmente a absorção do mineral (LACERDA e CUNHA, 2001). A presença de fitatos, oxalatos, fosfatos e polifenóis formam com o ferro substâncias insolúveis, além da absorção do ferro sofrer inibição decorrente do aumento do pH gástrico na anemia ferropriva dos idosos (ALBUQUERQUE e MONTEIRO, 2002; MARTINS e HIROSE, 2010).

O cálcio compete com o ferro na formação de complexos insolúveis, diminuindo a sua absorção (MARTINS e HIROSE, 2010). A presença de fosfato de cálcio e de cafeína na alimentação reduz a absorção de ferro (ALBUQUERQUE e MONTEIRO, 2002). Compostos fenólicos (flavonóides e ácidos fenólicos) e taninos inibem a absorção do micronutriente, provavelmente pela formação do complexo ferro-fenólico no lúmen do trato gastrointestinal, tornando-o menos biodisponível. Esses compostos são encontrados principalmente nos chás preto e mate, café e alguns refrigerantes (MARTINS e HIROSE, 2010).

A adição ou presença de alguns minerais na dieta pode prejudicar a absorção do ferro, como por exemplo, zinco, cobre, cobalto e manganês, sugerindo a existência de vias comuns de absorção, gerando competição entre esses minerais. A presença de sais de cálcio, principalmente o fosfato, diminui consideravelmente a absorção do ferro não heme (MARTINS e HIROSE, 2010).

O aditivo alimentar ácido etileno diamino tetra acético (EDTA), usado para quelar metais pesados, reduz a absorção do ferro. Na proporção de 2:1, pode reduzir em 50% a absorção de ferro não heme (MARTINS e HIROSE, 2010).

Lacerda e Cunha (2001) classificaram como alimentos ricos em ferro os ovos, (principalmente a gema), hortaliças folhosas, feijões, fígados e carnes. Os autores associaram a frequência de consumo destes alimentos por crianças de 12 a 18 meses com a ocorrência de anemia, considerando adequada a frequência de consumo de fígado de uma a três vezes por semana e de duas vezes ao dia a quatro vezes por semana para os demais alimentos, a fim de atender a ingestão diária recomendada dos nutrientes.

O ferro é encontrado em quase todos os alimentos, sofrendo absorção pelo organismo de aproximadamente 5 a 10% (BADHAM et al., 2007; MARTINS e HIROSE, 2010).

O conteúdo mineral dos alimentos pode variar com a forma de cultivo, água, solo, clima e utensílios utilizados na moagem e cozimento dos mesmos (OSÓRIO, 2002).

As exigências nutricionais de ferro são elevadas na adolescência, devido à maturação esquelética, expansão do volume sanguíneo e aumento da massa muscular. No sexo feminino, adiciona-se a esses fatores, a reposição decorrente das perdas menstruais (ALBUQUERQUE e MONTEIRO, 2002).

Segundo relatos de Oliveira et al. (2006), na região Nordeste do Brasil não existia o hábito de oferecer às crianças menores de dois anos alimentos ricos em ferro biodisponível, como carnes, peixes, vísceras, frutas e vegetais fornecedores de vitamina C, estimuladores da absorção de ferro, mesmo quando disponíveis à família. Esse fato demonstra a importância da

educação alimentar e do conhecimento sobre as combinações adequadas de alimentos a serem ingeridos.

No segundo e terceiro trimestres de gestação, as necessidades de ferro também estão aumentadas. Estas são supridas pela utilização das reservas maternas acumuladas antes da concepção e durante o início da gravidez, devido à interrupção da menstruação e aumento acentuado na absorção durante o segundo e terceiro trimestres (BADHAM et al., 2007). Os requisitos são elevados particularmente em crianças entre 6 e 18 meses de idade e nas mulheres em idade reprodutiva, sendo superiores em comparação aos homens e mulheres após a menopausa (BADHAM et al., 2007).

A deficiência de ferro na infância tem um importante efeito negativo no desenvolvimento físico e intelectual da criança, sendo mais preocupante naquelas com idade inferior a dois anos, devido ao rápido desenvolvimento e maior necessidade de ingestão nessa fase, infelizmente muitas vezes não suprida através da dieta (BADHAM et al., 2007).

A deficiência de ferro continua a ser a deficiência nutricional mais comum no mundo. É quase sempre uma condição adquirida, resultado de uma dieta que não contenha ferro biodisponível suficiente. Nos países em desenvolvimento, os alimentos habitualmente consumidos contêm, normalmente, grandes quantidades de inibidores da absorção de ferro, em especial fitatos e polifenóis (WHO, 2008).

Costa et al. (2009), estudando grávidas que realizavam pré-natal no Município de Manaus, AM, observaram que mais de um quarto do grupo estudado eram portadoras de anemia pelo índice de hemoglobina e praticamente o mesmo número apresentavam concentração de ferro sérico baixa. Segundo o mesmo autor, na gestação ocorre redução nos níveis de hemoglobina e aumento das necessidades de ferro, embora exista um aumento correlato da absorção do ferro.

Além da deficiência de ferro, a literatura descreve mais dois distúrbios no equilíbrio deste micronutriente: a sobrecarga de ferro e a anemia da inflamação (ou anemia das doenças crônicas) (BADHAM et al., 2007).

Comparando a ingestão recomendada de ferro (ANVISA, 2005) com a quantidade de ferro presente na farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia, aproximadamente 67,44g de farinha de casco seriam suficientes para suprir a necessidade diária deste mineral em indivíduo adulto (14,0 mg) (SCARLATO e GASPARELLO, 2007).

O excesso de ferro é muito menos comum do que a deficiência de ferro. O excesso de ferro primário ou hemocromatose é quase sempre resultado de uma anormalidade hereditária na regulação do transporte de ferro que afeta a hepcidina ou a ferroportina (BADHAM et al., 2007).

A forma comum de sobrecarga de ferro em populações caucasianas, a Hemocromatose HFE, resulta de uma deficiência relativa de hepcidina. O excesso de ferro que ocorre na talassemia e anemia sideroblástica é definida como secundária, já que o tratamento destas condições requerem transfusões repetidas de sangue e eritropoiese acelerada, reduzindo a expressão da hepcidina, pequeno peptídeo que regula negativamente o metabolismo sistêmico do ferro (BADHAM et al., 2007; GROTTI, 2008).

A anemia da inflamação é caracterizada por redução na liberação do ferro de reserva e da absorção, baixa concentração plasmática de ferro e de transferrina, restrição do fornecimento de ferro disponível para a produção de hemácias e anemia leve ou moderada. O aumento da expressão da hepcidina é responsável por quase todas essas características, consideradas como uma resposta do hospedeiro para fazer com que o ferro seja menos disponível para os agentes patogênicos (BADHAM et al., 2007).

O corpo humano apresenta processos estritamente regulados para absorção, transporte e armazenamento de ferro, assegurando quantidades adequadas do mineral para o adequado crescimento e atividade celular (BADHAM et al., 2007).

A expressão da hepcidina é regulamentada pelo estado do ferro (a sobrecarga de ferro aumenta sua expressão, enquanto a anemia e hipoxemia reduzem-na) e o estado inflamatório, em que a IL-6 tem um papel fundamental (NEMETH et al., 2004a).

A ferroportina é o receptor da hepcidina e a interação hepcidina-ferroportina controla os níveis de ferro nos enterócitos, hepatócitos e macrófagos. O complexo hepcidina-ferroportina é internalizado nos domínios da membrana basolateral dos macrófagos e a ferroportina é degradada, bloqueando a liberação do ferro dessas células (NEMETH et al., 2004b). Como consequência, ocorre o acúmulo de ferro nos hepatócitos e macrófagos. A redução da passagem do ferro para o plasma resulta na baixa saturação da transferrina e menos ferro é liberado para o desenvolvimento do eritroblasto (DE DOMENICO et al., 2007).

A maior parte do ferro que é transferido da reserva dinâmica para a transferrina circulante provém do ferro recuperado do processamento da hemoglobina em glóbulos vermelhos que atingiram o prazo de vida de quatro meses. O Ferro absorvido também participa desse processo, porém em apenas 1 a 1,5 mg ao dia (BADHAM et al., 2007).

A liberação do ferro na circulação está intimamente ligada às necessidades requeridas, podendo ser reduzida ou aumentada em determinadas situações. No entanto, a saturação da transferrina com ferro (a proporção da proteína que transporta o ferro em qualquer momento) permanece em aproximadamente 35% nos indivíduos normais com reservas de ferro adequadas (BADHAM et al., 2007).

A descoberta da hepcidina, pequeno peptídeo catiônico rico em cisteína, que regula negativamente a liberação das reservas e a absorção intestinal do ferro, produzida no fígado, circulante no plasma e excretada na urina, revolucionou a compreensão da regulação da absorção e do armazenamento de ferro (BADHAM et al., 2007; GROTO, 2008).

A ação da hepcidina no processo de absorção intestinal do ferro foi recentemente demonstrada em estudos com culturas de células. A inibição da captação do ferro pelos enterócitos se dá pela inibição da transcrição da DMT-1 induzida pela hepcidina, enquanto os níveis de mRNA e da própria ferroportina nessas células não se alteram. O efeito da hepcidina é célula-dependente, com ações diferenciadas nos macrófagos e nos enterócitos (MENA et al., 2007).

Trabalhos experimentais mostraram que a infusão de IL-6 estimula rapidamente a excreção urinária de hepcidina e induz à hipoferremia (GROTO, 2008).

Em situações de anemia e hipóxia haveria uma inibição da expressão da hepcidina, visando uma maior absorção de ferro pelos enterócitos e maior exportação de ferro do sistema reticuloendotelial e enterócitos, aumentando a disponibilidade de ferro para a eritropoiese (GROTO, 2008).

As perdas diárias de ferro correspondentes a 1 até 2mg não se devem à excreção da substância em si, mas às perdas de células intactas que contêm ferro. Essa eliminação ocorre, sobretudo, através da bile, fezes, sangue menstrual, descamação da pele e urina (MARTINS e HIROSE, 2010).

A anemia é definida como a redução nos níveis de hemoglobina do sangue (GUALANDRO, 2000). É um problema global de saúde pública, afetando populações de países desenvolvidos e em desenvolvimento, trazendo graves consequências para a saúde humana. Sua principal causa é a deficiência de ferro, porém, raramente, essa se apresenta isoladamente, sendo frequente sua coexistência com outras causas como malária, infecções parasitárias, deficiências nutricionais e hemoglobinopatias (WHO, 2008).

As anemias causadas por deficiência de ferro são classificadas como hipocrômicas e microcíticas (GUALANDRO, 2000).

A anemia provocada por deficiência de ferro dietético, também chamada de anemia ferropriva, é a doença de origem nutricional mais prevalente no mundo, afetando

principalmente lactentes, crianças em idade pré-escolar, adolescentes e grávidas (BARBOSA e CARDOSO, 2003; COSTA et al., 2009).

Segundo Gualandro (2000), as anemias podem ser classificadas fisiopatologicamente e morfolologicamente.

Segundo o autor anteriormente citado, fisiopatologicamente, as anemias podem ser classificadas em três grupos, de acordo com o mecanismo pela qual ocorrem, sendo estes a falta de produção, o excesso de destruição e a ocasionada por perdas.

Morfolologicamente, a anemia é diagnosticada através dos índices hematimétricos, classificando-se como microcíticas hipocrômicas, macrocíticas e normocíticas normocrômicas, de acordo com o volume corpuscular e quantidade de hemoglobina presente (GUALANDRO, 2000).

A anemia fisiopatologicamente causada por falta de produção caracteriza-se por presença de baixo número de reticulócitos. Essa anemia pode ter origem carencial, pela falta de fatores essenciais à produção de glóbulos vermelhos, como ferro, vitamina B12 (cobalamina) e o ácido fólico. Pode ter origem também pela falta de fatores estimulantes da eritropoese (falta de eritropoetina, fator de crescimento da série vermelha na medula óssea, secretado pelos rins), que ocorre na insuficiência renal; por substituição do tecido hematopoético por fibrose ou por doenças de depósito; por infiltração na medula óssea de tumores hematológicos ou metastásicos; por aplasia ou hipoplasia medular idiopática ou induzida por agentes químicos, físicos, toxinas ou medicamentos (GUALANDRO, 2000).

As anemias fisiopatologicamente causadas por excesso de destruição são as anemias hemolíticas, que podem ser geradas por defeitos intrínsecos ou extrínsecos dos eritrócitos. Os defeitos intrínsecos são geralmente constitucionais, anormalidades na constituição do glóbulo vermelho, como defeitos das proteínas da membrana eritrocitária, das enzimas e de síntese de hemoglobina, além dos defeitos estruturais da molécula da hemoglobina, como a drepanocitose. Os agentes causadores de defeitos extrínsecos aos eritrócitos podem ser toxinas, parasitas, agentes físicos, determinados medicamentos e anticorpos dirigidos contra os eritrócitos, além de traumas mecânicos (GUALANDRO, 2000).

A anemia fisiopatologicamente causada por perda é decorrente de perdas agudas ou crônicas de sangue, sendo as perdas agudas provocadas por importantes sangramentos, constituindo geralmente uma situação de emergência, enquanto as perdas crônicas levam à redução dos estoques de ferro e à falta de produção de eritrócitos (GUALANDRO, 2000).

Crianças prematuras apresentaram maior susceptibilidade ao desenvolvimento de anemia devido ao baixo depósito de ferro ao nascimento e maior exigência nutricional do mineral. Crianças não amamentadas com leite materno também eram mais susceptíveis à anemia, exceto quando alimentadas com fórmulas lácteas fortificadas (STEKEL et al., 1986). Na infância, a causa mais freqüente da carência de ferro é nutricional, graças à predominância habitual de dieta láctea (OLIVARES et al., 1999).

Os principais fatores determinantes associados ao aparecimento da anemia são as precárias condições sócio-econômicas e ambientais; infecções; baixo peso ao nascer; desmame precoce e ingestão deficiente de alimentos ricos em ferro. Trata-se de uma doença de origem multicausal, determinada por condições socioeconômicas, de assistência à saúde da criança, estado nutricional, morbidade, consumo alimentar e fatores biológicos (MONTEIRO et al., 2000).

Segundo Escoda (2000), a etiopatogenia da anemia ferropriva ou nutricional é o déficit prolongado do consumo de ferro na alimentação, podendo também estar relacionada à deficiências protéica, calórica, de folatos, de vitaminas C e B₁₂, além de excesso de fitatos e oxalatos na alimentação, assim como de variações individuais e ecológicas.

O baixo consumo de alimentos ricos em ferro biodisponível, como carnes, principalmente as vermelhas, e o elevado consumo de alimentos ricos em inibidores de ferro

não-heme, como fibras dietéticas e ligninas são os principais causadores da deficiência deste mineral (KNUDSEN et al., 1996; TAPIERO et al., 2001).

A escolaridade dos pais pode ser considerada um fator socioeconômico importante na determinação da anemia, tendo em vista que a maior escolaridade repercute numa maior chance de emprego e, conseqüentemente, de renda, que, por sua vez, condiciona um melhor acesso aos alimentos. A escolaridade materna, especificamente, também é importante para a saúde da criança, uma vez que o maior nível de conhecimento formal parece influenciar nas práticas relacionadas aos cuidados com a criança (OSÓRIO, 2002).

O aumento da necessidade do consumo deste mineral não é suprido pela dieta habitual, por conter quantidade insuficiente de ferro, além de baixa biodisponibilidade do mineral, caracterizada por baixa quantidade de ferro hemínico e presença de inibidores da absorção (OLIVARES et al., 1999). Portanto, o aproveitamento do ferro dietético está qualitativamente relacionado ao consumo total da dieta, uma vez que são necessários alimentos específicos para a sua melhor utilização pelo organismo (OSÓRIO, 2002).

Além das causas nutricionais, crianças maiores podem adquirir anemia por síndrome de má absorção e perdas sanguíneas por infestações de parasitas hematófagos (OLIVARES e WALTER, 2003).

As proteínas são essenciais à produção adequada de hemácias e de hemoglobina. Dieta com deficiência protéica promove redução na massa celular e necessidade de oxigênio, pois permite que poucas hemácias sejam necessárias à oxigenação tecidual. Como o volume sanguíneo permanece o mesmo, o número reduzido de hemácias com baixos níveis de hemoglobina pode ser confundido com a anemia por deficiência de ferro (anemia hipocrômica normocítica). Na desnutrição protéico-energética aguda, a perda de massa de tecido ativo pode ser maior que a redução no número de hemácias, gerando policitemia. O organismo responde à produção de hemácias, que não é um reflexo da deficiência protéica e de aminoácidos, mas sim de um suprimento excessivo de hemácias. O ferro liberado na destruição de hemácias normais não é reutilizado na produção de eritrócitos, mas armazenado, de modo que as reservas de ferro são frequentemente adequadas. A anemia por deficiência de ferro pode reaparecer com a reabilitação, quando a massa eritrocitária se expande rapidamente (KRAUSE et al., 2005).

Doenças que afetam o duodeno, especialmente infecção por *Helicobacter pylori* e Doença Celíaca podem contribuir para o desenvolvimento da anemia (BADHAM et al., 2007).

Os principais fatores de risco para a anemia por deficiência de ferro incluem baixa ingestão, má absorção e aumento das necessidades fisiológicas do mineral. Presença de grandes quantidades de fitatos e compostos fenólicos na dieta e períodos de gestação e crescimento de crianças e jovens são fatores que favorecem a má absorção e o aumento da necessidade fisiológica pelo mineral, respectivamente (WHO, 2008).

Perdas sanguíneas acentuadas, decorrentes de menstruação e infecções parasitárias por ancilostomose, ascaridíase e esquistossomose, além de infecções agudas e crônicas, como malária, câncer, tuberculose e HIV, provocam hemoglobinemia (WHO, 2008).

Deficiência de micronutrientes como cobre, folato e riboflavina e das vitaminas A e B₁₂ (Cobalamina ou Cianocobalamina) também podem aumentar o risco de anemia (WHO, 2008).

A anemia pode causar diminuição da atividade motora espontânea; alterações de imunidade celular e de capacidade bactericida dos neutrófilos; alterações funcionais e histológicas do tubo digestivo; falha na mobilização da vitamina A hepática; maior risco de parto prematuro ou de baixo peso ao nascimento; menor transferência de ferro ao feto; diminuição da velocidade de crescimento; alterações de desenvolvimento mental e motor;

velocidade de condução mais lenta dos sistemas sensorial, auditivo e visual e redução do tônus vagal (OLIVARES e WALTER, 2003).

Na infância e adolescência, a anemia provoca repercussões clínicas e sociais em longo prazo, especialmente nas áreas neurocognitivas, comportamentais e psicomotoras, além de déficit nas funções imunológicas e redução do desempenho no trabalho (TAPIERO et al., 2001; BARBOSA e CARDOSO, 2003).

Quando severa, a anemia ferropriva está associada ao aumento do risco de mortalidade materna e perinatal, além de redução do desenvolvimento humano e da produtividade, causando consequências econômicas nos países onde a incidência é elevada (ANDRADE, 2004).

Segundo o Ministério da saúde as anemias nutricionais constituem um grave problema de saúde pública em todo o mundo, estando associadas ao retardo no desenvolvimento neuropsicomotor, à diminuição da capacidade intelectual e ao comprometimento da imunidade celular (MS, 2007).

2.6 Diagnóstico de anemia

Testes bioquímicos como as dosagens da protoporfirina eritrocitária, do índice de saturação de transferrina (IST) e da ferritina e do ferro séricos são essenciais para o diagnóstico da anemia, devendo ser preferidos à microcitose e à hipocromia, por detectarem mais precocemente as mudanças no estado do ferro corporal (De MAEYER et al., 1989). Porém, Lee (1998) cita que os resultados destes testes podem sofrer alterações dependentes dos horários de coleta. Entretanto, Papa et al. (2003) afirmaram que os testes hematológicos como hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular apresentaram vantagens como maior rapidez, acessibilidade, disponibilidade na maioria dos laboratórios e menor susceptibilidade à variação circadiana.

O valor do hematócrito ou volume globular (packed cell volume) reflete a massa total de células sanguíneas na unidade de volume. Sua determinação é fundamental no estudo das anemias e policitemias, já que depende do volume ocupado pelas hemácias, células sanguíneas predominantes sobre os demais elementos figurados. O valor do hematócrito apresenta-se abaixo da normalidade em todas as anemias, sendo sua elevação decorrente do aumento do número de hemácias ou hemoconcentração, como ocorre nas desidratações (MILLER e GONÇALVES, 1999).

Os níveis normais de hemoglobina variam individualmente com a massa muscular ou tecido metabolicamente ativo (GUALANDRO, 2000).

Quando se diagnostica a anemia, deve-se ter em mente os mecanismos que podem causá-la, além de considerar as características morfológicas dos eritrócitos, devendo-se considerar também a anamnese, o exame físico e os dados do hemograma com contagem de reticulócitos (GUALANDRO, 2000).

A análise dos dados fornecidos pelo hemograma, associado a contagem de reticulócitos e observação do esfregaço sanguíneo, orienta o grupo pertencente à anemia, facilitando a investigação diagnóstica (GUALANDRO, 2000).

O diagnóstico da anemia em inúmeros serviços de atendimento pré-natal se restringe à realização do hemograma, através da avaliação da Hb e do Ht, análises que avaliam os estoques de ferro do organismo, porém insuficientes quando dosados isoladamente para a diagnose do estado de reserva de ferro, sendo a Hb o último parâmetro que se altera quando há deficiência de ferro (PAPA et al., 2003).

Em regiões onde existem recursos adequados de diagnóstico, a hemoglobina deveria ser interpretada sempre que possível em conjunto com outros critérios para se fornecer um diagnóstico mais seguro, uma vez que a utilização de mais de um marcador aumenta consideravelmente a especificidade do diagnóstico. Entretanto, em regiões que apresentam

recursos de saúde precários e onde a anemia é muito prevalente, a hemoglobina e o hematócrito podem ser utilizados como testes de triagem ou até mesmo como diagnóstico final, visto que a concentração de hemoglobina reflete uma situação de deficiência nutricional já estabelecida (SOUZA e BATISTA FILHO, 2003).

Quando o aporte de ferro no organismo é insuficiente para atender suas exigências, surge uma série de alterações hematológicas tais como: diminuição da ferritina sérica (FS), aumento dos receptores de transferrina séricos (RTf) e aumento da protoporfirina livre eritrocitária (PLE), com a posterior diminuição da saturação de transferrina. Com a persistência do balanço negativo em ferro, ocorre uma etapa mais severa, caracterizada por uma anemia microcítica hipocrômica (OLIVARES e WALTER, 2003).

São dados laboratoriais para o diagnóstico das anemias, o valor do hematócrito (ou volume globular), as dosagens de hemoglobina, ferro sérico e ferritina (KRAUSE et al., 2005).

Para medir o estado nutricional de ferro, existem três principais indicadores: Hemoglobina, Ferritina e Receptor Solúvel de Transferrina. A medida da hemoglobina é essencial para o diagnóstico de anemia nutricional e é um dos mais comuns, mais simples de ser realizado e de menor custo (BADHAM et al., 2007).

Infelizmente, a medida da hemoglobina não é muito sensível ou específica para determinar a deficiência de ferro, pois é afetada somente na terceira fase da anemia. Portanto, para determinar se a deficiência de ferro provoca anemia, geralmente é necessário incluir outros indicadores (BADHAM et al., 2007).

A hemoglobina, pigmento respiratório do sangue contido nas hemácias, apresenta a importante função de transporte de oxigênio dos pulmões para os tecidos e do dióxido de carbono recolhido ao nível dos capilares teciduais para os pulmões. A redução do teor de hemoglobina nas hemácias caracteriza o estado de anemia (MILLER e GONÇALVES, 1999; AIRES et al., 2008).

A concentração de hemoglobina é o indicador mais confiável para o diagnóstico de anemia, a nível populacional, em oposição aos sinais clínicos, que são indicadores subjetivos. Porém, o diagnóstico etiológico deve ser realizado de maneira cautelosa, pois populações com alta prevalência de hemoglobinopatias hereditárias tendem a apresentar níveis de concentração média de hemoglobina inferior comparados às demais populações, tornando a identificação das causas de anemia possível quando se considera as variações de acordo com a população (WHO, 2008).

A hemodiluição característica da gravidez é um fator que dificulta o diagnóstico correto da anemia ou deficiência de ferro, pois reduz os níveis de hemoglobina (COSTA et al., 2009).

O limite para se diferenciar estados anêmicos dos estados normais é geralmente considerado como o valor médio da hemoglobina ou do hematócrito para a idade e sexo, menos dois desvios-padrão. Esta definição resulta na detecção de 2,5% da população normal como anêmicos (MARTINS e HIROSE, 2010).

A maioria dos estudos populacionais baseia-se na concentração de hemoglobina e no hematócrito, identificando, desta forma, apenas os portadores de anemia hipocrômica e microcítica, incluindo os portadores de talassemia menor, intoxicação por chumbo, portanto não ferropênicos, e excluindo os ainda não anêmicos, mas portadores de ferropenia (MARTINS e HIROSE, 2010).

A associação entre baixo consumo de ferro biodisponível e anemia reflete o consumo de refeições com composição imprópria para a manutenção do adequado estado nutricional do ferro, sendo a combinação dos alimentos mais importante do que o consumo de ferro total, devido à capacidade de alguns alimentos aumentarem a absorção do ferro. Por questões sócio-econômicas torna-se mais complexo elevar, nas principais refeições, o consumo de alimentos

ricos em ferro heme, mais caros, como a carne. Os profissionais de saúde deveriam estimular a população ao consumo do ferro não-heme, orientando-a quanto à promoção do aumento da sua biodisponibilidade (LACERDA e CUNHA, 2001).

Durante os seis primeiros meses de vida, crianças alimentadas exclusivamente com leite materno suprem suas necessidades de ferro a partir de suas reservas e graças à elevada biodisponibilidade do ferro presente nesse leite. A partir dessa idade, o leite materno já não é suficiente, sendo necessária a introdução de alimentos complementares ricos em ferro (MS, 2002).

A suplementação com ferro medicinal é recomendada na gravidez e quando não há consumo de alimentos fortificados com ferro, porém, a efetividade desta medida é limitada pela falta de estímulo ao consumo deste tipo de medicamento por indivíduos sãos, além das reações adversas que podem ocorrer quando são utilizados em doses elevadas. As reações adversas diminuem quando são empregados compostos de ferro protegidos, de administração semanal e de liberação gradual de ferro iônico a nível intestinal (OLIVARES e WALTER, 2003).

A elevada incidência da anemia e suas consequências irreversíveis determinam a necessidade do estabelecimento de medidas nutricionais com objetivo de combater e controlar a deficiência nutricional de ferro (ANDRADE, 2004).

Para controlar a deficiência de ferro, a fortificação de alimentos é uma medida intervencionista eficaz pela possibilidade de utilização por toda a população ou grupos populacionais específicos, sem a necessidade de cooperação do indivíduo. O alimento a ser fortificado deverá ter consumo habitual e homogêneo na dieta (ANDRADE, 2004).

A suplementação medicamentosa associada à medidas educativas, apesar de eficiente sob o ponto de vista hematológico, apresenta problemas como continuidade do tratamento e efeitos colaterais da ingestão via oral (SZARFARC et al., 1995 apud ANDRADE, 2004, p. 53).

O investimento na formação de profissionais que atuam na rede de atenção básica à saúde, melhorando a assistência pré-natal, prevenindo a desnutrição materna e o baixo peso ao nascer, bem como a adoção de políticas públicas de aumento da oferta de emprego e renda, e escolarização devem ser implementados. Essas medidas contribuiriam significativamente para a redução da prevalência de anemia em crianças, especialmente naquelas residentes em áreas rurais (OLIVEIRA et al., 2006).

O incentivo ao aleitamento materno exclusivo até os seis meses de idade e o seu prolongamento pelo menos até os dois anos de idade, acrescentando-se alimentação complementar adequada rica em ferro e facilitadores da sua absorção a partir dos seis meses de vida, devem ser considerados como ação preventiva da anemia. O consumo de alimentos regionais que fazem parte do hábito alimentar da família, a combinação de alimentos ricos em vitamina C com aqueles que são fontes de ferro, evitando o consumo de leite junto a estes últimos também são medidas preventivas para ocorrência de anemia ferropriva (OLIVEIRA et al., 2006).

A biofortificação de alimentos básicos da dieta brasileira com ferro pode contribuir no combate à anemia, melhorando a saúde da população (CARVALHO, 2008). A implementação de medidas efetivas de intervenção e preventivas de educação nutricional, com a difusão de conceitos referentes a uma alimentação saudável, são importantes ações para minimizar e/ou controlar a anemia ferropriva (NUNES et al., 2008).

O estímulo ao consumo de dietas diversificadas e de alimentos enriquecidos com ferro são estratégias sustentáveis para a prevenção da anemia nas populações, em geral. Dada a natureza multifatorial da anemia, seu combate requer a adoção de medidas integradas. Quando a deficiência de ferro é a causa mais frequente, usualmente se fornece ferro adicional para ingestão, através de suplementos de ferro para grupos vulneráveis, em especial às mulheres grávidas e crianças pequenas (WHO, 2008).

Uchimura (1994) detectou que 32% das crianças em idade escolar na cidade de Maringá (PR-Brasil) apresentavam anemia, associada ao reduzido consumo de feijão e carnes e ausência de frutas nas refeições.

Estudos realizados no estado de São Paulo registraram 50% das crianças com idades entre 12 e 23 meses e 29% das menores de um ano com anemia (MONTEIRO et al., 2000).

Lacerda e Cunha (2001) observaram maior prevalência de anemia em crianças que consumiram carne e hortaliças folhosas inadequadamente, além de vitamina C dissociada das refeições.

Batista Filho e Rissin (2003), abordando a transição da situação nutricional do Brasil, observaram que o declínio da desnutrição não foi acompanhado por uma evolução favorável para as anemias, que não existiram diferenças marcantes na ocorrência das anemias entre as diversas regiões brasileiras e que o problema afetava indivíduos de diferentes classes sociais.

Segundo estudo realizado por Oliveira e colaboradores (2006), no estado de Pernambuco, a maior prevalência de anemia e menor concentração de hemoglobina ocorreram entre as crianças cujas mães apresentam baixa escolaridade e baixa renda.

Mais de metade da população mundial de crianças em idade pré-escolar e mulheres grávidas vivem em países onde a anemia é um grave problema de saúde pública (BADHAM et al., 2007).

O número de crianças em idade pré-escolar afetadas pela anemia, em milhões, e o percentual de prevalência na África, Ásia, Europa, América Latina e Caribe, América do Norte e Oceania é de 93,2 e 64,6%; 170,0 e 47,7%; 6,1 e 16,7%; 22,3 e 39,5%; 0,8 e 3,4%; 0,7 e 28,0%, respectivamente. No mundo, a anemia atinge 293,1 milhões de crianças entre 0,00 e 5,0 anos, com uma prevalência de 47,4%. O número de mulheres gestantes afetadas pela anemia, em milhões, e o percentual de prevalência nessas regiões são de 19,3 e 55,8%; 31,7 e 41,6%; 1,4 e 18,7%; 3,6 e 31,1%; 0,3 e 6,1 %; 0,2 e 30,4%, respectivamente. 56,4 milhões de mulheres gestantes são afetadas pela anemia no mundo, atingindo 41,8% de prevalência (WHO, 2008; BADHAM et al., 2007).

Mulheres não gestantes com idades entre 15 e 50 anos apresentam prevalência de anemia de 44,4%; 33,0%; 15,2%; 23,5%; 7,6% e 20,2%, respectivamente, na África, Ásia, Europa, América Latina e Caribe, América do Norte e Oceania. A prevalência mundial de anemia nesse grupo populacional é de 30,2%, correspondendo a 468,4 milhões de mulheres afetadas. Separando por regiões, a anemia atinge 82,9; 318,3; 26,6; 33,0; 6,0 e 1,5 milhões de mulheres não gestantes nas respectivas regiões acima citadas (BADHAM et al., 2007; WHO, 2008).

Duzentos milhões de crianças menores de cinco anos que vivem principalmente na África subsaariana (continente africano ao sul do Deserto do Saara, correspondente aos países que não fazem parte do Norte de África) e Ásia Meridional, não alcançam seu potencial cognitivo motor, social e emocional devido às carências de micronutrientes e de estímulo ambiental adequado. Na Ásia, 58% dos pré-escolares, 56,1% das mulheres grávidas e 68% das mulheres não grávidas apresentam anemia. África e Ásia são as regiões mais afetadas pela anemia, sendo também as mais pobres, permitindo relacionar a anemia ao subdesenvolvimento (BADHAM et al., 2007).

Em maio de 2002, a Assembléia Geral das Nações enfatizou que o controle da anemia nutricional deveria ser uma das metas globais de desenvolvimento mundial a ser atingida nos primeiros anos do novo milênio, porém, lamentavelmente, houve pouco progresso na luta mundial contra a anemia. O conhecimento sobre o metabolismo do ferro, obtido através de diversas pesquisas proporcionou base científica sólida para implementação de estratégias para o combate efetivo da carência nutricional deste micronutriente. A anemia continua sendo um problema comum em muitos países do mundo, devendo ser sua erradicação, através de intervenções eficazes, uma prioridade a ser considerada (BADHAM et al., 2007).

No mundo, 818 milhões de mulheres (gestantes e não gestantes) e crianças sofrem de anemia, sendo que aproximadamente 520 milhões delas vivem na Ásia. Mundialmente, a anemia atinge 1,62 bilhões de pessoas, o que corresponde a 24,8% da população (BADHAM et al., 2007; WHO, 2008).

Embora a deficiência de ferro seja considerada a principal causa da anemia, existem poucos dados sobre a prevalência desta deficiência, provavelmente devido à dificuldade de diagnóstico, já que os indicadores do status de ferro disponível são insuficientes isoladamente, devendo ser combinados com outras informações para a obtenção de dados confiáveis, além da ausência de um consenso real sobre a melhor combinação de indicadores a ser utilizado. A busca por dados sobre o status do ferro e as causas de anemia em idosos e crianças em idade escolar, populações bastante vulneráveis à doença, aumentaria a qualidade dos bancos de dados, facilitando as pesquisas (WHO, 2008).

A WHO (2008) classifica a anemia como um problema de saúde pública em uma determinada população de acordo com a prevalência de valores de hemoglobina inferiores à normalidade encontrados na mesma. Em populações cujos valores obtidos forem inferiores ou iguais a 4,9%, a anemia não é considerada problema de saúde pública, enquanto valores entre 5,0 e 19,0%, 20,0 a 39,9 e superiores à 40,0% são classificados como problema de saúde pública baixo, moderado e elevado, respectivamente.

No Brasil, a anemia é considerada um problema de saúde pública de grau elevado em crianças em idade pré-escolar e moderado em mulheres gestantes e em idade reprodutiva. A prevalência estimada em crianças em idade pré-escolar, mulheres gestantes e não gestantes entre 15 e 50 anos são de 54,9%, 29,1% e 23,1%, respectivamente. O número de indivíduos com anemia (em milhões), no Brasil, nas populações supracitadas é de 9923, 1077 e 11213, respectivamente. Nesse estudo, não constam dados sobre crianças em idade escolar, homens e idosos, graças ao insuficiente número de dados coletados para geração de estimativas regionais (WHO, 2008).

Estimativa regional realizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), com crianças em idade pré-escolar, mulheres grávidas e não grávidas, indica que a maior proporção e o maior número de indivíduos afetados estão na África (57,55%) e no Sudeste da Ásia (315 milhões de pessoas), respectivamente (WHO, 2008).

Segundo a WHO (2008), quase não há países onde a anemia não é um problema de saúde pública nos três grupos populacionais estudados. Para as mulheres grávidas, mais de 80% dos países apresentam a anemia como problema de saúde pública de gravidade moderada à intensa. A maior prevalência de anemia ocorre em crianças em idade pré-escolar (47,4%) e a menor, em homens (12,7%). Entretanto, o grupo populacional de mulheres não gestantes é o que apresenta o maior número de pessoas afetadas.

Avaliando o estado nutricional de atletas adolescentes participantes do Programa de Iniciação Esportiva de Manaus-AM, Nunes et al. (2008) observaram alta prevalência de anemia ferropriva (41,7%), com predominância na classe socioeconômica mais baixa, denotando desequilíbrio nutricional no grupo estudado, fator que pode predispor o aparecimento e desenvolvimento de disfunções orgânicas, interferindo negativamente no crescimento físico e no rendimento esportivo dos atletas adolescentes analisados.

Os grupos mais vulneráveis à anemia ferropriva são compostos por crianças entre 6 e 18 meses de vida, gestantes e mulheres no pós-parto, cujos estudos apontaram prevalências de 50% em crianças e 40% em gestantes, trazendo sérias conseqüências para o pleno desenvolvimento físico, mental e social desde a infância até a fase adulta (PROGRAMA FOME ZERO, 2008).

2.7 Situação nutricional da população brasileira

Uma alimentação equilibrada assume importância fundamental em todas as fases do desenvolvimento, visto que contribui para a expressão máxima de marcadores genéticos de crescimento e imunocompetência (SETIAN et al., 1979).

O consumo energético e de nutrientes deficiente pode contribuir para o retardo no crescimento e posterior atraso da puberdade. Existem indícios de atrasos decorrentes da desnutrição crônica na maturação esquelética, na menarca e na fusão epifisária dos ossos longos, sendo a ampliação do período de crescimento uma adaptação às adversas circunstâncias nutricionais (ALVELAR et al., 1994).

A dieta apresenta um importante papel no crescimento de adolescentes, pela possibilidade de interferir na manutenção e no aumento da velocidade de crescimento. Porém, as condições de vida, moradia e exposição a fatores de estresse ambiental também podem influenciar este processo (ALBUQUERQUE e MONTEIRO, 2002).

Pesquisa realizada em escolas públicas municipais de Maceió, em crianças com idades entre nove e dez anos, demonstrou que a ingestão alimentar apresentou deficiência em relação ao consumo de energia e micronutrientes, principalmente vitaminas e minerais como cálcio e fósforo, o que pode contribuir negativamente, se persistente, no crescimento linear durante a fase de adolescência (ALBUQUERQUE e MONTEIRO, 2002). Crianças e adolescentes em diferentes regiões brasileiras não consomem quantidade suficiente de cálcio para um desenvolvimento desejável (LERNER et al., 2000; ALBUQUERQUE e MONTEIRO, 2002; SILVA et al., 2004).

Em revisão realizada por Alencar e colaboradores (2008), quantificando a ocorrência da desnutrição infantil em 4.030 crianças em idade pré-escolar dos diferentes ecossistemas do Amazonas na última década, evidenciou-se como principal manifestação da desnutrição, no universo estudado, o déficit de crescimento, acometendo 17% das crianças da área urbana e 23% da área rural. Neste estudo, o ecossistema do Rio Negro destacou-se como o de maior precariedade nutricional, com 35% das crianças apresentando inadequação no indicador Estatura/Idade (E/I), seguido das crianças das calhas dos rios Amazonas e Purus (21%) e Madeira (16%); demonstrando a submissão destas crianças a processos carenciais de longa duração. Os resultados obtidos evidenciaram a heterogeneidade da Amazônia, fator que deve ser considerado na execução de programas de segurança alimentar e/ou implantação de políticas de desenvolvimento sustentável na região. As crianças em idade pré-escolar residentes no contexto rural amazônico vivenciam uma situação nutricional mais precária comparada às crianças da área urbana de Manaus. A forma mais grave da desnutrição acomete mais intensamente os segmentos mais jovens da população infantil de Manaus, denunciando o debilitado estado nutricional no qual, historicamente, está submetida à referida população (ALENCAR et al., 2008).

Embora tenha havido uma melhoria sensível na subnutrição no Brasil, as deficiências em calorias e proteínas e especialmente a anemia ferropriva, continuam sendo graves problemas em nosso país. A falta de micronutrientes, em especial de iodo, ferro, zinco e vitamina A, é um dos mais sérios problemas de nutrição e de saúde do Brasil e do mundo. O déficit de ingestão de micronutrientes afeta o desenvolvimento físico, mental e o processo de aprendizagem das crianças, a capacidade de trabalho dos adultos, a resistência às doenças e a qualidade de vida dos indivíduos, além de estar associada à deficiência de outros nutrientes. A deficiência de zinco vem se mostrando prevalente em crianças de baixo nível sócio-econômico no Brasil, além do déficit em vitamina A, importante vitamina que atua na defesa contra infecções nas crianças e gestantes, reduzindo o risco de lesões oculares (OLIVEIRA, 2009).

Pesquisa realizada nos estados de Sergipe e Maranhão confirma o consumo insuficiente de macro e micronutrientes nas localidades estudadas, além de evidenciar

preliminarmente, no caso de Sergipe, a ocorrência de desnutrição crônica na população infantil analisada (CURADO et al., 2009).

2.8 Fortificação de alimentos como medida protecionista

A legislação brasileira, através da ANVISA, conceitua alimento fortificado, enriquecido ou simplesmente adicionado de nutrientes como: “todo alimento ao qual for adicionado um ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo e ou prevenir ou corrigir deficiência(s) demonstrada(s) em um ou mais nutrientes, na alimentação da população ou em grupos específicos da mesma” (BRASIL, 1998).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a concentração do nutriente a ser adicionado nos “alimentos simplesmente adicionados de nutrientes” (vitaminas e minerais) será de no máximo 7,5% da Ingesta Diária de Referência (IDR), no caso de líquidos, e 15% da IDR no caso de sólidos, em 100mL ou 100g do produto pronto para o consumo. Nos alimentos “enriquecidos ou fortificados” é permitida a adição de vitaminas ou minerais, desde que 100mL ou 100g do produto, pronto para consumo, forneça no mínimo 15% da IDR, no caso de líquidos, e 30% da IDR, no caso de sólidos, podendo ser denominado de alimento rico ou com alto teor do nutriente adicionado. O alimento submetido ao enriquecimento ou fortificação deverá ser de consumo significativo da população estudada e deverá ser oferecido à indivíduos que consumam baixos níveis do nutriente ou apresentem determinada carência nutricional ou vulnerabilidade a ela (BRASIL, 1998).

Alimentos biofortificados são variedades obtidas por meio de melhoramento convencional de plantas da mesma espécie, cruzadas até se obter um produto com teor superior de nutrientes como vitaminas e minerais, comparado aos convencionais, com potencial para suprir as necessidades orgânicas dos mesmos nos indivíduos que os consomem (OLIVEIRA, 2009).

Com a biofortificação de alimentos básicos, será dado um grande passo para a prevenção das principais carências alimentares de micronutrientes no Brasil (OLIVEIRA, 2009). O autor ressalta a importância da realização de estudos que demonstrem a maior biodisponibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos biofortificados, além da realização de análises quantitativas.

Oliveira e Cantolini (2009) citam que crianças em idade pré-escolar que frequentavam creches do estado de São Paulo e consumiram água fortificada localmente com pequena quantidade de ferro (sulfato ferroso), isoladamente ou com ferro mais ácido ascórbico, durante seis meses, mostraram uma redução de 40 a 60% nos quadros de anemia.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) tem desenvolvido pesquisas em biofortificação de alimentos, dentre elas a biofortificação de grãos de feijão com ferro e zinco, associada ao déficit hídrico, permitindo a obtenção de cultivares superiores em ferro (60%) e zinco (50%) em regiões com escassez de chuvas (CALGARO et al., 2009). Além dos feijões, Gonzalez et al. (2009) citam variedades de mandioca com maior conteúdo de betacaroteno.

Estudos realizados em Sergipe e Maranhão, estados que registraram os piores índices nutricionais do país, demonstram a biofortificação de alimentos básicos da dieta brasileira, como a mandioca. O incremento dos teores de ferro e zinco na mandioca poderá contribuir no combate à anemia, aumentando assim a capacidade de trabalho, impedindo o retardo no desenvolvimento e fortalecendo o sistema imunológico dos indivíduos (CARVALHO, 2008).

Considerando que a deficiência de zinco está relacionada à problemas de saúde, e que cereais têm inerentemente concentrações muito baixas de zinco, particularmente quando cultivados em solos deficientes, pretende-se avaliar o potencial do uso de fertilizantes

contendo zinco para aumentar a concentração deste mineral nos grãos de milho, melhorando a produtividade das culturas (DUARTE, 2009).

Considerando as diversas carências nutricionais apresentadas pela população brasileira, a farinha obtida do casco da Tartaruga-da-Amazônia talvez possa ser utilizada como fonte de nutrientes para enriquecimento ou fortificação de alimentos após a comprovação da biodisponibilidade dos nutrientes descritos por Scarlato e Gaspar (2007).

2.9 Impacto ambiental X resíduos de abate

Segundo o “Federal Environmental Assessment Review Office” – Fearo (1979) e Tommasi (1994), impacto ambiental são processos que perturbam e descaracterizam as condições ou processos no ambiente natural, causando modificações nos usos instalados, tradicionais e históricos do solo e nos modos de vida ou na saúde de segmentos da população humana, modificando de forma significativa, opções ambientais.

De acordo com o enfoque funcionalista, impacto é um fator de perturbação que tende a desequilibrar o estado de equilíbrio instável em que se encontra um sistema. De acordo com o enfoque estruturalista, impactos são aqueles fatores, ou condições de um sistema, que levam à mudanças estruturais do mesmo (TOMMASI, 1994).

Segundo Tommasi (1994), impacto ambiental é uma alteração física ou funcional em qualquer dos componentes ambientais. Essa alteração pode ser qualificada e, muitas vezes, quantificada. Pode ser favorável ou desfavorável ao ecossistema ou à sociedade humana.

O modelo de desenvolvimento agrícola, baseado em fontes não renováveis, melhorou a qualidade de vida dos indivíduos, porém, repassou este custo ao ambiente, promovendo a insustentabilidade das atuais relações entre natureza e sociedade. O manejo adequado dos recursos disponíveis satisfaz as necessidades humanas, mantém ou melhora a qualidade ambiental e conserva os recursos naturais (TEDESCO et al., 2008).

A conscientização do problema gerado pelo acúmulo de resíduos oriundos da atividade humana nos meios urbano e rural surgiu em vários países na década de 60 (TEDESCO et al., 2008). A necessidade de adoção de práticas adequadas para o descarte de resíduos agroindustriais iniciou-se, no Brasil, na década de 70. Várias mudanças ocorreram na legislação, exigindo das empresas comprometimento legal com o meio ambiente. As empresas que não se adequarem a esse novo mercado perderão sua credibilidade e seu espaço no mercado altamente competitivo (ROSA e LUNKES, 2005).

As empresas têm procurado alternativas para minimizar a geração de resíduos sem afetar sua eficiência produtiva, através da busca de novas tecnologias para aproveitamento de resíduos, com conseqüente redução de geração dos mesmos no meio ambiente, reduzindo o impacto ambiental. Além disso, investimentos no sistema de reaproveitamento e tratamento de resíduos podem significar retorno a médio e longo prazo, aliados às ferramentas de gestão ambiental (RAMOS, 2007).

O gerenciamento ambiental adequado e a manutenção simultânea do ambiente como patrimônio futuro é um desafio que depende da compreensão da dinâmica da matéria orgânica do solo e do papel que esta desempenha sobre a possibilidade de aproveitamento dos recursos naturais renováveis, através da ciclagem do carbono, dos nutrientes e da energia presentes nos ecossistemas agrícolas (TEDESCO et al., 2008).

Os recursos naturais são fundamentais para a sobrevivência humana, principalmente considerando-se que, apesar de todo o desenvolvimento tecnológico até aqui alcançado, ainda não existem condições que possibilitem a substituição dos elementos fornecidos pela natureza (DAL PIVA et al., 2007).

O ciclo produtivo da sociedade capitalista extrai do meio ambiente os insumos necessários para a produção de alimentos e bens de consumo, emitindo ao meio ambiente

poluente e resíduos em grandes quantidades, gerando degradação ambiental e esgotamento dos recursos naturais (ARAÚJO et al., 2007).

A conscientização dos efeitos nocivos provocados pela liberação de resíduos no meio ambiente está associada à implantação de leis ambientais mais severas e tornou o gerenciamento ambiental uma questão fundamental para frigoríficos, curtumes e outras indústrias. O mercado exige das empresas atuação transparente e concreta na preservação ambiental, materializada através da realização de atividades com menor impacto ambiental (NAGEL et al., 2009).

A indústria alimentícia gera uma grande quantidade de resíduos, em especial o segmento de carnes, gerando crescente busca por novas tecnologias, principalmente para o aproveitamento de resíduos até então considerados desprezíveis e liberados no meio ambiente (RAMOS, 2007).

A busca por melhor eficiência dos processos produtivos do setor alimentício, através da adoção de novas tecnologias e métodos ambientalmente mais limpos, com aumento da eficácia do uso de água e energia, redução na geração de resíduos sólidos e efluentes líquidos, com alta carga poluidora, principalmente orgânica, compostos orgânicos voláteis e reuso de recursos, gerou o processo denominado Produção mais Limpa. Este é definido como uma série de estratégias práticas, condutas econômicas, ambientais e técnicas, que evitam ou reduzem a emissão de poluentes no meio ambiente por meio de ações preventivas, evitando a geração de resíduos ou criando alternativas para que estes sejam reutilizados ou reciclados (OLIVEIRA e CUNHA, 2007).

As operações de abate, para obtenção de carne e derivados, originam vários subprodutos e/ou resíduos, como couros, sangue, ossos, gorduras, aparas de carne, tripas, partes animais condenadas pela inspeção sanitária, vísceras não comestíveis, cascos, chifres e esterco, que devem sofrer processamentos específicos (OLIVEIRA e CUNHA, 2007).

Geralmente, os resíduos agroindustriais são aproveitados como ração animal, considerando sua composição em nutrientes, como P e Ca, ganhando destaque as farinhas de sangue, de carne e de peixe. As farinhas de carne e peixe são produtos protéicos ricos em nitrogênio. Para sua fabricação, são empregadas carnes condenadas para venda e outros resíduos não comercializáveis. No abatedouro de coelhos, utilizam-se pés, orelhas e caudas e nos curtumes, retalhos de carnes removidos das peles cruas antes de serem curtidas (TEDESCO et al., 2008).

Farinhas e resíduos frigoríficos são fontes de nitrogênio, fósforo, cálcio e materiais orgânicos com baixa relação entre Carbono e Nitrogênio, indicados para inoculação de leiras de compostagem e condicionadores do solo, sendo considerados fertilizantes orgânicos de alta qualidade (TEDESCO et al., 2008). Se compostados diretamente podem gerar liberação de nitrogênio na forma amoniacal, o amônio poderá ser oxidado por atividade microbiana, originando nitrato, altamente móvel no ambiente, podendo percorrer o solo, atingindo e contaminando lençóis freáticos e aquíferos superficiais (TEDESCO et al., 2008).

A aplicação de resíduos orgânicos no solo deve ser efetuada com base em critérios técnicos adequados. Farinhas poderão conduzir ao acúmulo de gorduras de origem animal no solo, de difícil degradação. Para evitar esse problema, devem sofrer tratamento prévio, pois produzem águas residuárias que podem elevar a DBO de aquíferos superficiais (TEDESCO et al., 2008).

Uma medida compensatória ao impacto ambiental gerado pela adição de farinhas e resíduos frigoríficos no solo é a redução da perda de nitrogênio amoniacal e nítrico e a realização de compostagem. Para evitar a perda de nitrogênio na forma amoniacal, é necessário adicionar materiais com elevado teor de carbono, como serragens e restos vegetais, elevando a relação entre carbono e nitrogênio (geralmente inferior a 10:1), para valores ideais

para o início da compostagem (entre 25:1 a 35:1). Recomenda-se o uso de resíduo intestinal como matéria inoculante a ser utilizada no preparo do composto (TEDESCO et al., 2008).

A aplicação de ossos moídos ao solo, para aumentar sua fertilidade, é muito antiga. A indústria de botões, pentes, cabos de facas e demais utensílios competiu com a agricultura no consumo de ossos e chifres, sendo que o plástico veio substituir essa matéria-prima, liberando mais ossos e chifres para a agricultura e alimentação animal (TEDESCO et al., 2008).

Os ossos são constituídos, basicamente de fosfato de cálcio distribuído em matriz de natureza orgânica. O fosfato dos ossos é geralmente aceito como sendo fosfato tricálcico e, aparentemente, ocorre sob a forma de uma carbonatoapatita, cujo cálcio é em parte substituído por magnésio e sódio. Outros sugerem a composição à base de uma hidroxiapatita. A matriz orgânica é composta por gorduras e compostos nitrogenados sob a forma de osseína. Os ossos são compostos por uma fração orgânica que totaliza 34% dos ossos e contém 7% de gordura e 27% de osseína, com 5% de nitrogênio, e de uma fração mineral que totaliza 66% dos ossos e contém 53 a 56% de fosfato tricálcico, com 14 a 26% de P_2O_5 ; 1 a 2% de fosfato trimagnésio; 7 a 8% de carbonato de cálcio e 1 a 2% de fluoreto de cálcio (TEDESCO et al., 2008).

Comercialmente, podemos encontrar farinha de ossos crua, desengordurada e degelatinada. É mais lucrativo remover a gordura da farinha antes da moagem, facilitando a decomposição do produto no solo, pois ocorre enriquecimento em Fósforo na farinha e a gordura removida pode ser comercializada para fabricação de sabão e velas ou encaminhada para indústrias químicas para fabricação de glicerina, palmitatos, estearatos e oleatos (TEDESCO et al., 2008).

A farinha obtida com os ossos degelatinados apresenta teor de fósforo superior à farinha de ossos desengordurados, porém apresenta-se inferior em nitrogênio, de acordo com Tedesco e colaboradores (2008).

Os ossos bovinos, além de compor adubos, rações para animais, objetos artísticos e alguns utensílios, podem ser empregados na fabricação de porcelanas, sendo uma ótima alternativa para sua reciclagem no Brasil, graças ao elevado potencial da bovinocultura brasileira e maior valorização deste material (BRAGANÇA e BERGMANN, 2006). Segundo os autores, a porcelana de cinza de ossos apresenta elevada aceitação e valor comerciais, porém, sua produção ainda é pouco difundida e suas pesquisas são restritas, devendo ser ampliadas no Brasil, graças à sua elevada resistência mecânica, qualidade estética e potencial de aplicabilidade industrial.

Farinhas de cascos e chifres são consideradas fertilizantes nitrogenados de origem orgânica (TELHADO, 2007).

As farinhas de cascos e chifres são um subproduto resultante do abate de bovinos, aproveitando-se cascos inteiros, unhas e chifres. O nitrogênio, nesses restos, encontra-se principalmente na forma de queratina. A farinha é preparada torrando-se levemente os cascos e chifres para facilitar a moagem, para que o material adquira a granulometria mais fina possível, já que o valor agrícola dessa farinha está diretamente ligado ao seu grau de pulverização. A farinha de cascos e chifres bovinos contém em torno de 12 a 15% de nitrogênio, variação dependente da idade, raça, dieta do animal, proporção de cascos com unhas, chifres e impurezas no produto final (KIEHL, 1985).

Catani e colaboradores (1956) classificam a farinha de cascos e chifres como fertilizantes contendo nitrogênio na forma protéica.

O adequado destino dos resíduos sólidos, efluentes líquidos e emissões gasosas obtidos nos frigoríficos bovinos é fundamental para a manutenção de um ambiente sustentável (SCHENINI et al., 2006). Os efluentes da linha verde, compostos pelo conteúdo estomacal e resíduos de vísceras brancas, juntamente com a água utilizada para a limpeza dos currais e dos caminhões de transporte dos animais devem passar por um tanque de sedimentação para a retirada da parte sólida, sendo encaminhada ao processo de compostagem.

Efluentes oriundos da linha vermelha (resíduos da graxaria e a água de limpeza das salas de abate) devem ser tratados através dos processos de flotação e filtração, sendo a gordura removida e encaminhada novamente ao setor de graxaria e a parte sólida encaminhada para produção de farinha (SCHENINI et al., 2006).

A redução de emissões de gases de efeito estufa do frigorífico, considerado uma tecnologia limpa operacional divide-se em geração e utilização de biogás como fonte energética e aumento da eficiência do sistema de tratamento do efluente das lagoas de estabilização (SCHENINI et al., 2006).

O primeiro consiste na instalação de um biodigestor, gerido a gordura e esterco, onde através da queima do biogás é gerado vapor que é utilizado para a geração de energia elétrica e como fluido térmico pelo próprio frigorífico, acarretando na redução de custos de utilização de energia elétrica e de lenha para a caldeira (SCHENINI et al., 2006).

Considerando o grande volume de abate de espécies animais comestíveis e o elevado impacto ambiental gerado, a correta destinação dos resíduos é fundamental para a manutenção dos padrões de saúde pública e sustentabilidade da Agricultura, uma vez que a ausência de aproveitamento adequado pode acarretar maiores problemas se forem descartados em aterros sanitários, hoje insuficientes para atender a demanda das cidades. Além de propiciar a proliferação bacteriana e servir como vetores de doenças, estes resíduos podem contaminar os aquíferos e liberar gases como metano e dióxido de carbono na atmosfera (SINCOBESP, 2007).

A agroindústria de beneficiamento dos resíduos do abate é importante dentro da cadeia de carnes e fundamental na reciclagem, já que agrega valor aos resíduos. Além disso, reduz o consumo de recursos naturais e energéticos, economiza espaço em aterros, oferta empregos de mão-de-obra mais carente e previne a poluição das águas, do solo e do ar (SINCOBESP, 2007).

Na indústria de carnes, o sebo bovino, utilizado convencionalmente na fabricação de sabões e combustível para geração de vapor após queima nas caldeiras (SINCOBESP, 2007), tem sido aplicado como matéria prima alternativa na fabricação de biodiesel, gerando menor impacto ambiental em comparação aos dieséis convencionais, sendo essa tecnologia de elevado potencial, sugerindo-se mais estudos para melhoria da qualidade do produto (MALTA et al. 2007).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2009), prevê para o ano de 2016, uma produção mundial de carnes bovina, suína, ovina e de frango de aproximadamente 304,3 milhões de toneladas. Desta produção, estima-se que a produção de carne bovina, suína, e de frango seja de 76, 129 e 98 milhões de toneladas, respectivamente. Em relação ao ano de 2007, esse valor representa um acréscimo na produção de 43,5 milhões de toneladas de carnes, sendo o maior crescimento esperado (46,8%) para a produção de carne de frango.

No abate de aves, resíduos como penas, que apresentam baixa taxa de decomposição no ambiente, podem acumular-se, gerando maus odores e aglomeração de insetos. Para solucionar essa problemática, alguns trabalhos têm sido desenvolvidos visando à produção de enzimas que hidrolisam a queratina das penas, composto que causa a maior recalcitrância dessa molécula no solo (TEDESCO et al., 2008). Além disso, as penas têm sido utilizadas como fonte protéica alternativa em rações, reduzindo custos com matérias primas para sua fabricação, aumentando os lucros dos abatedouros avícolas e evitando a poluição ambiental, que poderia ocorrer caso estes resíduos de aves fossem eliminados inadequadamente no meio ambiente (SCAPIM et al., 2003).

Segundo os autores citados acima, para que as proteínas presentes nas penas sejam metabolizadas pelos animais, podendo ser utilizadas na composição de rações, estas devem ser hidrolisadas.

A queratina das penas de aves vem sendo estudada para compor biofilmes destinados à fabricação de embalagens biodegradáveis, uma tendência atual de mercado (MOORE et al., 2006).

Os ácidos graxos originados do sebo são aplicados nos mais diversos segmentos industriais, como na composição de emulsificante asfáltico e síntese de borracha. A glicerina é intensamente empregada na indústria alimentícia, cosmética e de tintas, na fabricação de chocolates, sorvetes, sabões líquidos, solventes, tintas e resinas; o ácido oléico nas indústrias farmacêuticas e alimentícias, na composição de cápsulas de medicamentos e gomas de mascar e o ácido esteárico na produção de cosméticos e plásticos, através de cremes, sabonetes e tubos de PVC (SINCOBESP, 2007).

Na graxaria, os ossos, gorduras, resíduos do abate de bovinos, aves, suínos e outras espécies animais comestíveis são processados e transformados em farinhas, de fina granulometria, de carnes, ossos, sangue e penas, matérias primas para fabricação de rações para cães, gatos, peixes, aves e suínos (SINCOBESP, 2007; TEDESCO et al., 2008).

Na década de 90, os dejetos de animais e de frigoríficos deixaram de ter ênfase como fertilizantes orgânicos e passaram a ser considerados potenciais fontes poluentes, em especial dos aquíferos superficiais e subterrâneos. Outros resíduos orgânicos, surgidos da necessidade da diversificação da agroindústria, começaram nesta fase a ser direcionados para descarte no solo (TEDESCO et al., 2008).

Com a ascensão dos custos da adubação mineral, os resíduos orgânicos produzidos pela indústria, cidades e zona rural agrícola passaram a ter maior importância como material reciclável e utilizável para melhoria das condições do solo e aumento da fertilidade do mesmo (TEDESCO et al., 2008).

O uso de resíduos urbanos e agroindustriais é uma das formas mundialmente utilizadas para suprir, de forma sistemática, os nutrientes necessários ao desenvolvimento da biomassa arbórea e para melhorar as características do solo em certas culturas agrícolas e florestais (POGGIANI et al., 2000).

A grande maioria dos resíduos orgânicos produzidos pela indústria, cidades e zona rural agrícola pode ser utilizada diretamente pelo agricultor como adubo orgânico, sem necessidade de passar por procedimento para melhoria do produto como fertilizante, como é o caso de esterco e farinhas de origem animal (TEDESCO et al., 2008).

Os resíduos orgânicos recebem esta denominação em função das elevadas quantidades de carbono, hidrogênio e oxigênio armazenadas nas moléculas que as compõem. Podem ser utilizados adequadamente na agronomia, na fabricação de adubos orgânicos na alimentação animal, como substrato para fermentações, como cobertura do solo e matérias-primas agroindustriais (SILVA, 2008; GLÓRIA, 1992 apud SILVA, 2008, p 597).

Embora a poluição do solo não seja perceptível imediatamente, seus efeitos podem ser nocivos, considerando-se que o solo é um compartimento ambiental que não se move nem se renova rapidamente, diferentemente do ar e da água (BRASIL, 1983).

Medidas compensatórias devem ser realizadas para minimizar o impacto ambiental gerado pela adição de resíduos ao solo (TEDESCO et al., 1999).

Com o aumento do uso de resíduos orgânicos nas lavouras, é possível reduzir, ao longo dos anos, a aplicação de adubos minerais e melhorar a qualidade do solo. Se os resíduos orgânicos fossem adicionados ao solo em substituição aos adubos, haveria uma redução no consumo de matérias-primas empregadas na fabricação de fertilizantes minerais, reduzindo a poluição de diversos recursos naturais, melhorando a qualidade ambiental (SILVA, 2008).

Em função da grande oferta e descarte de resíduos, geralmente realizada inadequadamente na natureza, o quadro de degradação ambiental cada vez mais se agrava no Brasil. Estima-se que 95% dos reservatórios de água do país já tenham sido contaminados com lixo e esgoto nas cidades, com fertilizantes, esterco e defensivos agrícolas nas zonas

rurais e com efluentes de áreas de mineração contendo elementos traço e elementos químicos tóxicos nas regiões mais longínquas do país. Diante desta problemática, faz-se necessário que o uso de resíduos na agricultura seja feito seguindo-se critérios técnicos, minimizando sérios prejuízos ambientais originados a partir da poluição da água e de outros recursos essenciais à produção de alimentos (SILVA, 2008).

O uso de resíduos oriundos de abate animal, quando não utilizados na produção de rações também têm seu destino como fertilizante, devido seus ricos teores em elementos minerais como ferro, cálcio e fósforo. O solo deve conter elementos necessários à nutrição das plantas, dentre estes, macronutrientes como cálcio e fósforo, presentes em quantidades significativas na farinha de casco de *P. expansa* (Quadro 2), além do ferro, micronutriente classificado também como essencial às plantas (MEURER, 2007).

O fósforo é o nutriente mais limitante da produtividade de biomassa em solos tropicais (NOVAIS e SMYTH, 1999). Encontra-se em compostos que estão distribuídos em muitas rochas, minerais, plantas e animais, estando presente no solo na forma orgânica e inorgânica. Desempenha importantes funções nos vegetais, atuando na fotossíntese, na respiração, armazenamento e transferência de energia, na divisão e crescimento celular, dentre outros. Promove rápida formação e crescimento das raízes, melhorando a qualidade dos frutos, hortaliças e grãos, sendo vital à formação da semente, além de estar envolvido na transferência das características hereditárias das plantas (DECHEN e NACHTIGAL, 2007).

Os solos brasileiros são carentes em fósforo, em consequência do material de origem e da sua forte interação com o solo (RAIJ, 1991). A deficiência de fósforo retarda a maturação dos cultivos e seus sintomas, nas plantas, são visíveis primeiramente nos tecidos mais velhos. Sintomas de excesso de fósforo são raros nas plantas, contudo podem ocorrer em plantas sensíveis (DECHEN e NACHTIGAL, 2007).

Nas plantas, a deficiência de cálcio provoca crescimento reduzido das raízes, que tornam-se escuras e morrem. Tecidos jovens, conseqüentemente, desenvolvem sintomas, pela não retranslocação do cálcio na planta. Nos frutos pode ocorrer o chamado “bitter pit” ou fundo preto, comum nas culturas de tomate, maçã, melão e pimentão deficientes no macronutriente (DECHEN e NACHTIGAL, 2007). Segundo os autores, não existem relatos de toxidez de cálcio em plantas, provavelmente pelo fato de seu excesso ser armazenado no vacúolo das células, por apresentar baixa mobilidade.

O ferro também é um mineral de grande importância para as plantas. Sua principal função nos vegetais é a ativação enzimática. Catalisa a biossíntese de clorofila, além de fazer parte da ferredoxina, transportadora de elétrons que atua na fotossíntese e redução de nitratos e da fitoferritina, uma proteína de reserva. Nas plantas, admite-se que o íon requerido para seu metabolismo é o ferroso, cuja forma é absorvida pelas plantas, por ser a forma de maior mobilidade e disponibilidade para sua incorporação em estruturas biomoleculares. No solo, encontra-se nas formas divalente e trivalente (Fe^{2+} e Fe^{3+} , respectivamente), dependendo do estado de oxirredução do sistema (DECHEN e NACHTIGAL, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Viabilidade da pesquisa

Anteriormente à execução desta pesquisa, alguns questionamentos foram realizados para avaliação da viabilidade do projeto, utilizando-se animais, conforme proposto por Fagundes e Taha (2004). A pesquisa apresentou-se viável em decorrência da necessidade de se buscar novas fontes nutricionais de cálcio e ferro, tendo em vista o aumento da expectativa de vida da população, com conseqüente aumento da osteoporose e elevada incidência de anemia ferropriva, tanto no Brasil como mundialmente, trazendo benefícios à saúde da população, associada à possibilidade de redução do descarte ambiental inadequado do material em estudo.

O objetivo da pesquisa seria beneficiar, inicialmente, indivíduos de classe social menos favorecidas, em especial, os povos amazônicos, após execução de estudos comprobatórios.

Este trabalho também se mostrou economicamente viável, em decorrência do casco ser um subproduto de abate, sem valor comercial, até então descartado, obtido de forma crescente com o aumento da queloniocultura no Brasil. Este, por ser rico em cálcio e ferro, mostra-se viável para estudo.

Antes da sua execução, o projeto passou pela apreciação do Comitê de Ética da Universidade Federal Rural do Rio Janeiro (UFRRJ), tendo sido aprovado através do processo n. 12.412/ 2008-81.

3.2 Materiais

3.2.1 Materia-prima

Os cascos de Tartaruga-da-Amazônia foram doados pelo criatório Fazenda Moenda da Serra, localizado em Araguapaz – GO. Este criatório possui autorização e registro no IBAMA, sob o nº 28.771, conforme prevê a Portaria nº 142 (BRASIL, 1992). Os cascos foram enviados à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ através de transportadora, por via terrestre.

3.2.2 Animais de experimentação

Os roedores são importantes para execução de estudos científicos de diversas áreas, por possuírem características fisiológicas e genéticas semelhantes às dos seres humanos (HARKNESS e WAGNER, 1993). Segundo levantamento realizado por Fagundes e Taha (2004), o rato é o animal mais utilizado em pesquisas, seguido pelo camundongo, coelho, cão, suíno e pelos primatas. Na literatura, observa-se que a espécie *Rattus norvegicus* é a mais utilizada em pesquisas de novas fontes alimentares. Além disso, os ratos apresentam genética e características endócrinas semelhantes aos humanos; alta prolificidade; tempo de vida curto, propiciando ao pesquisador a obtenção de respostas rápidas em curto período de tempo; fácil manipulação; controle da saúde; padronização e controle rigoroso das condições ambientais nas quais os animais estão inseridos, além da conveniência de disponibilidade de local e exemplares para realização do experimento (HARKNESS e WAGNER, 1993; PAZ et al., 1997). Por se tratar de um estudo inédito e pelos ratos serem os animais mais utilizados em pesquisas com alimentos, optou-se pela escolha da espécie *Rattus norvegicus* para execução deste trabalho.

O experimento foi planejado e conduzido tendo como base o conceito dos três “R” (Reduction, Replacement e Refinement) proposto por Russel e Burch (1959), que traduzidos para o português significam redução, substituição e refinamento na experimentação animal, de modo a evitar estresse, dor ou sofrimento aos animais envolvidos na pesquisa.

O delineamento experimental utilizado empregou o menor número possível de animais, no caso, seis animais por grupo estudado, em cada etapa experimental, número mínimo de animais para se atingir o objetivo do estudo, totalizando 48 animais. Porém, inicialmente utilizou-se número de animais um pouco superior (56 ratos), considerando-se possíveis perdas por óbito e desempenho diferente de alguns exemplares, que não apresentaram desenvolvimento condizente com os padrões da espécie. Estes foram sacrificados e foi observada a presença de alterações anátomo patológicas à necropsia, sendo seus resultados descartados.

Os profissionais envolvidos neste trabalho obedeceram aos princípios éticos da experimentação animal, proporcionando aos animais utilizados nesta pesquisa o máximo de conforto e bem-estar, através da adoção de postura ética e humanitária, conforme proposto por COBEA (1991).

No ensaio biológico foram utilizados 48 ratos machos, recém desmamados, da linhagem Wistar, (*Rattus norvegicus*, variedade *Albinus*, ordem *Rodentia mammalia*, família *Muridae*).

Para garantir a confiabilidade do experimento, os animais utilizados foram obtidos e criados sob condições ideais controladas, tendo conhecimento dos padrões sanitários e acompanhamento dos parâmetros ambientais (ANDRADE et al., 2002). Para isso, todos os animais utilizados foram obtidos da colônia do Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Dietética da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil.

3.2.3 Biotério

O Laboratório de Nutrição Experimental da UFF (LABNE), onde o experimento com os animais foi realizado, é dotado de sistema de exaustão e fotoperíodo (ciclo claro e escuro de 12 em 12 horas), climatizado, com temperatura constante de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, possuindo gaioleiros e bancadas necessárias à elaboração de rações experimentais e manuseio de animais.

3.3 Métodos

3.3.1 Preparo do casco para elaboração da farinha

Ao chegar à universidade, os cascos foram devidamente lavados em água corrente e posteriormente sanitizados por imersão durante 15 min. em solução de Cloro a 200 ppm com pH neutro, preparada a partir de solução de Hipoclorito de Sódio comercial (NaClO) a 10%. Posteriormente, foram enxaguados em água corrente para remoção de todo cloro residual, envoltos em papel kraft e autoclavados a 120°C por 30 minutos, devido à extrema dureza dos cascos.

Em seguida, os cascos ainda quentes foram quebrados manualmente em pequenos pedaços e triturados em liquidificador industrial Croydon, com auxílio de pequena quantidade de água destilada, passando a seguir, para um liquidificador industrial Sire de aço inoxidável de menor porte, até obtenção de uma pasta. A utilização de dois tipos de liquidificadores foi para facilitar a moagem do material. A pasta obtida foi acondicionada em bandejas de alumínio, pulverizadas com solução de Metabissulfito de Sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) a 200 ppm através de um pulverizador portátil, para evitar crescimento de fungos. As bandejas foram colocadas em estufa Fabbe-Primar com ventilação forçada, em temperatura de $\pm 58^\circ\text{C}$ até secagem da pasta (aproximadamente 16 horas).

O material seco foi quebrado em pequenos pedaços com auxílio de um pistilo em um graal de porcelana e as porções mais resistentes, com auxílio de martelo. Em seguida, foram moídos em moinho Retsch- modelo D2-800H, com peneira de 0,75mm, por 5 minutos,

obtendo-se uma farinha bem fina e homogênea. A farinha foi embalada a vácuo e armazenada em local seco e arejado, em temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$.

O processo de autoclavagem realizado no casco, para elaboração da farinha, foi efetuado apenas com intuito de facilitar sua quebra manual e posterior trituração em liquidificador, diferentemente da realizada na fabricação de farinhas de carne e de peixe, cujo objetivo é a esterilização de carnes condenadas à venda, pelo Serviço de Inspeção, além de resíduos não comercializáveis, conforme citam Tedesco et al. (2008).

A farinha obtida foi utilizada na elaboração de uma ração para avaliação biológica e química do cálcio e do ferro.

3.3.2 Determinação da composição centesimal e teor de minerais da farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia

Determinou-se o teor de umidade, cinzas ou resíduo mineral fixo, extrato etéreo e proteína no Laboratório Analítico de Alimentos e Bebidas (LAAB) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

A determinação da umidade foi realizada por gravimetria, em estufa a 105°C até peso constante. As cinzas foram obtidas em mufla a 550°C , o extrato etéreo através de extrator de Soxhlet, utilizando éter etílico como solvente e a proteína por método Micro-Kjeldahl para nitrogênio total, utilizando-se o fator 6,25 para a conversão em proteína (AOAC, 2005).

Os teores de cálcio, ferro e fósforo foram determinados através de Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) marca Perkin Elmer®, Optima 2100 DV, segundo a AOAC (2005), Método 990.08, item 9.2.39, p. 46, sendo as análises realizadas no Laboratório de Análise de Minerais da Embrapa Agroindústria de Alimentos (CTAA), localizado em Pedra de Guaratiba, RJ.

Inicialmente, pesou-se aproximadamente 0,5 g de farinha de casco em cadinhos de porcelana devidamente descontaminados, carbonizou-se completamente em chapa aquecedora disposta em capela de exaustão, tampou-se os cadinhos e incinerou-se em forno mufla à temperatura de 450°C durante 8 horas, até obtenção de cinzas brancas, sendo posteriormente colocado em dessecador para esfriar. Posteriormente, adicionou-se 6,0 mL de ácido nítrico (HNO_3) 70% P.A. ACS-ISO, com auxílio de dispensette, tampou-se os cadinhos e aguardou-se 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 1,0 mL de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) P.A. (Vetec®), tampou-se os cadinhos e aguardou-se 20 minutos. O conteúdo foi transferido para balão volumétrico com capacidade de 50 mL com auxílio de funil, bastão de vidro e pisette contendo água deionizada, lavando bem toda a superfície do cadinho, aguardando-se o término da produção de bolhas para avolumar-se os balões volumétricos. Estes foram mantidos fechados com suas respectivas tampas e cobertos com folhas de papel toalha. O manuseio dos cadinhos foi realizado utilizando-se pinça especial que não entra em contato com a parte interna superior do mesmo, estando em contato apenas com sua parte externa, evitando contaminação da amostra através da pinça. Para facilitar o processo, o conteúdo do balão volumétrico foi transferido para tubos falcon de plástico com capacidade de 50 mL cada e armazenados até a leitura. Para leitura das amostras, as condições operacionais do espectrômetro de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente foram: Potência de 1300 watts, utilização de nebulizador concêntrico, câmara de nebulização ciclônica e bomba peristáltica. O ferro e o fósforo foram analisados em vista axial e o cálcio em vista axial atenuada. O comprimento de onda da emissão dos elementos foi de 213.618 nm para o fósforo, 259.940 nm para o ferro e 317.933 nm para o cálcio. As curvas de detecção para o ferro foram de 0,0 a 0,50 ppm e para o fósforo e cálcio de 0,0 a 80,00 ppm. Para preparo da curva padrão foram utilizadas soluções padrão para cálcio-ICP, ferro-ICP e fósforo-ICP, ambas da marca Specsol®, contendo 1000 ppm do elemento.

Quando se realizou a leitura, observou-se que as amostras estavam muito concentradas em cálcio, ferro e fósforo, ultrapassando os limites máximos de detecção da curva padrão, fazendo-se necessária uma segunda diluição de todas as amostras. Para isso, foram utilizadas pipetas automáticas, ponteiras plásticas descartáveis, balões volumétricos de 50 mL devidamente descontaminados e potes plásticos descartáveis para coleta universal, com capacidade de 50 mL. Após agitação dos tubos Falcon contendo a primeira diluição das amostras, pipetou-se 1,0 mL e transferiu-a para balão volumétrico de 50 mL. Posteriormente, com auxílio de dispensette, adicionou-se 6,0 mL de ácido nítrico (HNO₃) 70% P.A. ACS-ISO, completando-se posteriormente o volume com água ultrapura. Os balões volumétricos foram tampados, agitados e seu conteúdo transferido para pote plástico descartável. Este sofreu leitura direta no equipamento, obtendo-se os resultados em miligramas de mineral por kilo de farinha do casco (mg/kg), sendo posteriormente convertidos em miligramas de mineral por 100 gramas da amostra (mg/100g).

A farinha do casco foi analisada em triplicata e foram preparados três brancos, contendo todos os reagentes, exceto as amostras.

Toda a vidraria utilizada (cadinhos de porcelana com tampa, balões volumétricos, funis e bastões de vidro) foi devidamente lavada com detergente em água corrente e posteriormente descontaminada através de imersão completa em cubas plásticas devidamente tampadas contendo solução composta por água deionizada e ácido nítrico (HNO₃) P.A., na proporção de 1:1, durante quatro horas, sendo posteriormente colocada em cuba contendo água deionizada durante duas horas e rinsada quatro vezes com água ultrapura. Durante esta etapa, utilizou-se luvas de segurança de neoprene e óculos de proteção. Após o enxágüe, toda vidraria foi seca em temperatura ambiente, em bandejas plásticas devidamente forradas e cobertas com papel toalha. Durante todo o manuseio das amostras até a leitura, utilizou-se touca, luvas de vinil e máscara descartáveis, evitando-se falar sobre o material a ser analisado, evitando-se possível contaminação com gotículas de saliva.

O Valor Energético Total (VET) da farinha do casco foi calculado através da soma do teor de proteínas e de carboidratos multiplicado por quatro (4 kcal/g), e do teor de lipídios multiplicada por nove (9 kcal/g), sendo o resultado desta soma expresso em kcal/100g de amostra (KRAUSE e MAHAN, 2002).

3.3.3 Elaboração das rações

As rações foram elaboradas manualmente no Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal Fluminense (LABNE), seguindo-se as recomendações da American Institute of Nutrition – AIN (1993) (REEVES et al., 1993), fornecendo percentual protéico de 17%, correspondente à necessidade de ratos em crescimento.

Foram elaboradas quatro diferentes formulações de rações de acordo com o experimento a ser desenvolvido: ração controle (RC), ração com teor de cálcio reduzido em 50% de cálcio (RDCa), ração com 50% de redução de Ferro (RDFe) e ração contendo farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia (RFC).

Para o preparo das rações, fez-se a pesagem, conforme a densidade (do mais leve para o mais pesado), dos seguintes ingredientes: celulose; L-cistina; mistura de vitaminas; mistura completa de minerais para as rações RC e RFC e mistura de minerais livre de cálcio e ferro e CaCO₃ e citrato férrico nas rações RDCa e RDFe; bitartarato de colina, amido, açúcar, caseína e óleo de soja.

Os ingredientes foram pesados em balança eletrônica semi-analítica Bioprecisa, modelo JY50001, com exceção dos minerais, que foram pesados em balança analítica de precisão Bosch, modelo S2000. A seguir, os ingredientes foram misturados com auxílio de espátula inoxidável, sendo posteriormente levados à bateadeira Semco Hobart por 10 minutos para homogeneização. O óleo foi acrescentado aos poucos para evitar a formação de grumos.

Terminado o processo de homogeneização, foi acrescentada água fervente aos poucos na proporção de 3 litros de água para cada 5 kg de ração produzida, até que houvesse gelatinização do amido e formação de uma massa com textura lisa.

Em seguida, a massa foi moldada manualmente em uma bancada devidamente higienizada, fazendo-se rolinhos de aproximadamente 2,0 cm de largura, colocados em bandejas de aço inoxidável e levados à estufa Fabbe-Primar ventilada, a temperatura entre 55 e 60°C, durante 24 horas.

Foram preparadas quatro diferentes formulações de rações para utilização durante o experimento (Tabela 1), durante as fases de depleção e repleção, todas contendo 17% de proteína, segundo recomendação da AIN-93G (REEVES et al., 1993).

A ração contendo farinha do casco é uma ração que sofreu uma troca parcial da fonte protéica, sendo 58,82% oriunda da caseína e 41,18% proveniente da farinha do casco. Além disso, sofreu um acréscimo no teor lipídico de 0,19g em 100g de ração e suplementação de 2,33g de cálcio e 5,95mg de ferro em 100g de ração, comparada à ração controle segundo recomendação da AIN-93G (REEVES et al., 1993). Estes dados foram obtidos através de cálculos, baseados na composição centesimal e na primeira análise de minerais realizada na farinha do casco neste experimento (Tabela 2), sendo posteriormente confirmados através de análises de composição química e nutricional das rações (Tabela 3).

Tabela 1. Formulação das quatro rações utilizadas durante o experimento.

Ingredientes (g/100g de ração)	RC	RDCa	RDFe	RFC
Caseína ¹	21,25	21,25	21,25	12,50
Açúcar ²	10,00	10,00 + 0,625= 10,63	10,00 + 0,0105= 10,0105	10,00
Mistura de minerais completa ³	3,50	—	—	3,50
Mistura de minerais livre de Ca e de Fe ⁴	—	2,229	2,229	—
CaCO ₃ ⁵	—	0,625	1,2495	—
Citrato férrico ⁶	—	0,021	0,0105	—
Farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia ⁷	—	—	—	30,30
Mistura de vitaminas completa ⁸	1,00	1,00	1,00	1,00
Óleo ⁹	7,00	7,00	7,00	7,00
Celulose ¹⁰	5,00	5,00	5,00	5,00
Bitartarato de colina ¹¹	0,25	0,25	0,25	0,25
L-cistina ¹²	0,30	0,30	0,30	0,30
Amido ¹³	51,70	51,70	51,70	30,15
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

RC - rações controle, RDCa - ração 50% reduzida em cálcio, RDFe - Ração 50% reduzida em Ferro, RFC - Ração enriquecida com farinha de casco de *P. expansa*.

1- Caseína Comercial contendo 80% de proteína 3- Preparada segundo a AIN-93 G, 4- Elaborada segundo a AIN-93, porém isenta de cálcio e de ferro, 5, 6, 8- mix vitamínico elaborado segundo a AIN-93, 10- celulose microfina, 11, 12 ambos elaborada pela Rhoster Indústria e Comércio LTDA, 7- farinha elaborada conforme metodologia presente neste trabalho, 9- óleo de soja refinado Clarion, 13- Amido de milho Adram S.A.

3.3.4 Determinação da composição centesimal e teor de minerais das rações

Foram determinados os teores de umidade, cinzas ou resíduo mineral fixo, extrato etéreo, proteína e carboidratos totais no Laboratório Analítico de Alimentos e Bebidas (LAAB) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

A determinação da umidade foi realizada por gravimetria, em estufa a 105 °C até peso constante. As cinzas foram obtidas em mufla a 550 °C; o extrato etéreo através de extrator de Soxhlet, utilizando éter etílico como solvente; proteína por método Micro-Kjeldahl para nitrogênio total, utilizando-se o fator 6,25 para a conversão em proteína e os carboidratos totais através da metodologia de Lane-Eynon (BRASIL, 1986; AOAC, 2005).

Os teores de cálcio e de ferro das rações foram realizados a partir das cinzas. O preparo das cinzas foi realizado no Laboratório Analítico de Alimentos e Bebidas (LAAB) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) (AOAC, 2005), assim como a primeira diluição para leitura. A segunda diluição e a determinação dos teores de cálcio e ferro nas rações foram realizadas por espectrometria de plasma, no Laboratório de Análise de Minerais da Embrapa Agroindústria de Alimentos (CTAA), localizado em Pedra de Guaratiba – RJ, segundo a AOAC (2005), Método 990.08, item 9.2.39, p. 46.

As rações foram trituradas separadamente em multiprocessador de alimentos até obtenção de pó fino e homogêneo. Pesou-se aproximadamente 0,5 g de ração em cadinhos de porcelana devidamente identificados, para obtenção de cinzas. Todo o procedimento realizado para análise de cálcio e ferro nas rações foi o mesmo executado na farinha do casco, sendo realizado no mesmo equipamento e sob as mesmas condições operacionais e utilizando-se as mesmas curvas padrões descritos no item 3.3.2. Os resultados obtidos foram em miligramas de mineral por kilo de ração (mg/kg).

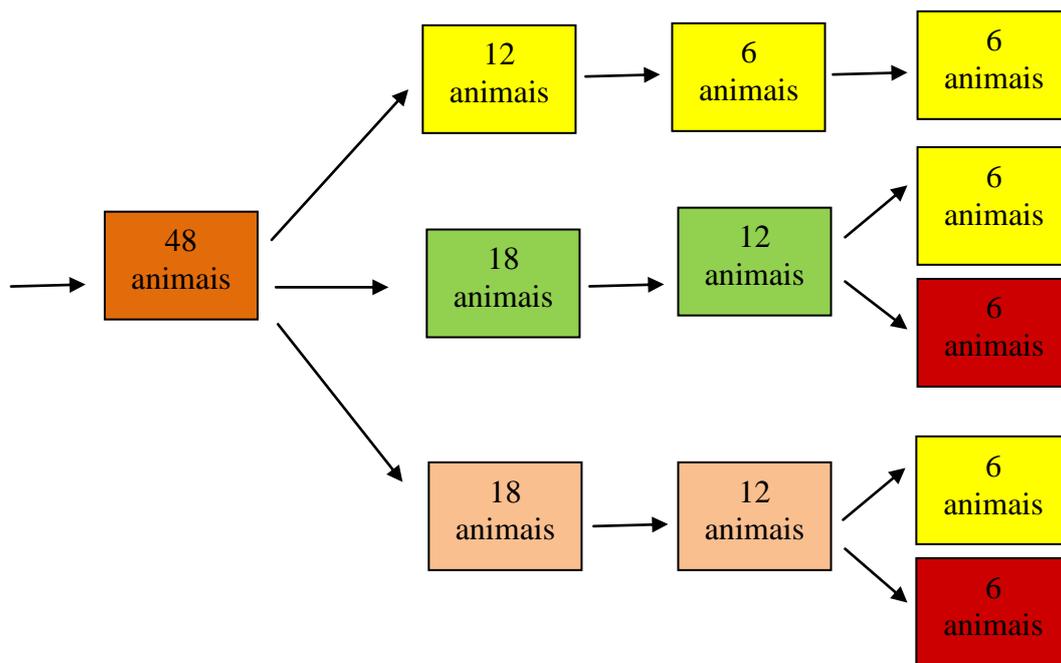
Todas as rações foram analisadas em triplicata, sendo preparados três brancos juntamente com as rações, contendo todos os reagentes, exceto as amostras.

Os procedimentos de limpeza e descontaminação das vidrarias utilizadas, assim como os cuidados com o manuseio das amostras, vidrarias e utensílios foram os mesmos citados no item 3.3.2, na determinação dos teores de cálcio e ferro da farinha do casco.

O Valor Energético Total (VET) das rações foi calculado conforme descrito no item 3.3.2.

3.3.5 Obtenção dos animais utilizados experimentalmente

Para o ensaio biológico, foram utilizados 48 ratos machos, da linhagem Wistar, (*Rattus norvegicus*). As matrizes iniciaram o período de acasalamento no dia 19 de novembro de 2008 e foram alimentadas com ração comercial da marca Nuvilab-CR1- “Alimento completo para ratos e camundongos”. O delineamento experimental apresenta-se ilustrado na Figura 1.



- Total de animais no início do experimento;
- Animais recebendo ração controle (RC) *ad libitum*;
- Grupo depletado em cálcio (GDCa), ingerindo ração 50% reduzida em cálcio (RDCa);
- Grupo depletado em ferro (GDFe), ingerindo ração 50% reduzida em ferro (RDFe);
- Grupo recebendo ração contendo farinha do casco (RFC) *ad libitum*.

Figura 1. Esquemática do delineamento utilizado no presente experimento.

Os animais foram desmamados ao 21º dia de vida, e colocados em gaiolas individuais de polipropileno forradas com maravalha esterilizada, com bebedouros de vidro e bicos de aço inoxidável contendo água filtrada, dispostas em prateleiras metálicas no biotério do Laboratório de Nutrição Experimental da UFF (LABNE), dotado de temperatura ambiente constante ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e iluminação adequada (ciclo claro e escuro de 12/12 horas).

Na primeira fase experimental, foram divididos, aleatoriamente, através de sorteio, três grupos experimentais:

- grupo controle (GC), composto por 12 animais, que receberam ração controle *ad libitum*;
- grupo depletado em cálcio (GDCa), composto por 18 animais
- grupo depletado em ferro (GDFe), composto por 18 animais.

Os grupos depletados em cálcio e em ferro receberam rações com teores 50% inferiores em cálcio e em ferro, respectivamente, comparados às recomendações de Reeves et al. (1993), segundo a AIN-93. Além disso, ofertou-se diariamente a quantia correspondente à metade da média de consumo diário do grupo controle para os grupos depletados em cálcio e em ferro.

No primeiro dia ofertou-se 20 g de ração para o grupo controle e 10 g de ração para os grupos depletados em cálcio e em ferro. A partir do segundo dia pesou-se a ração não consumida pelos animais do grupo controle, calculando-se a média de consumo diário de cada animal, a média de consumo diário do grupo controle e a metade dessa média, baseando-se nessa para o fornecimento de ração dos grupos depletados. Os cálculos foram realizados diariamente e as quantidades de ração consumidas por cada animal, durante todo o experimento, anotadas em planilha. Os animais foram pesados semanalmente e seus pesos registrados.

A pesagem da ração ofertada e da ração restante e a aferição do peso corpóreo dos animais foram realizadas em balança Filizola - modelo MF-3.

Após 35 dias de experimento, foi realizado o sacrifício de 6 animais do grupo controle (GC), 6 animais do grupo depletado em cálcio (GDCa) e 6 animais do grupo depletado em ferro (GDFe), escolhidos através de sorteio, restando 30 animais para a segunda fase experimental, que teve duração de 49 dias.

Na segunda fase do experimento, os 6 animais remanescentes do grupo controle (GC) continuaram sendo alimentados com a ração controle, *ad libitum* e os 12 animais remanescentes dos grupos depletado em cálcio (GDCa) e depletado em ferro (GDFe), respectivamente, foram subdivididos em dois grupos de 6 animais cada, formando os grupos repletado em cálcio recebendo ração controle (GRCaRC) e grupo repletado em cálcio recebendo ração contendo farinha do casco (GRCaRFC) e grupos repletado em ferro recebendo ração controle (GRFeRC) e grupo repletado em ferro recebendo ração contendo farinha do casco (GRFeRFC), todas oferecidas *ad libitum* aos animais. A divisão desses grupos também foi realizada de forma aleatória, através de sorteio. A segunda fase experimental, denominada etapa de repleção teve duração de 49 dias.

3.3.6 Determinação do ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) dos animais

O ganho de peso dos animais foi aferido semanalmente (GPS) aos 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias de vida da fase de depleção e aos 56, 63, 70, 77, 84, 91, 98 e 105 dias de vida da fase de repleção. Calculou-se o GPT dos animais dentro dos 35 dias da fase de depleção e dos 49 dias da fase de repleção, obtida através da diferença entre o peso final e o peso inicial:

$$\text{GPT} = \text{peso final} - \text{peso inicial}$$

3.3.7 Consumo de ração (CR)

O consumo de ração (CR) foi registrado diariamente, através da diferença entre ração ofertada e ração restante. A quantidade de ração consumida pelos animais foi somada obtendo-se o consumo total de ração (CTR), e através deste dado foi realizado o cálculo do Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA).

3.3.8 Consumo protéico total e ingestão calórica total dos animais

Baseado no consumo total de ração (CTR) dos animais por grupo em cada fase experimental e na composição protéica e calórica das rações ingeridas calculou-se a ingestão protéica (em gramas) e calórica (em kilocalorias) totais de cada grupo de animais nas duas fases experimentais.

3.3.9 Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA)

O Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) determina quanto um grama de ração ingerido promove o aumento de peso corporal, sendo calculado pela relação entre a variação de peso dos animais (GP) e a ração consumida por estes (CTR).

Para o cálculo do CEA na primeira fase experimental (fase de depleção), consideramos a variação de peso dos animais ocorrida entre o 28^o e o 56^o dia de vida e o consumo total de ração (CTR) neste período, e para calcular o CEA na segunda fase do experimento (fase de repleção), consideramos a variação de peso entre o 56^o e o 105^o dia de vida e o consumo de ração neste período (CAMPBELL, 1963).

$$\text{CEA} = \frac{\text{GP (g) do animal}}{\text{CTR (g) do animal}}$$

3.3.10 Coleta e análises das fezes

Momentos antes da coleta das fezes, a ração disponível aos animais nas gaiolas foi zerada, garantindo o controle da quantidade de ração ingerida pelos ratos e as fezes excretadas durante aquele período de tempo. As fezes foram coletadas individualmente das gaiolas dos animais durante quatro dias consecutivos em período anterior ao sacrifício. Durante essa fase, os animais permaneceram em gaiolas individuais, porém sem maravalha. As fezes foram separadas minuciosamente da ração que porventura estaria no chão da gaiola com auxílio de pinças e espátulas e foram acondicionadas em frascos apropriados para coleta de fezes, devidamente identificados com data e número de identificação do animal correspondente. Os potes foram levados à estufa Fabbe-Primar à temperatura de 50°C por 12 horas. Após a secagem, as fezes foram pesadas em balança analítica de precisão, marca Bosch, modelo S 2000 e trituradas manualmente com auxílio de pistilo em graal de porcelana, por se tratar de quantidades muito pequenas para serem trituradas em multiprocessador, até obtenção de um pó fino e homogêneo. Durante todo o manuseio das fezes, foram utilizadas luvas descartáveis de látex, óculos de proteção, gorros e máscaras descartáveis.

Entre a troca de cada amostra de fezes, graal e pistilo foram cuidadosamente lavados em água corrente e detergente, com auxílio de esponja e deixados de molho em ácido nítrico P.A. para remoção dos minerais, sendo posteriormente enxaguados em água deionizada e secos em estufa a 105°C, devidamente protegidos com papel toalha.

3.3.11 Determinação de cálcio e ferro das fezes

Foram determinados os teores de cálcio e ferro das fezes dos animais seguindo-se o procedimento do item 3.3.2. Os resultados obtidos foram expressos em miligramas de mineral por kilo de fezes (mg/kg), sendo posteriormente convertidos em mg de cálcio e de ferro por 100g de fezes. Conhecendo-se a massa de fezes excretada por animal ao dia, usou-se esse valor em um cálculo de regra de três, obtendo-se a quantia de mineral excretada ao dia. Cada animal sofreu coleta de fezes durante quatro dias consecutivos. As determinações foram realizadas em triplicata. Foram calculadas as médias de cálcio e ferro excretados por animal e posteriormente, por grupo estudado, sendo esta utilizada no cálculo do Coeficiente de Digestibilidade Aparente (CDA).

3.3.12 Determinação do coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio e do ferro (CDA)

Determinou-se o Coeficiente de Digestibilidade Aparente (CDA) do cálcio e do ferro para cada animal, através da diferença entre a quantidade de cálcio e ferro ingeridos (CaI e FeI) e a excretada pelas fezes (CaE e FeE) (SGARBIERE, 1987).

O Coeficiente de Digestibilidade Aparente do cálcio (CDA Ca) foi obtido através da seguinte fórmula:

$$\text{CDA Ca (\%)} = \frac{\text{CaI} - \text{CaE}}{\text{CaI}} \times 100$$

Onde:

CaI = Ca ingerido através da ração ofertada

CaE = Ca excretado através das fezes

E o Coeficiente de Digestibilidade Aparente do ferro (CDA Fe) foi obtido através de:

$$\text{CDA Fe (\%)} = \frac{\text{FeI} - \text{FeE}}{\text{FeI}} \times 100$$

Onde:

FeI = Fe ingerido através da ração ofertada

FeE = Fe excretado através das fezes

3.3.13 Índice de crescimento (IC)

O Índice de crescimento (IC) baseia-se na variação de peso corporal decorrente da diferença de qualidade de dietas em função da qualidade da fração protéica, onde é medida a variação de peso corporal dos animais, como reflexo global da proteína ingerida (ANGELIS, 1995). O IC foi determinado através da relação entre ganho de peso dos animais (GP) (em gramas) e o consumo de proteína (CP) (em gramas) em cada grupo de animais, em cada período experimental, segundo Angelis (1995), conforme demonstrado na fórmula abaixo.

$$\text{IC} = \frac{\text{GP (g) do animal}}{\text{CP (g) pelo animal}}$$

O IC foi calculado neste experimento, com o intuito de comparar a qualidade protéica da caseína nas rações em animais alimentados *ad libitum* e depletados com a qualidade protéica da ração repleção enriquecida com a farinha do casco (RFC), onde a caseína foi parcialmente substituída pela proteína do casco e cujo percentual protéico foi superior ao encontrado nas demais rações.

3.3.14 Coleta de sangue e preparo das amostras

A coleta de sangue foi realizada ao final de cada fase experimental, sendo os animais submetidos à um período de jejum prévio de 12 horas antes da coleta. A coleta de sangue foi feita previamente ao sacrifício, com o animal devidamente anestesiado com tiopental sódico (Thiopentax®), diluído em água destilada na concentração de 1 grama/16mL. A dose empregada é de 0,15mL X peso do animal (expresso em gramas) /100, correspondente à dose letal, administrado via intraperitoneal com seringa de insulina com capacidade de 1,0 mL. O sangue foi coletado por punção cardíaca, com auxílio de agulha e seringa com capacidade de 10,0 mL, coletando-se aproximadamente 8,0 mL de sangue por animal.

Imediatamente após a coleta, parte do sangue (1,0 mL) foi transferido para tubo contendo anticoagulante EDTA (K₂) líquido (Ácido etilenodiamino tetra-acético dipotássico) da marca Vacuette®, para a determinação de hematócrito (Ht) e hemoglobina (Hb).

O restante do sangue (aproximadamente 7,0 mL) foi transferido para tubo livre de anticoagulante, mas com um ativador de coágulo, da marca Vacuette®, para obtenção do soro. O sangue foi centrifugado em centrífuga CENTRIBIO por 30 minutos à 3500 RPM (rotações por minuto). Através do soro foram realizadas determinações de cálcio, ferro, fósforo, fosfatase alcalina, colesterol total, triglicerídeos e albumina. O soro foi acondicionado em eppendorfs com capacidade de 1,5 mL, devidamente identificados, sendo em seguida congelados e armazenados a temperatura de -20°C, sendo descongelados somente no momento da realização das análises sorológicas.

3.3.15 Determinação dos parâmetros bioquímicos do sangue

As análises foram realizadas em triplicata para cada amostra do soro obtido de cada rato, dependendo da quantidade de soro disponível. Utilizou-se pipetas de precisão automática para volume ajustável (Indústria e Comércio Kacil Ltda) e ponteiras descartáveis para quantificação do volume das amostras. Depois de realizado os procedimentos de cada indicador sérico, as leituras foram realizadas em Espectrofotômetro SP-220, da marca Biospectro, ajustado-se os comprimentos de onda específicos para cada indicador.

Todas as análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Experimental da UFF (Labne), com a utilização de kits comerciais da marca Bioclin (Indústria Quibasa-Química Básica Ltda/ Belo Horizonte-MG).

3.3.15.1 Hematócrito

Determinado utilizando-se a técnica do microhematócrito, através de microcapilares descartáveis. Para determinação do hematócrito, o sangue foi colocado em microcapilares, sendo posteriormente fechados em Bico de Bunsen e colocados na centrífuga à 3500 RPM durante 15 min. A leitura foi realizada em escala graduada em percentuais para Ht% (LIMA et al., 1977).

3.3.15.2 Hemoglobina

Determinada através de teste colorimétrico utilizando-se a metodologia da Cianometahemoglobina, sendo a leitura executada em espectrofotômetro a 540nm, utilizando-se kit comercial da marca Bioclin® (HEMOGLOBINA K023) e PADRÃO DE HEMOGLOBINA K029. O resultado foi expresso em gramas de hemoglobina por decilitro de sangue (g/dL).

3.3.15.3 Colesterol

O colesterol total foi determinado utilizando-se kit comercial da marca Bioclin® denominado COLESTEROL MONOREAGENTE K083, cuja metodologia empregada é a Enzimático Colorimétrica-COD-PAP, cuja intensidade da cor cereja formada é diretamente proporcional à concentração de colesterol na amostra. A absorbância da amostra e do padrão foi lida em 500nm. O resultado foi expresso em miligramas de colesterol por decilitro (mg/dL).

3.3.15.4 Triglicerídeos

Os triglicerídeos foram determinados através de teste enzimático colorimétrico, utilizando-se kit comercial da marca Bioclin® denominado TRIGLICÉRIDES LÍQUIDO ESTÁVEL K055. O método baseia-se no fato do H₂O₂, 4 aminoantipirina e p-clorofenol, na presença de peroxidase, originarem um composto de cor cereja, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de triglicérides. A leitura da absorbância da amostra e do padrão foi lida a 500nm. Os resultados expressam-se em miligramas por decilitro (mg/dL).

3.3.15.5 Cálcio

O cálcio sérico foi determinado através de teste colorimétrico, utilizando-se a metodologia da Cresolftaleína-complexonada, sendo a leitura das absorbâncias do padrão e da amostra executadas a 578nm, utilizando-se kit comercial da marca Bioclin® (CÁLCIO K007). O resultado foi expresso em miligramas de cálcio por decilitro de soro (mg/dL).

3.3.15.6 Ferro

O ferro sérico foi determinado através de teste colorimétrico por metodologia de Goodwin Modificada, utilizando-se kit comercial da marca Bioclin® (FERRO SÉRICO K017). As absorbâncias da amostra e do padrão foram determinadas a 560nm. O resultado foi expresso em microgramas de ferro por decilitro de soro (µg/dL).

3.3.15.7 Fósforo

O fósforo foi determinado por teste colorimétrico, utilizando-se kit comercial da marca Bioclin® para Fósforo. Nesta metodologia, o Fósforo inorgânico reage com o Molibdato de amônio formando Fosfomolibdato de amônio, que é reduzido a azul de molibdênio, cuja intensidade de cor desenvolvida é proporcional à concentração de Fósforo presente na amostra. A leitura foi efetuada em espectrofotômetro a 650nm. Os resultados foram expressos em miligramas de fósforo por decilitro de soro (mg/ dL).

3.3.15.8 Albumina

A albumina foi determinada através de teste colorimétrico, utilizando-se kit comercial da marca Bioclin® para Albumina. Nesta metodologia, o Verde de bromocresol (VBC), na presença da Albumina, forma um complexo corado que exibe um espectro de absorção diferente do corante no seu estado livre, permitindo, desta forma, a dosagem da Albumina. A leitura foi efetuada em espectrofotômetro a 630nm. Os resultados foram expressos em gramas de Albumina por decilitro de soro (g/ dL).

3.3.15.9 Fosfatase Alcalina

A fosfatase alcalina foi determinada através de teste colorimétrico, utilizando-se kit comercial da marca Bioclin®. A metodologia empregada nesse kit é a de Roy Modificada. A determinação da absorbância da amostra e do padrão foi realizada em espectrofotômetro a 590nm. Os resultados expressam-se em U/L.

3.4 Análise Estatística

Os dados foram apresentados na forma de média e desvio padrão. Para avaliar as diferentes composições centesimais das rações e verificar a ocorrência de depleção e repleção com os diferentes tratamentos (rações) foi realizada análise de variância (ANOVA). Ocorrendo diferenças, aplicou-se o teste de Tukey com nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Sisvar, versão 4.6 (FERREIRA, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição centesimal da farinha do casco de Tartaruga-da-Amazônia

Os resultados médios obtidos nas análises de composição centesimal (%) ou (g/100g), teor de cálcio e ferro (mg/100g) e valor energético total (kcal/100g) na farinha do casco estão descritas na Tabela 2. Estes resultados foram utilizados na formulação da ração contendo farinha do casco.

Tabela 2. Resultados médios e desvio padrão da composição centesimal, teores de cálcio, ferro e fósforo e valor energético total da farinha do casco utilizada na formulação da ração enriquecida com a farinha do casco (RFC).

Parâmetros	Teores
Umidade (%)	5,52 (\pm 0,08)
Proteínas (%)	24,76 (\pm 0,50)
Lipídios (%)	0,64 (\pm 0,02)
Carboidratos totais (%)	ausente
Fibras (%)	ausente
Cinzas (%)	42,45 (\pm 0,29)
Cálcio (mg/100g)	7.700,04 (\pm 1,30)
Ferro (mg/100g)	19,65 (\pm 0,03)
Fósforo (mg/100g)	9.732,36 (\pm 47,95)
Valor Energético Total (VET) (kcal/100g)	104,82 (\pm 1,87)

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Os resultados representam as médias de três determinações.

Comparando a composição centesimal da farinha do casco expressa na Tabela 2, com a composição centesimal descrita por Scarlato e Gaspar (2007), observamos uma grande redução em seu teor de umidade, graças à diferente metodologia de obtenção desta farinha. A farinha do casco obtida no experimento de Scarlato e Gaspar (2007), foi obtida através da moagem dos cascos em moinho de facas e martelos, sendo posteriormente submetida a peneiras com malha de 2 mm para padronização da amostra, enquanto a farinha obtida neste trabalho foi obtida após processo de autoclavagem dos cascos, seguida de quebra manual após seu amolecimento, trituração com água destilada em liquidificadores industriais até obtenção de uma pasta que foi acondicionada em bandeja de alumínio e seca em estufa ventilada, até obtenção de material seco e duro, que foi quebrado em pequenos fragmentos sofrendo moagem para obtenção de farinha fina e homogênea. Graças ao processo de secagem em estufa, a umidade média reduziu significativamente (5,52%), enquanto a farinha obtida por Scarlato e Gaspar (2007), apresentou teor de umidade superior (53,89%) por ter passado apenas pela etapa de moagem. A redução da umidade da farinha obtida do casco neste experimento apresentou-se ideal para uso nas rações experimentais, sendo facilmente agregada aos demais ingredientes das rações.

Quanto ao teor protéico médio, houve um pequeno aumento (24,76%) em comparação com a farinha obtida por Scarlato e Gaspar (2007) (23,04%), podendo este ter sido ocasionado pela própria perda de umidade da amostra, com consequente concentração do teor de proteínas.

Quanto ao teor lipídico, houve redução de 10% neste experimento (0,64%) (Tabela 2) em comparação ao obtido nesse tipo de farinha por Scarlato e Gaspar (2007) (6,66%), provavelmente devido ao processo de autoclavagem, cujo aquecimento pode ter promovido a fusão das gorduras do casco. Foi possível visualizar a fusão das gorduras junto ao tecido

conjuntivo aderido à parte interna do casco e em suas bordas. A gordura extraída do casco pode ter como destino a utilização em preparo de rações, como também encaminhamento à indústria química, assim como é realizado com a gordura extraída da farinha de ossos desengordurada, para fabricação de glicerina, palmitatos, estearatos e oleatos, conforme citado por Tedesco et al. (2008), ou para fabricação de cosméticos, como sabonetes e cremes, que já são fabricados com a gordura da Tartaruga-da-Amazônia (COTOMI, 2010), possibilitando mais uma fonte de renda aos queloniocultores.

Com relação ao teor de cinzas, a farinha obtida neste experimento apresentou teor médio duas vezes superiores (42,45%) ao obtido por Scarlato e Gaspar (2007) (20,69%), provavelmente pela perda de umidade e lipídios, concentrando a composição de minerais na amostra.

Houve redução do teor calórico da farinha obtida do casco neste experimento (104,82 kcal/100g), em comparação à citada por Scarlato e Gaspar (2007) (152,07kcal/100g), graças à redução do teor lipídico da farinha de casco deste experimento.

Ressalta-se que as metodologias analíticas utilizadas neste experimento, para determinação da composição centesimal, foram as mesmas empregadas por Scarlato e Gaspar (2007), exceto o teor lipídico, cujas metodologias foram Soxhlet (AOAC, 2005) e Bligh e Dyer (1959), respectivamente. Quanto à idade de abate, tanto os animais utilizados neste experimento quanto os citados por Scarlato e Gaspar (2007), foram abatidos a partir de 1,5 kg de peso vivo, em concordância com a Portaria n. 142 (BRASIL, 1992), que ocorre num período variável de 2 a 3 anos de vida. Observou-se pequenas variações de tamanho dos cascos, o que pode ter ocasionado variação em suas composições centesimais e nos teores de minerais. A dieta alimentar dos animais, segundo o proprietário dos criatórios era igual, composta principalmente por ração extrusada para peixes, com teor protéico de 24%, além de frutas, verduras e legumes como itens alternativos.

Comparando os teores médios de cálcio e ferro descritos na Tabela 4 com os citados por Scarlato e Gaspar (2007) (7.843,33 mg/100g de cálcio e 20,76 mg/100g de ferro), observamos valores médios bem semelhantes. Embora os resultados tenham sido semelhantes, inclusive superiores aos obtidos neste trabalho, as metodologias empregadas foram diferentes para o cálcio (Complexometria (BRASIL, 1999)) e ferro (Espectrofotometria de Absorção Atômica (AOAC, 2000)).

O teor médio de fósforo obtido experimentalmente (Tabela 4), através de Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES), segundo AOAC (2005), foi bastante superior ao citado por Scarlato e Gaspar (2007), utilizando-se técnica colorimétrica de Reação de Misson e leitura através de Espectrofotometria (MARA, 1992) (9.732,36 e 3.000,00 mg/100g de fósforo, respectivamente). Além das diferentes metodologias analíticas utilizadas, a amostra obtida neste experimento pode ter apresentado teor médio de fósforo superior por apresentar-se com menor teor de umidade, estando mais concentradas em cinzas e minerais, respectivamente.

Além das características minerais da farinha do casco, apresentando perfil adequado para ração animal, esta também pode ter seu uso indicado com fertilizante. Considerando a importância do fósforo para o solo e para a agricultura, o uso de resíduos de origem animal, que no passado eram utilizados no arraçamento animal, e atualmente, devido à Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) ou “Doença da Vaca Louca”, tendem a serem empregados na forma de farinhas, na produção de compostos para adubação de lavouras, em decorrência da sua elevada composição em cálcio e fósforo (SILVA, 2008), assim como a farinha elaborada neste trabalho, associada à possibilidade desta apresentar maior facilidade de decomposição no solo, graças ao seu teor lipídico reduzido (TEDESCO et al., 2008), é possível que esta seja bem empregada como adubo nas lavouras do Brasil, após realização de pesquisas comprobatórias nas áreas agrônômica e de ciências do solo. Vale ressaltar a importância da

adição de compostos ricos em fósforo nos solos brasileiros, que segundo Raij (1991), são carentes neste macronutriente, em decorrência da sua origem e da intensa interação que possuem com este mineral, que é considerado o nutriente mais limitante da produtividade de biomassa em solos tropicais (NOVAIS e SMYTH, 1999).

4.2 Composição centesimal das rações elaboradas para alimentação dos animais em ambas as fases experimentais

Os resultados médios obtidos nas análises de composição centesimal (%) ou (g/100g), teor de cálcio e ferro (mg/100g) e valor energético (kcal/100g) nas rações controle (RC), 50% reduzida em cálcio (RDCa), 50% reduzida em ferro (RDFe) e ração para repleção enriquecida com farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia (RFC), utilizadas experimentalmente, estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados médios e desvio padrão da composição centesimal, teores de cálcio e ferro e valor energético total das rações RC, RDCa, RDFe e RFC, utilizadas experimentalmente.

Parâmetros	Rações			
	RC	RDCa	RDFe	RFC
Umidade (%)	9,74 ^a (±0,08)	9,90 ^a (±0,26)	10,00 ^a (±0,06)	8,54 ^b (±0,22)
Proteínas (%)	16,83 ^b (±0,04)	16,56 ^c (0,09)	16,72 ^{bc} (±0,08)	20,19 ^a (±0,02)
Lipídios (%)	7,20 ^b (±0,02)	7,21 ^b (±0,04)	7,25 ^b (±0,06)	7,56 ^a (±0,04)
Carboidratos totais (%)	55,61 ^a (±1,86)	58,15 ^a (±0,98)	57,33 ^a (±0,93)	37,43 ^b (±0,71)
Cinzas (%)	2,07 ^b (±0,43)	1,80 ^b (±0,05)	2,05 ^b (±0,08)	20,17 ^a (±0,36)
Cálcio (mg/100g)	454,82 ^b (±2,02)	227,13 ^c (±5,21)	449,97 ^b (±15,20)	7380,83 ^a (±64,40)
Ferro (mg/100g)	4,10 ^b (±1,01)	4,09 ^b (±0,03)	2,08 ^c (±0,05)	8,56 ^a (±0,71)
Valor Energético Total (VET) (kcal/100g)	354,53 ^a (±7,22)	363,76 ^a (±3,92)	361,42 ^a (±3,79)	298,50 ^b (±2,56)

Na comparação dois a dois entre os tipos de rações, a mesma letra sobrescrita indica que os parâmetros médios na linha não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão. Os resultados representam as médias de três determinações.

Quanto à umidade das rações estudadas, a RFC diferiu significativamente ($p < 0,05$) das demais, apresentando menor teor médio (8,54%) comparada às demais. Este fato pode ter ocorrido devido à composição protéica da farinha do casco adicionada à ração RFC, conferindo maior elasticidade e textura homogênea durante o preparo, ao adicionar água quente. Essa característica permite o preparo da massa em batedeira Semco Hobart com quantidade de água inferior à utilizada nas demais rações (600 mL/kg ração), além de enrijecer mais rapidamente quando a mesma atinge temperatura ambiente, secando com maior facilidade, alcançando umidade final inferior às demais rações. Essa característica favorece a conservação da ração, pois reduz o risco de desenvolvimento de fungos, bem como a rancificação.

A ração RFC apresentou resultado médio significativamente superior em proteínas (20,19 %) ($p < 0,05$), comparada às demais rações, graças à troca parcial de caseína (12,50 g caseína/ 100 g ração) pela proteína oriunda da farinha do casco (30,30 g/ 100 g de ração) (Tabela 1), para balanceamento da sua composição. Este balanceamento foi realizado com a intenção de que todas as rações não diferissem significativamente em seu teor protéico entre si, porém constatou-se através de análises químicas e estatísticas que além da RFC, que diferiu significativamente das demais rações, as RC e RDCa também diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$) em relação ao teor protéico, embora numericamente a

diferença média obtida tenha sido pequena (16,83% e 16,56%, para RC e RDCa, respectivamente).

Quanto ao teor lipídico (%), a ração RFC diferiu significativamente ($p < 0,05$) das demais rações, apresentando teor médio ligeiramente superior (7,56%) às demais rações (Tabela 3), pois nessa utilizou-se a mesma quantidade de óleo de soja empregado nas demais formulações, acrescentando-se a farinha do casco, que contém teor lipídico médio de 0,64% (Tabela 2).

A ração RFC também diferiu significativamente das demais rações quanto ao seu teor de carboidratos, sendo este significativamente inferior ($p < 0,05$) ao obtido nas demais rações. Esta variação ocorreu graças à presença da farinha do casco em sua composição, ausente em carboidratos e cuja utilização ocasionou redução da quantidade de amido adicionada como ingrediente.

O valor energético total (VET) foi significativamente inferior na ração RFC (298,50 kcal/ 100g) comparado às demais rações ($p < 0,05$), reflexo da menor composição em carboidratos totais (%) desta ração, embora tenha demonstrado superioridade significativa ($p < 0,05$) quanto aos teores protéicos e lipídicos.

Quanto ao teor de cinzas, a ração RFC diferiu significativamente ($p < 0,05$) das demais rações, apresentando teor médio bastante superior (20,17%) às demais. Esta foi 11,20 vezes superior à ração RDCa e quase 10 vezes superior às rações RC e RDFe. O elevado teor de cinzas obtido na farinha do casco de *P. expansa* (Tabela 2) refletiu-se nos resultados obtidos para cálcio e ferro na ração enriquecida com a farinha de casco de *P. expansa* (RFC), que foram significativamente superiores ($p < 0,05$) aos obtidos nas demais rações.

De acordo com o planejado experimentalmente, as rações RC e RDFe não diferiram significativamente entre si, como esperado, pois ambas foram formuladas de acordo com a AIN-93 (REEVES et al., 1993), de modo que atendessem as necessidades de cálcio dos animais. A ração RDCa diferiu significativamente ($p < 0,05$) das demais, obtendo teor médio inferior próximo de 50% comparada às rações anteriormente citadas, como desejado. Já a ração contendo farinha do casco (RFC) diferiu significativamente, quanto ao seu teor de cálcio ($p < 0,05$), de todas as rações estudadas, apresentando-se bastante superior às demais (7380,83 mg/ 100g), em decorrência da alta quantidade de cálcio que compõem a farinha do casco.

Com relação ao ferro, o maior teor foi determinado na ração RFC (8,56mg/100g ração), diferindo significativamente ($p < 0,05$) das demais rações. As rações RC e RDCa não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si, como esperado, pois foram elaboradas para que suprissem todas as necessidades de ferro dos animais. A ração RDFe obteve teor de ferro aproximadamente 50% inferior às rações RC e RDCa, sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), conforme esperado, demonstrando a efetividade da depleção em minerais das rações produzidas neste experimento.

4.3 Dados obtidos na primeira fase do experimento no período de vida de 28 a 56 dias

4.3.1 Ganho de peso dos animais do grupo controle (GC), grupo depletado em cálcio (GDCa) e do Grupo depletado em ferro (GDFe)

O ganho de peso avaliado nos animais do grupo controle e dos grupos depletados no período de vida de 28 a 56 dias estão demonstrados na Figura 2.

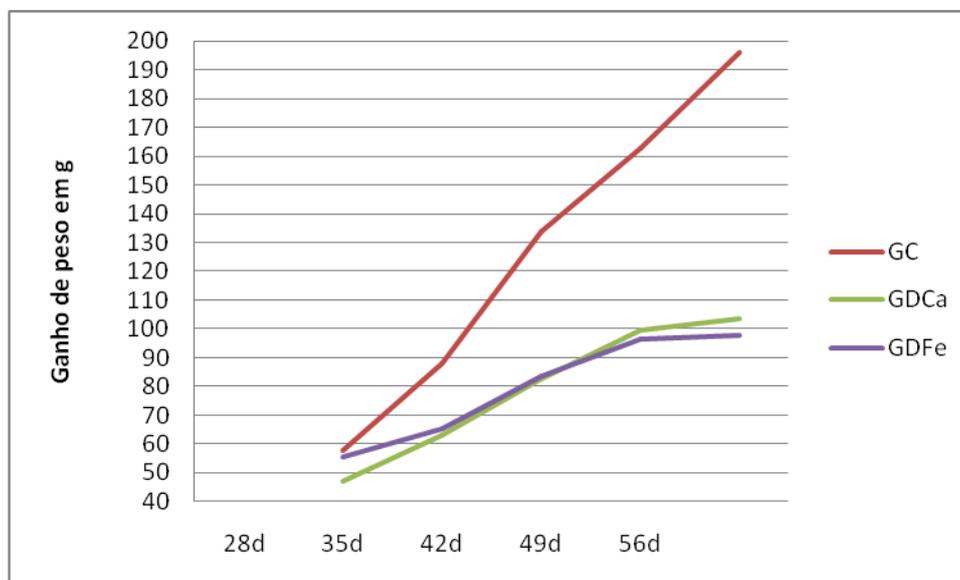


Figura 2. Ganho de peso dos animais dos grupos GC, GDCa e GDFe no período de vida de 28 a 56 dias.

As médias do ganho de peso total (GPT) e as médias dos consumos de ração total (CTR), proteínas (CTP) e energia (CTE) para os grupos controle (GC), depletado em cálcio (GDCa) e depletado em ferro (GDFe), durante a primeira etapa do experimento, estão demonstradas na Tabela 4.

Tabela 4. Médias do ganho de peso total e consumo total de ração, proteínas e energia dos animais dos grupos controle (GC), depletado em cálcio (GDCa) e depletado em ferro (GDFe).

Parâmetros avaliados	Grupos experimentais na primeira fase experimental (28 a 56 dias de vida)		
	GC	GDCa	GDFe
Ganho de peso total (g)	138,42 ^a (±40,34)	56,35 ^b (±4,46)	42,12 ^b (±7,81)
Consumo total de ração (g)	345,63 ^a (±39,29)	197,43 ^b (±1,70)	189,32 ^b (±10,42)
Consumo total de proteínas (g)	58,17 ^a (±6,61)	32,69 ^b (±0,28)	31,66 ^b (±1,74)
Consumo total de energia (kcal)	1225,37 ^a (±139,28)	718,18 ^b (±6,18)	684,23 ^b (±37,64)

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Os resultados representam as médias dos grupos aferidas no período estabelecido.

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na li são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tuk ($p < 0,05$).

Observando a Figura 2 e a Tabela 4, notamos que os animais dos GC, GDCa e GDFe ganharam peso ao longo do período. Avaliando estatisticamente o ganho de peso dos animais

(Tabela 4), verificamos que o GC obteve ganho de peso significativamente superior ($p < 0,05$) comparado aos grupos GDCa e GDFe. Porém, entre os grupos depletados não houve diferença significativa de ganho, embora numericamente o grupo GDCa tenha sido pouco superior ao grupo GDFe .

Os resultados obtidos já eram esperados, já que os animais do grupo GC alimentados com a ração RC, enriquecida com todos os nutrientes necessários ao seu crescimento (Tabela 1), *ad libitum*, tiveram suas necessidades protéicas, energéticas e em minerais supridas, enquanto os grupos GDCa e GDFe, além de receberem rações deficitárias em cálcio (RDCa) e em ferro (RDFe), respectivamente, recebiam a metade da quantidade de ração ofertada diariamente aos animais do GC, ocasionando déficit energético e protéico, resultando em menor ganho de peso e desenvolvimento dos animais em estudo. Assim como não houve diferença estatisticamente significativa de ganho de peso entre os grupos depletados (GDCa e GDFe), também não houve diferença significativa nos parâmetros consumo total de ração, consumo protéico total e consumo total de energia entre estes dois grupos. Porém, podemos observar, numericamente, o maior ganho de peso médio do grupo GDCa comparado ao grupo GDFe. Esta diferença pode estar associada ao seu superior consumo total de ração e, conseqüentemente, das maiores taxas de consumo de proteínas e calorias totais.

Além desses fatores, outro aspecto a ser considerado é a função que o ferro exerce sobre a proliferação celular e o crescimento (ROMANI e LIRA, 2004; MARTINS e HIROSE, 2010), sendo fundamental ao desenvolvimento dos animais. Esse fator pode ter participado da ocorrência do menor ganho de peso médio dos animais do grupo GDFe em comparação ao grupo GDCa, considerando o menor teor de ferro oferecido aos animais do grupo GDFe através da ração RDFe comparada à ração RDCa (Tabela 3).

O coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e o índice de crescimento (IC) médios dos animais dos grupos controle (GC), depletado em cálcio (GDCa) e depletado em ferro (GDFe), durante a primeira etapa do experimento estão demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5. Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e índice de crescimento (IC) dos animais dos grupos controle (GC) e grupos depletados em cálcio (GDCa) e em ferro (GDFe).

Grupos	CEA	IC
1ª fase experimental (28º ao 56º dia de vida)		
GC	0,39 ^a ($\pm 0,09$)	2,34 ^a ($\pm 0,49$)
GDCa	0,29 ^b ($\pm 0,02$)	1,72 ^b ($\pm 0,14$)
GDFe	0,22 ^b ($\pm 0,04$)	1,34 ^b ($\pm 0,26$)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na mesma coluna não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Estatisticamente, observa-se diferença significativa ($p < 0,05$) no CEA entre os grupos GC, GDCa e GDFe na primeira fase experimental. O GC obteve CEA médio superior aos grupos depletados, pois os animais receberam uma ração completa em nutrientes (RC) (Tabelas 1 e 3), suprimindo adequadamente suas necessidades nutricionais, diferentemente dos grupos depletados que ingeriram quantidade insatisfatória de proteínas e energia (Tabela 3). Comparando o grupo GDCa com o grupo GDFe, observamos que não houve diferença significativa entre seus Coeficientes de Eficiência Alimentar (CEA), embora numericamente o GDFe tenha apresentado CEA médio inferior (0,22) ao GDCa (0,29). Esta diferença pode ter ocorrido graças à maior importância do ferro no ganho de peso e desenvolvimento corpóreo (BOUGLÉ et al., 2000) comparada ao cálcio.

Observando a Tabela 5, verificamos que o índice de crescimento (IC), na primeira etapa do experimento (ratos com idades entre 28 a 56 dias de vida) foi significativamente superior ($p < 0,05$) nos ratos do GC, comparados aos grupos GDCa e GDFe. Entre os grupos depletados não houve diferença estatisticamente significativa, porém, o grupo GDFe obteve valor médio numericamente inferior ao grupo GDCa, já que o ferro é um micronutriente que atua na proliferação celular e na síntese protéica, cuja deficiência afeta os processos de crescimento e desenvolvimento dos indivíduos (MARTINS e HIROSE, 2010).

Segundo Friedman (1996) fontes protéicas com CEP inferior a 1,5, entre 1,5 e 2,0 e superior a 2,0 são consideradas de qualidade baixa ou pobre, intermediária e de alta ou boa qualidade, respectivamente. Aplicando estes conceitos ao presente estudo, na primeira etapa experimental, podemos dizer que a caseína, quando empregada como fonte protéica em rações para ratos em crescimento *ad libitum* (RC) e em rações RDCa e RDFe, sob depleção alimentar, classifica-se como proteína de alta (2,34), intermediária (1,72) e baixa qualidade (1,34), respectivamente. O consumo total de ração médio foi numericamente inferior no grupo GDFe comparado ao grupo GDCa, e conseqüentemente o consumo médio numérico de proteínas (g) e calorias (kcal) (Tabelas 3 e 4). Como o consumo total de ração do GC foi significativamente superior aos demais grupos da primeira etapa do experimento, seu consumo energético (kcal) e protéico (g) também foi significativamente superior ($p < 0,05$) aos grupos depletados, gerando maior ganho de peso total (Tabela 4) e índice de crescimento (IC) significativamente superior ($p < 0,05$) aos demais grupos na primeira fase experimental.

4.3.2. Resultados obtidos nas análises sanguíneas e sorológicas dos grupos de animais estudados para o cálcio na etapa de depleção.

Os resultados médios obtidos nas análises de sangue (hematócrito e hemoglobina) e de soro (colesterol, triglicerídeos, cálcio, ferro, fósforo, albumina e fosfatase alcalina) dos grupos de animais estudados para o cálcio na primeira fase experimental (período de depleção) estão descritos na Tabela 6. O grupo GDCa obteve hematócrito médio significativamente inferior ($p < 0,05$) (29,17%) ao grupo GC (38,00%) e abaixo do parâmetro citado por Harkness e Wagner (1993), que consideram como padrão a faixa entre 36 a 48%, demonstrando uma redução no número de hemácias e um estado inicial de anemia.

Tabela 6. Valores médios dos parâmetros sanguíneos Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Colesterol, Triglicerídeos, Cálcio sérico (Ca sérico), Ferro sérico (Fe sérico), Fósforo sérico (P sérico), Albumina e Fosfatase Alcalina obtidos nas análises sanguíneas dos grupos estudados para o cálcio (período de depleção).

Parâmetros	Controle 1	GDCa
Hematócrito (%)	38,00 ^a ($\pm 1,41$)	29,17 ^b ($\pm 7,91$)
Hemoglobina (g/dL)	12,61 ^a ($\pm 1,28$)	11,44 ^a ($\pm 2,23$)
Colesterol (mg/dL)	91,56 ^a ($\pm 11,14$)	90,86 ^a ($\pm 28,51$)
Triglicerídeos (mg/dL)	81,66 ^a ($\pm 8,71$)	59,29 ^b ($\pm 20,74$)
Ca sérico (g/dL)	11,22 ^a ($\pm 1,30$)	9,76 ^a ($\pm 1,23$)
Fe sérico ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	217,30 ^a ($\pm 27,95$)	165,30 ^b ($\pm 33,08$)
P sérico (mg/dL)	9,80 ^a ($\pm 0,89$)	11,00 ^a ($\pm 1,58$)
Albumina (g/dL)	4,34 ^a ($\pm 0,33$)	3,90 ^a ($\pm 0,49$)
Fosfatase Alcalina (U/L)	100,20 ^a ($\pm 16,21$)	110,24 ^a ($\pm 19,46$)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na linha não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

O GC encontra-se dentro da normalidade segundo Harkness e Wagner (1993) e FMUSP (2004), conforme esperado. O grupo controle apresentou níveis de hemoglobina (12,61g/dL) dentro da normalidade, segundo parâmetros propostos por Harkness e Wagner (1993) e Ringler e Dalbich (1979). O grupo GDCa apresentou teor médio de hemoglobina (11,44 g/dL) dentro do estado de normalidade proposto por Ringler e Dalbich (1979) (11,4 a 19,2 g/dL) e Harkness e Wagner (1993) (11,0 a 18,0 g/dL), não havendo diferença estatisticamente significativa entre eles, embora o teor médio de hemoglobina do GDCa tenha sido numericamente inferior ao GC. Segundo Kushner (1993), a anemia ferropriva ocorre quando a hemoglobina encontra-se abaixo do limite inferior da normalidade. Neste caso, segundo os parâmetros citados por Ringler e Dalbich (1979) e Harkness e Wagner (1993), os animais depletados em cálcio (GDCa) não estão apresentando anemia ferropriva, conforme era esperado. A hemoglobina média numericamente inferior encontrada no GDCa, comparada ao GC, pode estar diminuída devido ao déficit calórico e protéico aos quais os animais do GDCa foram submetidos (PAIVA et al., 2000), ingerindo quantidade de ração significativamente inferior ao GC (Tabela 4). A redução do teor de hemoglobina em aproximadamente 20% ocorre na desnutrição protéico-energética como uma adaptação do organismo à diminuição do tecido muscular (WARRIER et al., 1990).

O nível de colesterol sérico não diferiu significativamente entre os grupos GC e GDCa, na primeira etapa do experimento, apresentando-se em conformidade com os parâmetros citados por Harkness e Wagner (1993) (40,0 a 130,0 mg/dL). Porém, baseando-se em Mitruka e Rawnsley (1977) (10 a 54 mg/dL) e FMUSP (2004) (50 a 61 mg/dL), estes se encontram acima da normalidade. Estas diferenças nos parâmetros encontradas na literatura podem ter sido ocasionadas por uma série de fatores, considerando-se que os animais experimentais não se comportam da mesma maneira nas diferentes condições a que são submetidos, nos diferentes países onde são mantidos em cativeiro, sendo influenciados por fatores ecológicos característicos de cada latitude geográfica do planeta (CARVALHO et al., 2009). Considerando o colesterol total obtido do soro de ratos machos Wistar, alimentados com ração elaborada com o mesmo teor e fonte lipídica deste experimento (7% de óleo de soja), verificamos superioridade nos níveis de colesterol presentes nos GC e GDCa, comparado ao obtido por Morais et al. (2003) (73,10 mg/dL). Os GC e GDCa também foram superiores em colesterol total médio comparados aos ratos saudáveis estudados por Soares et al. (2000) (58,19 mg/dL). Os GC e GDCa apresentaram teores de colesterol médio (91,56 e 90,86 mg/dL, respectivamente) mais próximos dos obtidos por Silva (2010), em ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica (93,2 mg/dL) e Machado et al. (2003) (95,4 e 94,00 mg/dL), para ratos em crescimento no primeiro dia do experimento e alimentados durante 14 dias com ração AIN-93G modificada, contendo 3,5% de gordura hidrogenada em substituição parcial ao óleo de soja, respectivamente.

Os valores médios de triglicerídeos no grupo GDCa (59,29 mg/dL) foram significativamente inferiores ($p < 0,05$) aos obtidos no grupo GC (81,66 mg/dL), provavelmente devido à redução no consumo alimentar de modo geral (proteínas, calorias e lipídeos) no grupo depletado. Em estudo realizado por Ramos (2006), o grupo de animais desnutridos que recebeu 60% do que era consumido pelo grupo controle normonutrido também foi significativamente inferior (45,00 mg/dL) à ele (84,36 mg/dL), sendo esta ocorrência justificada pelo autor como decorrente da deficiência calórica do grupo desnutrido, impedindo o aumento sérico de triglicerídeos à níveis próximos dos observados nos animais normonutridos. De acordo com FMUSP (2004), os GC e GDCa encontram-se normais para a dosagem sérica de triglicerídeos (50,0 a 88,0 mg/dL).

Observando a Tabela 6, verificamos que o grupo GDCa obteve teor médio de cálcio sérico inferior ao grupo GC, demonstrando assim a ocorrência da depleção em cálcio, embora a diferença entre eles não tenha sido significativa. Considerando os parâmetros citados por

FMUSP (2004) para cálcio sérico (10,60 a 11,00 mg/dL), o GDCa encontra-se abaixo dos limites de normalidade estabelecidos, reforçando que o objetivo da primeira etapa experimental, de depletar o GDCa neste macronutriente foi atingido. Entretanto em estudos relatados por Mitruka e Rawnsley (1977), o GDCa encontra-se dentro dos parâmetros normais para cálcio sérico (7,20 a 13,90 mg/dL), assim como o GC. Podemos observar que há uma variação quanto aos parâmetros sanguíneos descritos na literatura para ratos.

Quanto ao teor médio de ferro sérico, o GDCa apresentou-se dentro dos limites de normalidade citados por FMUSP (2004) (154 a 279 µg /dL), embora tenha sido estatisticamente inferior ($p < 0,05$) ao grupo controle, demonstrando a ocorrência de depleção em ferro no GDCa. A melhor condição do ferro no organismo dos animais do grupo depletado em cálcio, comparado ao grupo que sofreu depleção do ferro (Tabela 8), deve-se ao fato da ração ofertada ao grupo depletado em cálcio não ter sofrido alteração nos níveis de ferro, estando de acordo com a AIN-93 (REEVES et al., 1993). O fato desta ter sido ofertada em quantidade inferior gerou um estado inicial de deficiência de ferro, porém inferior ao ocorrido no grupo depletado em ferro, conforme esperado.

Quanto ao fósforo sérico, o grupo GDCa foi superior ao grupo GC, embora a diferença entre eles não tenha sido significativa. Ambos apresentam-se de acordo com os parâmetros propostos por Mitruka e Rawnsley (1977) (3,1 a 11,0 mg/dL) e FMUSP (2004) (8,5 a 19,1 mg/dL).

Também não houve diferença significativa entre os teores médios de fosfatase alcalina obtidos pelos GC e GDCa, embora o GDCa tenha obtido teor médio pouco superior ao GC na primeira etapa experimental. Ambos apresentaram-se em conformidade com os limites estabelecidos por Mitruka e Rawnsley (1977) (56,8 a 128,0 U/L) e FMUSP (2004) (78 a 292,0 U/L).

A superioridade nos teores médios de fósforo e fosfatase alcalina no GDCa (11,00 mg/dL e 110,24 U/L, respectivamente) comparada ao GC (9,80 mg/dL e 100,20 U/L), associada ao menor teor médio de cálcio sérico no GDCa (9,76 g/dL) em comparação ao GC (11,22 g/dL) demonstra a ocorrência de deficiência de cálcio no GDCa, com reabsorção óssea como tentativa de manter os níveis de cálcio sérico controlados (WARNOCK, 1997). Nessa situação é provável que os níveis do hormônio Paratormônio (PTH), secretado pelas glândulas paratireóides, estejam elevados, sugerindo a ocorrência de osteólise e aumento da liberação de cálcio e fósforo ósseos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

Quanto aos teores de albumina média obtidos, o GDCa (3,90 g/ dL) foi inferior ao GC (4,34 g/dL) na primeira etapa experimental, embora não exista diferença estatística entre eles. O menor teor de médio de albumina sérica encontrado no GDCa, comparado ao obtido no GC pode ter ocorrido graças à restrição protéica durante o período de crescimento (Tabela 4), na qual o GDCa foi submetido, pois segundo Oliveira e Angelis (2001) a restrição protéica acarreta a diminuição do teor de albumina sérica. Os GC e GDCa apresentaram-se dentro dos parâmetros de normalidade para albumina sérica citados por Mitruka e Rawnsley (1977) (2,7 a 5,1 g/dL) e Harkness e Wagner (1993) (3,8 a 4,8 g/dL) e acima do limite máximo estabelecido por FMUSP (2004) (3,7 g de albumina/dL soro).

4.3.3. Comportamento alimentar dos grupos de animais estudados na primeira fase experimental (28 a 56 dias de vida) quanto ao cálcio.

Na Tabela 7, podemos observar o Consumo de ração (g), cálcio ingerido (mg), cálcio excretado (mg) e o Coeficiente de Digestibilidade Aparente do Cálcio (CDA Ca) (%) médios dos grupos de animais estudados referentes ao cálcio durante quatro dias consecutivos, na primeira fase experimental (28 a 56 dias de vida).

Tabela 7. Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (CaE) (mg) e Coeficiente de Digestibilidade Aparente do Cálcio (CDA Ca) (%) nos grupos controle (GC) e depletado em cálcio (GDCa), na primeira fase do experimento.

Grupo	CR (g)	CaI (mg)	CaE (mg)	CDA Ca (%)
GC	14,80 ^a (±5,50)	67,40 ^a (±25,20)	38,00 ^a (±16,60)	44,86 ^b (±8,61)
GDCa	7,00 ^b (±0,00)	15,90 ^b (±0,00)	1,72 ^b (±1,73)	89,18 ^a (±10,91)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na mesma coluna não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Podemos verificar que o Coeficiente de digestibilidade aparente médio do cálcio no GDCa (89,18%) foi quase duas vezes superior ao obtido no grupo GC (44,86%). Essa diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos pode ser explicada baseando-se no trabalho de Boron (2004) que na ocorrência de menor disponibilidade de cálcio, há uma tendência à redução do balanço, com maior retenção do mineral para manutenção da homeostase. Neste caso, realmente existe menor disponibilidade de cálcio no GDCa comparado ao GC (15,90 mg e 67,40 mg de cálcio ingerido, respectivamente), sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Apesar da tentativa de manutenção da homeostase em cálcio pelo GDCa, através do aumento do coeficiente de digestibilidade aparente do macronutriente (CDA Ca), devido a redução da sua excreção através das fezes, o GDCa sofreu depleção em cálcio, conforme observa-se na Tabela 6 (redução dos níveis séricos de cálcio e aumento dos níveis de fósforo sérico e fosfatase alcalina, em comparação ao GC).

4.3.4. Resultados obtidos nas análises sanguíneas e sorológicas dos animais estudados para o ferro na etapa de depleção.

Os resultados médios obtidos nas análises de sangue (hematócrito e hemoglobina) e de soro (colesterol, triglicérides, cálcio, ferro, fósforo, albumina e fosfatase alcalina) dos grupos de animais estudados para o ferro na primeira fase experimental (período de depleção) estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8. Valores médios dos parâmetros sanguíneos Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Colesterol, Triglicerídeos, Cálcio sérico (Ca sérico), Ferro sérico (Fe sérico), Fósforo sérico (P sérico), Albumina e Fosfatase Alcalina obtidos nas análises sanguíneas dos grupos estudados para o ferro (período de depleção), na primeira fase experimental.

Parâmetros	Fase experimental 1	
	Controle 1	Depletado em ferro
Hematócrito (%)	38,00 ^a (±1,41)	32,33 ^a (±13,11)
Hemoglobina (g/dL)	12,61 ^a (±1,28)	10,08 ^a (±3,98)
Colesterol (mg/dL)	91,56 ^b (±11,14)	166,68 ^a (±74,64)
Triglicerídeos (mg/dL)	81,66 ^a (±8,71)	50,74 ^b (±18,12)
Ca sérico (g/dL)	11,22 ^a (±1,30)	10,55 ^a (±1,51)
Fe sérico (µg /dL)	217,30 ^a (±27,95)	101,25 ^b (±55,92)
P sérico (mg/dL)	9,80 ^a (±0,89)	9,45 ^a (±0,73)
Albumina (g/dL)	4,34 ^a (±0,33)	3,66 ^b (±0,43)
Fosfatase Alcalina (U/L)	100,20 ^a (±16,21)	95,26 ^a (±13,52)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na linha não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Quanto aos parâmetros hematócrito e hemoglobina séricos, não foram observadas diferenças significativas entre os GC e GDFe. Porém, o hematócrito apresentou-se abaixo da normalidade no GDFe, segundo Harkness e Wagner (1993), que consideram como padrão a faixa entre 36 a 48%, representando uma redução no número de hemácias, caracterizando o estado de anemia. Além disso, a hemoglobina também se apresentou reduzida, comparada à faixa de normalidade citadas por Harkness e Wagner (1993) (11,0 a 18,0g/dL) e Ringler e Dabich (1979) (11,4 a 19,2 g/dL), confirmando o estado de anemia ferropriva, segundo Kushner no GDFe (1993).

Os níveis médios de ferro sérico (µg/dL) obtidos também confirmam o sucesso da depleção em ferro do grupo GDFe (101,25 µg/dL), valor significativamente inferior ($p < 0,05$) ao obtido pelo GC na mesma etapa experimental (217,30 µg/dL), correspondente a uma redução de 46,6%. O GDFe obteve ferro abaixo do limite citado por FMUSP (2004) (154 a 279 µg/dL). Esses dados confirmam a efetividade da depleção do micronutriente, conforme desejado, na primeira fase deste trabalho.

O nível de colesterol sérico diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) entre os grupos GC e GDFe, sendo este significativamente superior (166,68 mg/dL) ao GC (91,56 mg/dL). O GC obteve colesterol médio dentro da normalidade, segundo Harkness e Wagner (1993) (40,0 a 130,0 mg/dL), porém acima dos parâmetros citados por Mitruka e Rawnsley (1977) (10 a 54 mg/dL) e FMUSP (2004) (50 a 61 mg/dL), assim como o GDFe. Considerando o colesterol total obtido do soro de ratos machos Wistar, alimentados com ração elaborada com o mesmo teor e fonte lipídica deste experimento (7% de óleo de soja), verificamos superioridade nos níveis de colesterol presentes nos GC e GDFe, comparado ao obtido por Morais et al. (2003) (73,10 mg/dL). Os GC e GDFe também foram superiores em colesterol total médio comparados ao ratos sadios estudados por Soares et al. (2000) (58,19 mg/dL). O GC obteve teor de colesterol médio (91,56 mg/dL) mais próximo do obtidos por Silva (2010), em ratos alimentados com dieta hipercolesterolêmica (93,2 mg/dL) e Machado et al. (2003) (95,4 e 94,00 mg/dL), para ratos em crescimento no primeiro dia do experimento e alimentados durante 14 dias com ração AIN-93G modificada, contendo 3,5% de gordura hidrogenada em substituição parcial ao óleo de soja, respectivamente.

O GDFe apresentou-se hipercolesterolêmico. Em humanos, existem citações referentes à hipercolesterolemia como alteração metabólica observada em pacientes com transtornos alimentares, como anorexia nervosa (ASSUMPÇÃO e CABRAL, 2002), decorrente da redução dos níveis de Tiroxina e da globulina carreadora de colesterol, associada ou não à redução da excreção fecal de colesterol (MITCHELL, 1983).

O valor médio de triglicerídeos no grupo GDFe (50,74 mg/dL) foi significativamente inferior ($p < 0,05$) ao obtido pelo grupo GC (81,66 mg/dL), provavelmente devido a redução no consumo alimentar de modo geral (proteínas, calorias e lipídeos) no grupo depletado. Segundo Ramos (2006), o grupo de animais desnutridos que recebeu 60% do que era consumido pelo grupo controle, que ingeria ração *ad libitum*, também obteve teor médio de triglicerídeos significativamente inferior (45,00 mg/dL) ao GC (84,36 mg/dL), sendo esta ocorrência justificada pelo autor como consequência da deficiência calórica do grupo desnutrido, impedindo o aumento sérico de triglicerídeos. Podemos observar uma similaridade entre os resultados obtidos por Ramos (2006) e os encontrados neste trabalho. De acordo com FMUSP (2004), os GC e GDFe encontram-se dentro da faixa de normalidade para triglicerídeos séricos (50,0 a 88,0 mg/dL).

Não houve diferença significativa entre os GC e GDFe para a variável cálcio sérico. Ambos encontram-se dentro da faixa de normalidade proposta por Mitruka e Rawnsley (1977) (7,2 a 13,9 mg/dL) e FMUSP (2004) (10,6 a 11 mg/dL). Porém, podemos observar na Tabela 8 que o GDFe é numericamente inferior ao GC para cálcio sérico, demonstrando uma redução do nível de cálcio no soro do GDFe decorrente da menor ingestão de ração (Tabela 4) comparada ao GC, que teve seu consumo *ad libitum*.

Quanto aos teores de albumina sérica obtidos, o GDFe (3,66 g/dL) foi significativamente inferior ($p < 0,05$) ao GC (4,34 g/dL). O GC obteve teor médio de albumina dentro da normalidade, segundo Harkness e Wagner (1993) (3,8 a 4,8 g/dL), enquanto o GDFe apresentou-se inferior ao limite estabelecido por este autor. Entretanto, segundo Mitruka e Rawnsley (1977), que estabeleceram a faixa de normalidade para albumina sérica entre 2,7 a 5,1 g/dL, podemos considerar que ambos os grupos apresentaram resultados adequados para este parâmetro. O menor teor de médio de albumina sérica encontrado no GDFe, comparado ao obtido no GC pode ter ocorrido graças à restrição protéica durante o período de crescimento (Tabela 4), na qual o GDCa foi submetido, pois segundo Oliveira e Angelis (2001) a restrição protéica acarreta na diminuição do teor de albumina sérica. Diversos estudos têm demonstrado os efeitos negativos da deficiência protéica no parâmetro albumina sérica, quando as determinações são realizadas após certo período de deficiência em proteínas na dieta (MALAFAIA et al., 2009).

A fosfatase alcalina encontra-se dentro da normalidade, segundo Mitruka e Rawnsley (1977) (56,8 a 128,0 U/L) e FMUSP (2004) (78 a 292 U/L) para os GC e GDFe, não havendo diferença significativa entre eles. Porém, o GDFe apresentou-se inferior (95,26 U/L) comparado ao GC (100,20 U/L). Segundo Henry (2008), a redução dos níveis séricos de fosfatase alcalina é sugestiva de má nutrição e anemias severas, situação confirmada através dos demais dados laboratoriais.

O fósforo sérico entre os GC e GDFe também não foi significativamente diferente, sendo que o GDFe foi pouco inferior (9,45 mg/dL) ao GC (9,80 mg/dL). Ambos encontram-se dentro dos parâmetros de normalidade propostos por Mitruka e Rawnsley (1977) (3,1 a 11,0 mg/dL) e FMUSP (2004) (8,5 a 19,1 mg/dL).

4.3.5. Comportamento alimentar dos grupos de animais estudados na primeira fase experimental (28 a 56 dias de vida) quanto ao ferro.

O Consumo de ração (g), ferro ingerido (mg), ferro excretado (mg) e Coeficiente de Digestibilidade Aparente do Ferro (CDA Fe) (%) médios dos grupos de animais estudados referentes ao ferro na primeira fase experimental (28 a 56 dias de vida), durante quatro dias consecutivos, estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) nos grupos controle e depletado em ferro, na primeira fase do experimento (28 a 56 dias).

Grupo	CR (g)	FeI (mg)	FeE (mg)	CDA Fe (%)
GC	14,80 ^a (±5,50)	0,60 ^a (±0,20)	0,50 ^a (±0,20)	17,72 ^a (±9,54)
GDFe	6,69 ^b (±0,66)	0,14 ^b (±0,01)	0,11 ^b (±0,03)	25,43 ^a (±11,47)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na mesma coluna não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Quanto ao CDA Fe não houve diferença significativa entre o GC e GDFe, embora o GDFe tenha apresentado CDA Fe superior (25,43%) ao GC (17,72%). Esta diferença numérica ocorreu em decorrência da menor ingestão de ferro no GDFe (0,14 mg) comparada ao GC (0,60 mg), aumentando a absorção intestinal do ferro pelo GDFe. Segundo Carvalho et al. (2006), quando os níveis de ferro absorvidos pela dieta são adequados, a mucosa intestinal regulariza sua absorção para valores entre 5 a 10% do ferro ingeridos ao dia, para manutenção da homeostase de ferro do organismo. Neste trabalho, observamos que o GC, que recebeu dieta adequada em ferro (Tabela 1) *ad libitum*, ingerindo maiores concentrações de ferro comparado ao GDFe, apresentou menor coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe), comparado ao grupo GDFe.

Kushner (1993) e Cançado e Chiattonne (2002) relataram que em situações de deficiência de ferro, a absorção do mineral pode aumentar de 10 a 20%, ou até 30% e de 25 a 50% se as reservas de ferro do organismo estiverem depletadas ou em eritropoiese acelerada. No GDFe, a absorção aumentou em comparação ao GC, alcançando valor próximo de 25%. Apesar do aumento da absorção de ferro pelo GDFe, os ratos deste grupo não conseguiram manter a homeostase corporal deste mineral, já que apresentaram-se com anemia ferropriva (hematócrito, hemoglobina e ferro séricos abaixo dos limites de normalidade) (Tabela 8).

4.4. Dados obtidos na segunda fase do experimento (período entre o 56^o e o 105^o dia de vida)

4.4.1. Avaliação do ganho de peso total dos animais repletados em cálcio e ferro alimentados com ração controle (RC) e ração enriquecida com farinha do casco (RFC)

O ganho de peso avaliado nos animais do grupo controle e dos grupos repletados na segunda fase experimental, correspondente ao 56^o ao 105^o dia de vida estão demonstrados na Figura 3.

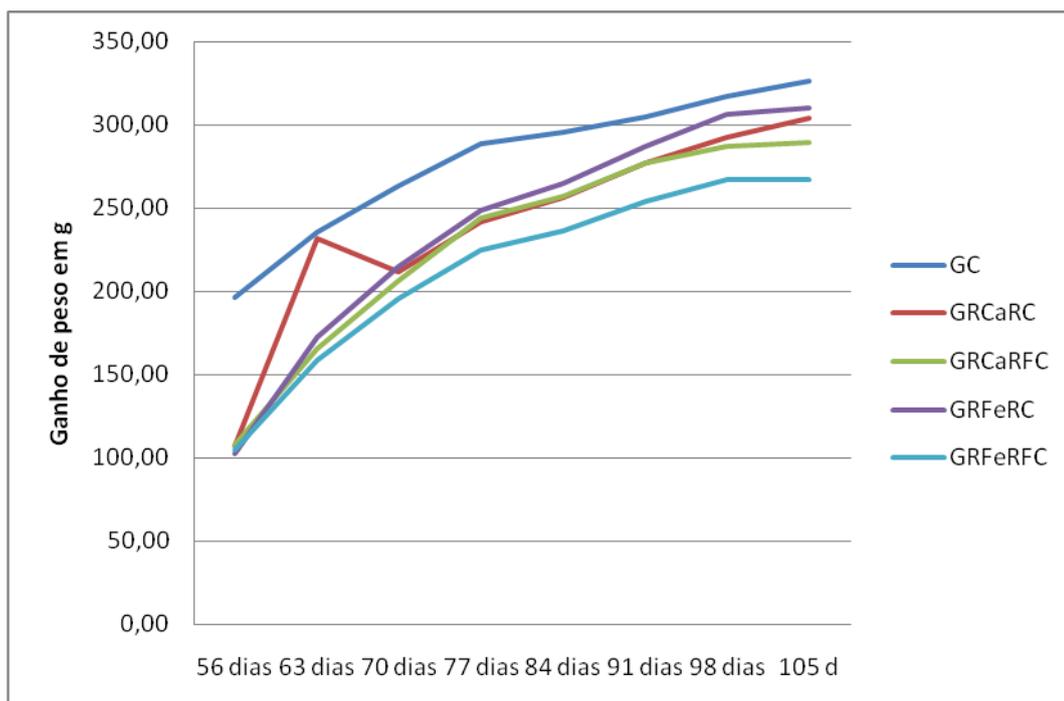


Figura 3. Ganho de peso dos animais dos GC, GRCaRC, GRCaRFC, GRFeRC e GRFeRFC no período entre o 56º ao 105º dia de vida.

As médias do ganho de peso total (GPT) e as médias dos consumos de ração total (CTR), proteínas (CTP) e energia (CTE) para os animais dos grupos GC, grupos repletados em cálcio ingerindo ração controle (GRCaRC) e ração contendo farinha de casco (GRCaRFC) e repletados em ferro ingerindo ração controle (GRFeRC) e ração contendo farinha de casco (GRFeRFC), durante a segunda etapa do experimento estão demonstrados na Tabela 10.

Tabela 10. Ganho médio de peso total (GPT) e consumo total de ração (CTR), de proteínas (CTP) e energia (CTE) nos animais dos grupos controle (GC), grupos repletados em cálcio ingerindo ração controle (GRCaRC) e ração contendo farinha de casco (GRCaRFC) e repletados em ferro ingerindo ração controle (GRFeRC) e ração contendo farinha de casco (GRFeRFC).

Parâmetros avaliados	Grupos na segunda fase experimental (56º ao 105º dia de vida)				
	GC	GRCaRC	GRCaRFC	GRFeRC	GRFeRFC
GPT (g)	130,20 ^a (±107,86)	196,43 ^a (±48,55)	181,08 ^a (±21,45)	207,67 ^a (±25,60)	162,15 ^a (±12,13)
CTR (g)	768,87 ^a (±208,50)	849,67 ^a (±110,77)	868,45 ^a (±73,23)	777,55 ^a (±90,10)	811,40 ^a (±59,14)
CTP (g)	129,40 ^b (±35,09)	143,00 ^{ab} (±18,64)	175,34 ^a (±14,78)	130,86 ^b (±15,16)	163,82 ^{ab} (±11,94)
CTE (kcal)	2725,86 ^a (±739,18)	3012,32 ^a (±392,70)	2592,32 ^a (±218,60)	2756,65 ^a (±319,42)	2422,03 ^a (±176,54)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na linha não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão. Os resultados representam as médias de três determinações.

De acordo com a Figura 3 os animais de ambos os grupos ganharam peso ao longo do período estabelecido, entretanto, os animais dos grupos repletados atingiram peso final inferior ao GC.

De acordo com a Tabela 10, o consumo médio de ração foi numericamente superior nos grupos repletados em comparação ao GC (768,87g), com consequente maior ganho de peso vivo médio dos animais, como mecanismo compensatório após período de depleção alimentar. Avaliando estatisticamente o ganho de peso dos animais (g), na segunda fase experimental observamos que não houve diferença significativa entre os grupos, demonstrando que todos ganharam peso de forma semelhante na segunda fase deste trabalho, embora o ganho de peso médio dos grupos tenha sido numericamente diferente (130,20 g, 196,43 g e 181,08 g, 207,67 g e 162,15 g para os grupos GC, GRCaRC, GRCaRFC, GRFeRC e GRFeRFC, respectivamente).

Observamos na Figura 3, que o peso final dos grupos repletados que ingeriram ração controle (GRFeRC e GRCaRC) foram superiores comparados aos mesmos grupos repletados que ingeriram ração contendo farinha de casco (GRCaRFC e GRFeRFC), embora estatisticamente não exista diferença significativa para o consumo total de ração entre os grupos na segunda fase experimental (Tabela 10). Dentre estes dois últimos grupos citados, o que obteve menor peso final ao término da segunda fase experimental foi o GRFeRFC devido a baixa qualidade protéica da ração contendo farinha de casco, que embora seja quantitativamente superior em proteínas comparada à ração controle (RC) (Tabela 3), sofreu parcial substituição da caseína pela proteína da farinha de casco, cuja fração protéica está relacionada à uma proteína de qualidade baixa à pobre (FRIEDMAN, 1996), conforme observamos na Tabela 11, através do cálculo do índice de crescimento (IC), além da maior exigência de ferro biodisponível pelo GDFe comparado ao GDca, decorrente da maior depleção neste micronutriente no grupo que sofreu prévia depleção em ferro (Tabelas 6 e 8).

Embora os grupos repletados que ingeriram ração enriquecida com a farinha de casco (RFC) tenham apresentado maior consumo médio numérico de ração, comparados aos seus respectivos grupos que ingeriram ração controle durante a repleção, seus ganhos de peso médio obtidos foram inferiores (Tabela 10).

O menor ganho de peso médio obtido nos grupos repletados que ingeriram a RFC comparados aos que receberam a RC ocorreu em decorrência da menor qualidade protéica da RFC, que sofreu troca parcial da caseína pela farinha de casco como fonte protéica. Embora o consumo total de proteínas pelos grupos repletados que ingeriram a RFC tenha sido superior, a qualidade da fração protéica da RFC é classificada como de baixa à pobre, segundo (FRIEDMAN, 1996), obtendo índices de crescimento (IC) inferiores a 1,50 (Tabela 11).

O consumo total de proteínas na segunda fase experimental foi significativamente superior ($p < 0,05$) no GRCaRFC, em função do maior consumo total de ração deste grupo e maior teor protéico significativo da RFC, diferindo significativamente dos GC e GRFeRC, que por sua vez não diferiram significativamente entre si e entre os GRCaRC e GRFeRFC. Além disso, a RC apresentou maior teor calórico (354,53 kcal/ 100g) comparada à ração RFC (298,50 kcal/100g), em decorrência de seu maior teor em carboidratos (Tabela 3), embora seja inferior em proteínas, lipídios e cinzas. Porém, o consumo energético total (em kcal), não variou significativamente entre os grupos (Tabela 10), devido ao consumo superior de ração nos grupos repletados que ingeriram a RFC, menos calórica (Tabela 3), como mecanismo compensatório de aumento de consumo, fazendo com que esses grupos tivessem uma ingestão quantitativa de ração superior aos demais. Segundo Andriquetto et al. (1989), os monogástricos regulam seu consumo de ração de acordo com suas exigências energéticas, aumentando ou reduzindo a quantidade de ração ingerida de acordo com o valor energético da dieta. Mas mesmo com esse mecanismo compensatório, os grupos repletados que ingeriram ração controle (GRCaRC e GRFeRC) tiveram consumo total de energia numericamente

superiores aos seus respectivos grupos repletados com a RFC (GRCaRFC e GRFeRFC, respectivamente).

O consumo total de proteínas na segunda fase experimental foi significativamente superior ($p < 0,05$) no GRCaRFC, em função do maior consumo total de ração deste grupo e maior teor protéico significativo da RFC, diferindo significativamente dos grupos controle (GC) e repletado em ferro que ingeriu a ração controle (GRFeRC), que por sua vez não diferiram estatisticamente entre si e entre os GRCaRC e GRFeRFC, ao nível de 5% de significância.

As médias do Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e índice de crescimento (IC) dos animais dos grupos controle (GC) e grupos repletados em cálcio e ferro alimentados com os diferentes tipos de ração estão demonstrados na Tabela 11.

Tabela 11. Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e índice de crescimento (IC) dos animais dos grupos controle (GC) e grupos repletados em cálcio ingerindo ração controle (GRCaRC) e ração contendo farinha de casco (GRCaRFC) e grupos repletados em ferro ingerindo ração controle (GRFeRC) e ração contendo farinha de casco (GRFeRFC).

Grupos	CEA	IC
GC	0,22 ^a ($\pm 0,21$)	1,28 ^a ($\pm 1,25$)
GRCaRC	0,23 ^a ($\pm 0,03$)	1,36 ^a ($\pm 0,20$)
GRCaRFC	0,21 ^a ($\pm 0,01$)	1,03 ^a ($\pm 0,06$)
GRFeRC	0,27 ^a ($\pm 0,03$)	1,59 ^a ($\pm 0,16$)
GRFeRFC	0,20 ^a ($\pm 0,01$)	0,99 ^a ($\pm 0,04$)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na mesma coluna não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Em relação ao CEA, não houve diferença significativa entre os grupos nesta segunda fase experimental. Porém, numericamente, observamos que os grupos que sofreram prévia depleção em cálcio e ferro e receberam a ração enriquecida com a farinha de casco (GRCaRFC e GRFeRFC) apresentaram coeficiente de eficiência alimentar inferior àqueles que receberam a ração controle (GRCaRC e GRFeRC). O pior coeficiente de eficiência alimentar ocorreu no grupo repletado em ferro que ingeriu a ração contendo a farinha de casco (GRFeRFC) (0,20), por ter tido o menor consumo de energia total (kcal) dentre os grupos (Tabela 10) e pela proteína da farinha de casco, que compõem a ração RFC ser de baixo valor biológico, além do ferro, bastante requerido por esse grupo em função da depleção sofrida previamente, apresentar baixa digestibilidade aparente, sendo na sua maioria excretado através das fezes (Tabela 15).

O melhor resultado foi obtido no grupo repletado em ferro ingerindo ração controle (GRFeRC) (0,27), inclusive superior ao GDFe (0,22) (Tabela 5), demonstrando a efetividade da ração controle (RC) na recuperação do peso dos animais em função da qualidade da ração ingerida.

Com exceção do GRFeRC, que obteve CEA mais elevado, os demais grupos da segunda fase experimental (105 dias de vida) obtiveram CEA inferior aos grupos da primeira etapa do experimento (56 dias de vida), em função da diferente faixa etária dos animais.

O Índice de crescimento (IC), obtido em função da variação de peso corporal dos grupos de animais, como reflexo global da proteína ingerida (ANGELIS, 1995) não variou significativamente entre os grupos estudados na segunda fase experimental.

Aplicando os conceitos citados por Friedman (1996), em função dos resultados obtidos, podemos classificar as proteínas que compõem a ração controle (RC) nos GC e

GRCaRC como de qualidade protéica baixa ou pobre (IC inferior a 1,5), assim como a ração contendo farinha de casco (RFC) nos GRCaRFC e GRFeRFC. Já a ração controle (RC) no grupo repletado em ferro ingerindo ração controle (GRFeRC) foi classificada como uma ração contendo fração protéica de qualidade intermediária (IC com valor entre 1,5 e 2,0), em função da depleção protéica e do mineral, segundo Friedman (1996).

Na segunda etapa do experimento, os ratos repletados em cálcio ingerindo ração controle (GRCaRC) obtiveram IC médio superior (1,36) aos ratos do grupo controle (GC), nesta mesma etapa (1,28), sendo ambos numericamente superiores quando comparados ao grupo repletado em cálcio ingerindo ração contendo farinha de casco de (GRCaRFC) (1,03), porém sem diferença significativa entre eles. Na segunda fase experimental, o grupo repletado em ferro ingerindo ração controle (GRFeRC) obteve IC médio superior (1,59) ao grupo controle nesta etapa (GC) (1,28), sendo esta diferença não significativa. O grupo repletado em ferro ingerindo ração contendo farinha de casco (GRFeRFC) foi numericamente inferior (0,99) aos grupos repletado em ferro ingerindo ração controle (GRFeRC) (1,59) e ao grupo controle (GC) (1,28) entre o 56º e o 105º dia de vida, sendo esta diferença não significativa.

A proteína da farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia, quando empregada substituindo parcialmente a caseína em rações para ratos em período de repleção em cálcio (GRCaRFC) e em ferro (GRFeRFC), obteve os menores índices de crescimento do experimento (1,03 e 0,99, respectivamente), demonstrando apresentar digestibilidade inferior à caseína utilizada como única fonte protéica para ratos.

4.4.2. Resultados obtidos nas análises sanguíneas e sorológicas dos grupos de animais estudados para o cálcio na etapa de repleção.

Os resultados médios obtidos nas análises de sangue (hematócrito e hemoglobina) e de soro (colesterol, triglicerídeos, cálcio, ferro, fósforo, albumina e fosfatase alcalina) dos grupos de animais estudados para o cálcio na segunda fase experimental (período de repleção) estão descritas na Tabela 12.

Tabela 12. Valores médios dos parâmetros sanguíneos Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Colesterol, Triglicerídeos, Cálcio sérico (Ca sérico), Ferro sérico (Fe sérico), Fósforo sérico (P sérico), Albumina e Fosfatase Alcalina obtidos nas análises sanguíneas dos grupos estudados para o cálcio (período de repleção).

Grupos de animais estudados referentes ao cálcio			
Parâmetros	GC 2	GRCaRC	GRCaRFC
Hematócrito (%)	38,00 ^a (±2,19)	36,33 ^a (±8,26)	26,33 ^b (±4,18)
Hemoglobina (g/dL)	12,41 ^a (±2,17)	12,19 ^a (±3,37)	6,67 ^b (±1,17)
Colesterol (mg/dL)	98,57 ^a (±11,40)	88,15 ^a (±4,46)	80,30 ^a (±19,93)
Triglicerídeos (mg/dL)	80,88 ^a (±14,14)	73,22 ^a (±5,85)	44,34 ^b (±16,51)
Ca sérico (g/dL)	11,39 ^a (±1,23)	9,62 ^b (±0,35)	11,39 ^a (±1,12)
Fe sérico (µg /dL)	168,70 ^b (±35,35)	207,21 ^a (±12,85)	145,67 ^b (±13,31)
P sérico (mg/dL)	8,87 ^b (±0,98)	8,37 ^b (±0,52)	10,45 ^a (±1,14)
Albumina (g/dL)	4,36 ^a (0,37)	3,35 ^b (±0,13)	3,66 ^{ab} (±0,77)
Fosfatase Alcalina (U/L)	102,20 ^a (±35,58)	83,72 ^a (±34,25)	104,03 ^a (±42,81)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na linha não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Observando a Tabela 12, verificamos que nos grupos repletados em cálcio, aquele que recebeu a ração contendo a farinha de casco (RFC) (GRCaRFC) manteve o cálcio sérico médio estatisticamente e numericamente igual ao grupo controle (GC), recuperando-se da depleção em cálcio e mantendo os níveis séricos de cálcio dentro da normalidade segundo Mitruka e Rawnsley (1977) (7,2 a 13,9 mg/dL) e FMUSP (2004) (10,6 a 11,0 mg/dL). Já o grupo repletado que recebeu a ração controle (RC) (GRCaRC) diferiu significativamente do grupo controle na segunda etapa experimental, inclusive obtendo teor médio de cálcio sérico inferior ao GDCa e abaixo dos limites de normalidade citados por FMUSP (2004), demonstrando uma piora nos resultados. Porém, de acordo com Mitruka e Rawnsley (1977), o teor médio obtido (9,62 g/dL) encontra-se dentro da normalidade proposta pelo autor.

Com relação ao fósforo sérico, o grupo repletado em cálcio que ingeriu a ração contendo farinha de casco (RFC) foi significativamente superior ($p < 0,05$) (10,45 mg/dL) ao GC (8,87 mg/dL), sendo que ambos obtiveram teores dentro da normalidade, segundo Mitruka e Rawnsley (1977) (3,10 a 11,00 mg/dL) e FMUSP (2004) (8,50 a 19,10). O GRCaRC não diferiu significativamente do GC, porém obteve teor médio de fósforo sérico abaixo dos limites de normalidade (8,37 mg/dL) citados por FMUSP (2004) e dentro da normalidade de acordo com Mitruka e Rawnsley (1977).

A fosfatase alcalina não diferiu significativamente entre os grupos, embora tenha sido numericamente inferior no GRCaRC (83,72 U/L) comparada ao GRCaRFC e GC (104,03 U/L e 102,20 U/L, respectivamente). Todos os grupos obtiveram teores médios dentro da normalidade, segundo Mitruka e Rawnsley (1977) (56,80 a 128,00 U/L) e FMUSP (2004) (78,00 a 292,00 U/L).

Quanto ao status do ferro nos grupos estudados para o cálcio, na segunda fase experimental, o grupo repletado em cálcio que ingeriu a ração contendo farinha de casco (RFC) (GRCaRFC) foi significativamente inferior ($p < 0,05$) em ferro sérico, hematócrito e hemoglobina comparado ao grupo repletado em cálcio com a ração controle (GRCaRC) e ao grupo controle (GC) na segunda fase experimental para os parâmetros hematócrito e hemoglobina, demonstrando a baixa biodisponibilidade do ferro na farinha de casco. O GRCaRFC obteve teores de ferro, hematócrito e hemoglobina abaixo da normalidade segundo FMUSP (2004) (154,00 a 279,00 $\mu\text{g/dL}$ de ferro sérico), Harkness e Wagner (1993) (36 a 48% para hematócrito e 11,00 a 18,00 g/dL para hemoglobina) e Ringler e Dabich (1979) (11,40 a 19,20 g/dL para hemoglobina), enquanto os GC e GRCaRC apresentaram-se dentro da normalidade para estes parâmetros, segundo estes autores.

O ferro sérico no grupo repletado em cálcio com a ração controle (GRCaRC) foi significativamente superior ($p < 0,05$) (207,21 $\mu\text{g/dL}$) aos grupos controle (GC) (168,70 $\mu\text{g/dL}$) e GRCaRFC (145,67 $\mu\text{g/dL}$), demonstrando a efetividade da ração controle (RC) na recuperação do ferro sérico dos animais e a baixa disponibilidade do ferro presente na farinha de casco na ração suplementada com a mesma (RFC).

O baixo status do ferro encontrado nos animais pertencentes ao grupo repletado em cálcio que ingeriu a ração suplementada com farinha de casco (RFC) (GRCaRFC) pode ter ocorrido em decorrência da interação nutricional negativa entre o cálcio e o ferro presentes nesta ração, já que o excesso de cálcio presente na mesma pode ter prejudicado a absorção do ferro nesse grupo. Podemos observar na Tabela 3, a superioridade em cálcio da RFC (7380,83 mg de cálcio/100g de ração) comparada à RC (454,82 mg de cálcio/100 g de ração), decorrente da elevada quantidade de cálcio (Tabela 2) presente na farinha de casco (7.700,04 mg de cálcio/100g de farinha de casco).

Segundo Coelho (1995) e Vizeu et al. (2005) o aumento na ingestão de cálcio pode resultar na instalação de um quadro de anemia quando as exigências em ferro dietético são maiores, como por exemplo, durante as fases de crescimento, decorrente da interação competitiva entre eles na mucosa intestinal, quando ambos estão presentes na mesma refeição.

Este fato talvez possa explicar o baixo status do ferro encontrado nos animais do GRCaRFC, comparado ao GRCaRC.

A albumina sérica foi numericamente inferior nos grupos repletados em cálcio comparada ao GC, sendo que o GRCaRC obteve o menor teor médio numérico dos grupos estudados para o cálcio na segunda etapa experimental, sendo estatisticamente inferior ao GC.

A albumina sérica, nos grupos repletados em cálcio, continuou sofrendo queda, atingindo valores inferiores ao obtido no GDCa (Tabela 6) e abaixo da normalidade, de acordo com Harkness e Wagner (1993) (3,8 a 4,8 g/dL), demonstrando que o status nutricional dos animais continuou piorando durante o período de repleção, enquanto o GC manteve-se dentro da normalidade.

Os níveis de colesterol não diferiram estatisticamente entre os grupos estudados para o cálcio na segunda fase do experimento, porém os grupos repletados foram numericamente inferiores nos grupos repletados comparados ao GC. O GC sofreu aumento no teor de colesterol médio na segunda etapa (98,57 mg/dL) comparado à primeira (91,56 mg/dL) (Tabela 6). Dentre os grupos repletados, o GRCaRFC foi inferior (80,30 mg/dL) ao GRCaRC (88,15 mg/dL), sendo que todos foram considerados normais de acordo com os parâmetros citados por Harkness e Wagner (1993) (40,0 a 130,0 mg/dL) e acima do normal segundo Mitruka e Rawnsley (1977) (10,0 a 54,0 mg/dL) e FMUSP (2004) (50,0 a 61,0 mg/dL).

Os triglicerídeos foram significativamente inferiores ($p < 0,05$) no grupo repletado em cálcio que ingeriu a ração contendo farinha de casco (RFC) (GRCaRFC), inclusive abaixo da normalidade (50,0 a 88,0 mg/dL), segundo FMUSP (2004), enquanto os demais apresentaram-se dentro da normalidade, segundo esse autor. Isso ocorreu em decorrência da menor ingestão calórica pelo GRCaRFC comparada ao GRCaRC (tabela 10). Ramos (2006) corrobora essas informações, citando que a menor oferta de energia impede o aumento sérico de triglicerídeos, embora não tenha havido diferença significativa de consumo de energia entre eles.

4.4.3. Comportamento alimentar dos grupos de animais estudados na segunda fase experimental (56 a 105 dias de vida) quanto ao cálcio.

O consumo de ração (g), teor de cálcio ingerido (mg) e excretado (mg) e o Coeficiente de Digestibilidade Aparente do Cálcio (CDA Ca (%)) médios dos grupos controle e repletados com ingestão de diferentes rações durante quatro dias consecutivos, estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) dos grupos GC, GRCaRC e GRCaRFC.

Grupo	CR (g)	CaI (mg)	CaE (mg)	CDA Ca (%)
GC	16,86 ^a (±0,31)	76,67 ^b (±1,39)	42,84 ^b (±0,81)	44,10 ^a (±1,51)
GRCaRC	16,73 ^a (±4,45)	76,07 ^b (±20,22)	40,51 ^b (±13,22)	47,60 ^a (±7,14)
GRCaRFC	19,50 ^a (±5,59)	1439,47 ^a (±412,94)	1106,28 ^a (±357,61)	24,08 ^b (±9,32)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na mesma coluna não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Entre os grupos controle (GC) e repletado em cálcio recebendo ração controle (GRCaRC) não houve diferença significativa nos Coeficientes de digestibilidade aparente do cálcio (Tabela 13), porém o CDA do cálcio no grupo repletado em cálcio que ingeriu ração

contendo farinha de casco (GRCaRFC) foi significativamente inferior (24,08%) aos grupos anteriormente citados ($p < 0,05$).

O grupo repletado em cálcio que ingeriu a ração contendo a farinha de casco (GRCaRFC) apresentou ingestão de cálcio significativamente superior ($p < 0,05$) comparada ao GC e ao GRCaRC, decorrente da significativa superioridade em cálcio ($p < 0,05$) na ração suplementada com farinha de casco (Tabela 3). Porém, o cálcio da farinha de casco apresentou baixa digestibilidade, já que sua excreção através das fezes foi significativamente superior comparada aos demais grupos, fazendo com que seu coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) fosse significativamente inferior ($p < 0,05$) aos demais grupos.

O cálcio da farinha de casco apresentou baixa absorção intestinal pelos ratos, corroborando com a citação de Grüdtner et al. (1997), de que a absorção intestinal de cálcio é inversamente proporcional à sua ingestão.

Outro fator que pode ter prejudicado a absorção do cálcio oriundo da farinha de casco de *P. expansa* é a forma que este se encontra na matriz, podendo estar na forma de sais ou associado a outros componentes, formando complexos de íons cálcio, necessitando ser liberado na sua forma solúvel e provavelmente, ionizada, para que sofra absorção (CESÁRIO, 2008).

Porém, apesar do CDA Ca (%) ser significativamente inferior ($p < 0,05$) no grupo repletado em cálcio que ingeriu ração contendo farinha de casco (GRCaRFC), este apresentou uma melhora no seu nível de cálcio sérico (Tabela 12), sendo este fator decorrente, provavelmente, da reabsorção óssea, já que houve aumento dos níveis de fósforo e fosfatase alcalina séricos. Provavelmente, houve um decréscimo na qualidade óssea dos animais alimentados com a ração suplementada com a farinha de casco (RFC) pelo aumento da mobilização óssea, comparado ao GC.

Estudos relatam que o cálcio oriundo das cascas de ovos de galinha, compostas por 94% de carbonato de cálcio, torna-se mais biodisponível quando transformado em sal de citrato de cálcio, que apresenta biodisponibilidade superior ao carbonato de cálcio (BORON, 2004).

Em estudos de biodisponibilidade de cálcio em ratos, utilizando-se o pó da casca de ovo de galinha como fonte de cálcio (originando citrato de cálcio) e carcaça de tilápia (*Oreochromis niloticus*), originando fosfato de cálcio, observou-se que a carcaça de peixe incinerada e a casca de ovo incinerada e acidificada apresentaram absorção e retenção corporal similares às obtidas com a fonte de cálcio do grupo controle (CaCO_3), enquanto o pó da casca de ovo sem tratamento prévio apresentou-se inferior comparada ao controle (CESÁRIO, 2008). Neste trabalho, o pó da casca de ovo foi incinerado em forno mufla em temperatura de 800°C durante 5 horas, sendo adicionado de água destilada e ácido cítrico, até alcançar pH próximo de 7,0, favorecendo a formação de citrato de cálcio, resultado da reação entre ácido cítrico e óxido de cálcio, sendo seco em estufa, para obtenção de citrato de cálcio em pó (CESÁRIO, 2008).

Sugerimos a continuidade das pesquisas sobre a biodisponibilidade do cálcio na farinha de casco de *P. expansa*, através de estudos que favoreçam a sua biodisponibilidade, através da realização de tratamentos prévios na farinha de casco utilizada nas rações experimentais, se houver viabilidade econômica e tecnológica para tal. Vale ressaltar a importância do consumo de fontes de cálcio suplementar em horários distintos à ingestão de ferro, evitando-se as principais refeições, para que não ocorra interação entre ambos os minerais (COELHO, 1995; ALMEIDA e NAVES, 2002).

4.4.4. Resultados obtidos nas análises sanguíneas e sorológicas dos grupos de animais estudados para o ferro na etapa de repleção.

Os resultados médios obtidos nas análises de sangue (hematócrito e hemoglobina) e de soro (colesterol, triglicerídeos, cálcio, ferro, fósforo, albumina e fosfatase alcalina) dos grupos de animais estudados para o ferro na segunda fase experimental (período de repleção) estão descritas na Tabela 14.

Tabela 14. Valores médios dos parâmetros sanguíneos Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Colesterol, Triglicerídeos, Cálcio sérico (Ca sérico), Ferro sérico (Fe sérico), Fósforo sérico (P sérico), Albumina e Fosfatase Alcalina para os grupos estudados para o ferro (período de repleção).

Parâmetros	Fase experimental 2		
	Grupos de animais estudados referentes ao ferro		
	GC2	GRFeRC	GRFeRFC
Hematócrito (%)	38,00 ^a ($\pm 2,19$)	42,00 ^a ($\pm 3,35$)	29,17 ^b ($\pm 4,45$)
Hemoglobina (g/dL)	12,41 ^a ($\pm 2,17$)	13,08 ^a ($\pm 1,26$)	7,46 ^b ($\pm 1,13$)
Colesterol (mg/dL)	98,57 ^a ($\pm 11,40$)	78,56 ^a ($\pm 7,26$)	85,82 ^a ($\pm 49,96$)
Triglicerídeos (mg/dL)	80,88 ^a ($\pm 14,14$)	64,58 ^a ($\pm 5,25$)	83,13 ^a ($\pm 64,21$)
Ca sérico (g/dL)	11,39 ^a ($\pm 1,23$)	10,01 ^b ($\pm 0,78$)	10,03 ^b ($\pm 0,54$)
Fe sérico ($\mu\text{g/dL}$)	168,70 ^{ab} ($\pm 35,35$)	196,64 ^a ($\pm 9,95$)	130,90 ^b ($\pm 57,08$)
P sérico (mg/dL)	8,87 ^a ($\pm 0,98$)	8,82 ^a ($\pm 1,50$)	9,27 ^a ($\pm 0,41$)
Albumina (g/dL)	4,36 ^a ($\pm 0,37$)	2,91 ^b ($\pm 0,51$)	3,17 ^b ($\pm 0,16$)
Fosfatase Alcalina (U/L)	102,20 ^a ($\pm 35,58$)	67,87 ^a ($\pm 8,87$)	84,69 ^a ($\pm 16,68$)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na linha não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

Observando a Tabela 14, verificamos que nos grupos repletados em ferro, houve recuperação do status do ferro nos animais que ingeriram a ração controle (RC), com melhora nos parâmetros hematócrito, hemoglobina e ferro sérico, atingindo, inclusive, resultados superiores ao grupo controle, na segunda etapa experimental.

Porém, o grupo repletado em ferro que ingeriu a ração contendo farinha de casco (RFC) (GRFeRFC) foi significativamente inferior ($p < 0,05$) aos grupos GC e GRFeRC em hematócrito e hemoglobina e inferior estatisticamente ($p < 0,05$) em ferro sérico ao grupo GRFeRC. Esses resultados demonstram que a farinha de casco, utilizada como suplemento na RFC contém ferro pouco biodisponível, incapaz de recuperar os animais, gerando uma piora no status do ferro no grupo, que por apresentar níveis de hematócrito, hemoglobina e ferro sérico abaixo da normalidade (36 a 48 % para o hematócrito e 11,0 a 18,0 g/dL para hemoglobina), segundo Harkness e Wagner (1993), Ringler e Dalbich (1979) (11,4 a 19,2 g/dL para hemoglobina) e FMUSP (2004) (154-279 $\mu\text{g/dL}$ de ferro) podem ser diagnosticados como portadores de anemia ferropriva, enquanto os grupos que receberam a ração RC na segunda etapa experimental (GC e GRFeRC) encontram-se dentro da normalidade para estes parâmetros, segundo esses autores.

Os grupos repletados em ferro obtiveram níveis de cálcio sérico significativamente inferiores ao grupo controle, obtendo resultados abaixo da normalidade segundo FMUSP (2004) (10,6 a 11,0 mg/dL), porém normais de acordo com Mitruka e Rawnsley (1977) (7,2 a 13,9 mg/dL). Apesar da repleção com as rações controle (RC) e suplementada com a farinha de casco (RFC), os níveis de cálcio sérico dos animais continuou diminuindo. O grupo GC permaneceu normal, segundo Mitruka e Rawnsley (1977) e FMUSP (2004).

Os níveis de fósforo sérico e fosfatase alcalina não variaram estatisticamente entre o GC, GRFeRC e GRFeRFC, porém o GRFeRC apresentou fosfatase alcalina abaixo da normalidade (67,87 U/L) segundo FMUSP (2004) (78,0 a 292,0 U/L). Este grupo obteve os menores teores médios de fosfatase alcalina (67,87 U/L) e fósforo sérico (8,82 mg/dL) dos três grupos acima citados, embora, de acordo com Mitruka e Rawnsley (1977) (3,1 a 11,0 mg/dL para fósforo sérico e 56,8 a 128,0 U/L para fosfatase alcalina), todos estejam dentro da normalidade.

Os grupos repletados em ferro (GRFeRC e GRFeRFC) foram significativamente inferiores ao GC ($p < 0,05$) quanto ao parâmetro albumina sérica. Nos grupos repletados, a albumina sérica continuou apresentando queda, atingindo valores inferiores ao GDFe durante o processo de depleção alimentar do mineral (Tabela 8). Numericamente, o GRFeRC foi pouco inferior em albumina sérica comparado ao GRFeRFC, provavelmente porque o grupo que ingeriu a ração contendo farinha de casco (RFC) apresentou maior ingestão protéica comparado ao grupo GRFeRC, embora a proteína da farinha de casco, utilizada na suplementação da RFC não apresente bom valor biológico, sendo incapaz de promover ganho de peso significativo (Tabela 11).

Não houve diferença significativa entre os grupos repletados em ferro e o controle para os parâmetros colesterol e triglicerídeos, embora numericamente o GRFeRC tenha obtido as menores médias para colesterol (78,56 mg/dL) e triglicerídeos (64,58 mg/dL).

Segundo Mitruka e Rawnsley (1977) e FMUSP (2004), os três grupos obtiveram teores médios de colesterol acima da normalidade (10,0 a 54,0 mg de colesterol/dL e 50,0 a 61,0 mg de colesterol/dL, segundo os respectivos autores). Porém, considerando-se as maiores variações de colesterol citadas por Harkness e Wagner (1993) (40,0 a 130,0 mg/dL), todos estão dentro da faixa de normalidade. Para triglicerídeos, os três grupos obtiveram valores de acordo com os propostos por FMUSP (2004) (50,0 a 88,0 mg/dL).

4.4.5. Comportamento alimentar dos grupos de animais estudados na segunda fase experimental (56 a 105 dias de vida) quanto ao ferro.

O consumo de ração (g), o teor de ferro ingerido (mg) e excretado (mg) e o Coeficiente de Digestibilidade Aparente do Ferro (CDA Fe (%)) médios dos grupos controle e repletado em ferro com ingestão de diferentes rações durante quatro dias consecutivos estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) dos grupos GC, GRFeRC e GRFeRFC.

Grupo	CR (g)	FeI (mg)	FeE (mg)	CDA Fe (%)
GC	16,86 ^a ($\pm 0,31$)	0,69 ^b ($\pm 0,01$)	0,57 ^b ($\pm 0,04$)	18,35 ^a ($\pm 5,70$)
GRFeRC	17,34 ^a ($\pm 2,63$)	0,71 ^b ($\pm 0,11$)	0,61 ^b ($\pm 0,15$)	14,82 ^a ($\pm 10,27$)
GRFeRFC	18,90 ^a ($\pm 1,41$)	1,62 ^a ($\pm 0,12$)	1,36 ^a ($\pm 0,12$)	15,56 ^a ($\pm 4,40$)

Na comparação dois a dois entre os grupos de animais, a mesma letra sobrescrita indica que as médias na mesma coluna não são significativamente diferentes e letras distintas no par indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores entre parênteses representam o desvio padrão.

O grupo repletado em ferro que ingeriu a ração contendo a farinha de casco (GRFeRFC) apresentou ingestão de ferro significativamente superior ($p < 0,05$) aos grupos controle (GC) e repletado em ferro ingerindo a ração controle (GRFeRC), devido a

significativa superioridade em ferro ($p < 0,05$) da composição da ração suplementada com a farinha de casco (RFC) (Tabela 3).

Da mesma maneira que a ingestão de ferro pelo GRFeRFC foi superior aos demais grupos, assim foi sua excreção ($p < 0,05$), resultando em um coeficiente de digestibilidade aparente (CDA Fe) inferior (15,56%) ao obtido pelo grupo controle (GC) (18,35%), porém numericamente superior ao obtido no GRFeRC (14,82%). Porém, apesar do GRFeRFC ter obtido coeficiente de digestibilidade aparente médio do ferro (CDA Fe) numericamente superior ao GRFeRC, observamos que o ferro absorvido pelo grupo que foi repletado com a ração contendo farinha de casco (RFC) (GRFeRFC) não foi capaz de recuperar os animais em seu status do ferro (Tabela 14), já que estes apresentaram-se com anemia ferropriva.

Devemos considerar a forte interação nutricional entre o cálcio e o ferro, onde dietas ricas em cálcio diminuem a biodisponibilidade do ferro, quando ambos estão presentes na mesma refeição (VIZEU et al., 2005). Um aumento na ingestão de cálcio pode resultar na instalação de um quadro de anemia em indivíduos que tenham uma ingestão deficiente do micronutriente, decorrente da interação competitiva entre eles na mucosa intestinal (COELHO, 1995).

Esta interação pode estar ocorrendo com os animais pertencentes ao GRFeRFC, por apresentarem ingestão de cálcio significativamente superior ao GRFeRC, já que a ração suplementada com a farinha de casco (RFC), apresentou teor de cálcio médio 16,22 vezes superior à ração controle (RC) (Tabela 3), decorrente da riqueza em cálcio existente na farinha de casco (Tabela 2).

O ferro presente na farinha de casco, utilizado na suplementação da RFC não apresentou boa biodisponibilidade, sendo incapaz de recuperar o status do ferro nos animais com deficiência nutricional deste mineral.

Vale lembrar que, em ratos, o ferro encontra-se biodisponível na sua forma férrica (REEVES et al., 1993), enquanto em humanos, sua maior biodisponibilidade ocorre na forma ferrosa (KRAUSE et al., 2005). Portanto, o comportamento do ferro presente na farinha de casco em humanos pode diferir do obtido em ratos, neste experimento.

Considerando a composição da farinha de casco (Tabela 2), a importância dos minerais presentes na mesma no crescimento das plantas, a carência de fósforo nos solos brasileiros (RAIJ, 1991) e a busca por alternativas ambientalmente sustentáveis para o descarte do casco desta espécie, resíduo sólido de abate até então inutilizado, cujo acúmulo no ambiente pode atrair insetos vetores de doenças e poluição visual, a utilização como fertilizante pode ser uma alternativa a ser estudada e um novo destino a ser dado a essa farinha.

5 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, podemos concluir que:

- A farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia (*P. expansa*), obtida neste experimento, é uma fonte de proteínas e minerais, apresentando elevados teores de cálcio e fósforo, além de quantidade significativa de ferro;
- As rações elaboradas experimentalmente apresentaram a composição química desejada, atendendo as necessidades do experimento;
- Houve depleção em cálcio no grupo de animais denominado “grupo depletado em cálcio”, conforme planejado, obtida através da oferta de ração experimental deficiente em cálcio, em quantidade controlada;
- Houve depleção em ferro no grupo de animais denominado “grupo depletado em ferro”, conforme planejado, obtida através da oferta de ração experimental deficiente em ferro, em quantidade controlada;
- O cálcio oriundo da farinha de casco de *P. expansa* apresentou baixa biodisponibilidade, sendo incapaz de recuperar o grupo de animais deficiente em cálcio;
- O ferro oriundo da farinha de casco de *P. expansa* apresentou baixa biodisponibilidade, sendo incapaz de recuperar o grupo de animais deficiente em ferro;
- Provavelmente ocorreu uma interação nutricional negativa na absorção do ferro em função do elevado teor de cálcio na ração suplementada com a farinha de casco de *P. expansa*, em ratos;
- A proteína proveniente da farinha de casco de *P. expansa*, utilizada substituindo parcialmente a caseína em ração ofertada a ratos, foi classificada como sendo de qualidade baixa a pobre;
- A farinha de casco de *P. expansa*, elaborada neste trabalho, não foi considerada uma boa fonte de cálcio, ferro e proteínas para ratos;
- Em decorrência da composição da farinha de casco, composta por nitrogênio e minerais como fósforo, cálcio e ferro, além do baixo teor lipídico, esta talvez possa ser empregada como biofertilizante.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Sugerimos a continuidade desta pesquisa, buscando alternativas para elevar a biodisponibilidade do cálcio oriundo da farinha de casco de *P. expansa*;

Sugere-se que a farinha elaborada seja estudada como uma possível fonte de sais de cálcio, macroelemento de alta relevância na saúde óssea, cuja grande parte da população o consome em quantidade inferior à necessária para manutenção da sua homeostase, situação que pode contribuir para o desenvolvimento da osteoporose;

Sugere-se a elaboração de sais de cálcio a partir da incineração da farinha de casco obtida nesta pesquisa, podendo ser esta acidificada posteriormente com ácidos como ácido cítrico, vinagre (ácido acético) e suco de limão (ácido ascórbico e cítrico), para obtenção de sais de cálcio mais biodisponíveis;

Estudos na área agrônômica para o uso da farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia com biofertilizante;

Extração da gordura do casco e avaliação de seus componentes, destinando seu uso às indústrias farmacêutica e cosmética;

O uso da farinha estudada auxiliaria a minimização do descarte inadequado do casco, promovendo a diminuição do acúmulo deste resíduo sólido de abate, reduzindo o impacto ambiental.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIPINO, A. A. **Contributo para a valorização da concha de ostra como suplemento alimentar: caracterização química da concha.** 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Alimentar/ Qualidade) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2009.

AGUIAR, J. P. L. Notas e Comunicações: Tabela de Composição de Alimentos da Amazônia. **Revista ACTA Amazônica**, v.26, n. 1/ 2, p. 121-126, 1996.

AIRES, M. M., Vários Fisiologistas. **Fisiologia.** 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1132 p.

ALBUQUERQUE, M. F. M.; MONTEIRO, A. M. Ingestão de alimentos e adequação de nutrientes no final da infância. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 3, p.291-299, set./dez. 2002.

ALENCAR, F. H.; YUYAMA, L. K. O.; RODRIGUES, E. F.; ESTEVES, A. V. F.; MENDONÇA, M. M. de B.; SILVA, W. de A. **Magnitude da desnutrição infantil no Estado do Amazonas/AM – Brasil.** Acta Amazônica, v. 38, n. 4, p. 701-706, 2008.

ALFINITO, J. **A tartaruga verdadeira do Amazonas: sua criação.** Belém: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, v. 5, 32 p., 1980. Informativo Técnico.

ALMEIDA, L. C. M.; NAVES, M. M. V. Biodisponibilidade de ferro em alimentos e refeições: aspectos atuais e recomendações alimentares. **Pediatria Moderna**, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 272-278, 2002.

ALVELAR, J. A.; VIAL, M. R.; ARTAZA, C. B.; GUERREIRO, S. R. Desarrollo puberal y edad ósea em niños con antecedentes de desnutrición calórico-proteica grave precoz. **Revista Chilena de Pediatría**, Santiago, v. 65, n. 6, p. 311-316, 1994.

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de Laboratório: criação e experimentação.** Rio de Janeiro, FIOCRUZ. 387 p., 2002.

ANDRADE, K. C. A fortificação de alimentos com ferro no controle da anemia ferropriva. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, IMES, São Caetano do Sul, ano II, n. 3, p. 50-55, jan./jun. 2004.

ANDRADE, M. **Pratos, lendas, estórias e superstições de alguns peixes do Amazonas (Folclore do peixe do Amazonas).** Manaus: Edição Governo do Estado, 1988. 593 p.

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. A.; FILHO, A. B. **Nutrição Animal.** 3. ed. São Paulo: Livraria Nobel, 1989. 2v. v. 2, 425 p.

ANGELIS, R. C. Valor nutricional das proteínas, métodos de avaliação. **SBAN- Cadernos de Nutrição**, 10: 08-29, 1995.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International.** 17 th Edition. Maryland, v. 1, 2000, 1132 p.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18. ed. Washington DC USA, 2005.

ARAÚJO, G. C.; BUENO, M. P.; MENDONÇA, P. S. M. **A sustentabilidade em frigoríficos: discussão de um estudo de caso**. Grupo de Pesquisa: Agricultura, Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. p. 1-15. XVI Congresso da SOBER- Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. “Conhecimento para Agricultura do Futuro”. 22-25 jul. 2007- UEL-Londrina-PR.

ASSUMPÇÃO, C. L.; CABRAL, M. D. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, 2002, 24 (Supl III), p. 29-33. Complicações clínicas da anorexia nervosa e bulimia nervosa.

ASTRUP, A. The role of calcium in energy balance and obesity: the search for mechanisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.. 88, n. 4, p. 873-874, oct. 2008.

BADHAM, J.; ZIMMERMANN, M. B.; KRAEMER, K. **Guía sobre Anemia Nutricional**. Sight and life Imprenta (SIGHT AND LIFE, Basilea, Suiza), 2007, 60 p.

BARBOSA, T. N. N.; CARDOSO, A. L. Deficiência de Ferro e repercussões sobre o desenvolvimento cognitivo: aspectos preventivos. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 18, n. 3, p. 130-135, 2003.

BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Caderno de Saúde Pública**, 19, Suppl. 1, p. 181-191, 2003.

BATTESTIN, L.; TACLA, R. M. B.; TIBONI, E. B.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C. Análise de cálcio em diferentes tipos de bebidas. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 3, n. 2, p. 79-86, jul-dez. 2002.

BELIZAM, J.M. Calcium supplementation to prevent hypertensive disorders of pregnancy. **N. Engl. Journal Med.** 325. p.-1399-1405, 1991.

BENDER, D. A. **Introduction to nutrition and metabolism**. London: UCL PRESS, 1993. 336p.

BERKOW, R. **Manual Merck de Informação Médica: Saúde para a Família**. Merck Sharp & Dohme. 1. ed., 2002, 1595 p.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, v. 57, 1959.

BORON, L. **Citrato de cálcio obtido da casca de ovo: Biodiponibilidade e uso como suplemento alimentar**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Santa Catarina-SC, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

BOSSCHER, D.; VAN CAILLIE-BERTRAND, M.; DEELSTRA, H. Effect of thickening agents, based on soluble dietary fiber, on the availability of calcium, iron, and zinc from infant formulas. **Nutrition**, v. 17, n. 7/8, p. 614-618, 2001.

BOUGLÉ, D.; LAROCHE, D.; BUREAU, F. Zinc and iron status and growth in healthy infants. **European Journal of Clinical Nutrition**, 2000; 54: 764-767.

BRAGANÇA S. R.; BERGMANN, C. P. Produção de porcelana de ossos e caracterização de suas propriedades técnicas. **Cerâmica** 52, p. 205-212, 2006.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria n.º 31, de 13/01/1998. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimentos adicionados de nutrientes essenciais**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 1998. 30 Mar. 1998 Seção I – E, p. 4.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RESOLUÇÃO RDC Nº 269, de 22/09/2005. **Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 2005.

BRASIL, MINISTÉRIO DO INTERIOR. **Diretrizes nacionais de limpeza urbana: 1ª fase – formulação do programa**. Rio de Janeiro: Sema/CNDU/Abes, 1983.

BRASIL. Instrução Normativa n.º 20, de 21/07/1999. **Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes - sal e salmoura**. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Brasília, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento – Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. DIPOA – MAPA, Brasília, DF, outubro 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n.º 76 de 26 de novembro de 1986. **Dispõe sobre os métodos analíticos de bebidas e vinagre**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 28 nov. 1986. Seção 1, pt. 2.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Portaria n.º 142 de 30/12/1992. **Normatiza a criação em cativeiro de *P. expansa* e *P. unifilis* com finalidade comercial**. IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Brasília – DF, 1992.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Portaria n.º 070 de 23/08/1996. **Normatiza a comercialização de produtos e subprodutos das espécies *Podocnemis expansa* e *P. unifilis*, provenientes de criadouros comerciais regulamentados pelo IBAMA**. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Brasília – DF, 1996.

BRITO, W. L. S.; FERREIRA, M. Fauna Amazônica preferida como alimento, uma análise regional. **Revista Brasil Florestal**, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, n. 35, p. 11-17, julho/setembro 1978.

CALGARO, M.; MENEZES, E. A.; PELOSO, M. J. D.; GUIMARÃES, C. M. Adaptação de genótipos de feijoeiro comum promissores para pesquisa em biofortificação e tolerância a seca no semiárido brasileiro. In: III Reunião Anual de Biofortificação no Brasil, 31 de maio a 5 de junho de 2009, Aracaju – Sergipe. **Anais...** Aracaju – SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2009. 1 CD-ROM - ISSN 1678-1953148.

CAMPBELL, J. A. Method for determination of PER & NPR. In: ESTADOS UNIDOS. National Academy of Sciences. National Research Council. **Food and Nutrition Board-Evaluation of protein quality**. Washington, p. 31-32, 1963.

CANÇADO, R. D.; CHIATTONE, C. S. Anemia de doença crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 4, p. 127-136, 2002.

CARVALHO, G. D.; MASSENO, A. P. B.; ZANINI, M. S.; ZANINI, S. F.; PORFÍRIO, L. C.; MACHADO, J. P.; MAUAD, H. Avaliação clínica de ratos de laboratório (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológicos. **Revista Ceres**, v. 56, n. 1, p. 51-57, 2009.

CARVALHO, J. L. V. **Pesquisadores trabalham para elevar teor vitamínico de alimentos.** FOME ZERO, 11/08/2008- 11:00h. Disponível em: <<http://www.fomezero.gov.br>>. Acesso em: 07 nov. 2008.

CARVALHO, M. C.; BARACAT, E. C. E.; SGARBIERI, V. C. Anemia ferropriva e anemia de doença crônica: distúrbios do metabolismo de ferro. **Revista Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 13, n. 2, p. 54-63, 2006.

CATANI, R. A.; NASCIMENTO, A. C.; COSTA, N. A. Fertilizantes nitrogenados, classificação e análise. In: Anais da Reunião Brasileira de Ciência do Solo, 4, Belo Horizonte. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, p. 65-82, 1956.

CESÁRIO, M. C. P. **Utilização de resíduos agroindustriais ricos em cálcio na fortificação de produtos de panificação.** 2008. 53 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2008.

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. **Princípios éticos na experimentação animal** (1991). Disponível em: <<http://cobeia.org.br/etica.htm>>. Acesso em 11 mar 2010.

COELHO, R. G. Interações nutricionais. Parte 1: interações ao nível do trato gastrintestinal. **Revista de Metabolismo e Nutrição**, Porto Alegre, v. 2, n. 3, p. 106-117, 1995.

COIFMAN, R.; WEFORTE, R. V. B.; KASAMATSU, T. S.; FUKUSIMA, L. ; SANTORO, I. ; JAMNIK, S.; VIEIRA, J.G.H.; CASTRO, M. L. Calcitonina monomérica plasmática e hipercalcemia em pacientes portadores de neoplasia pulmonar. Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP. **Rev. Ass Med Brasil**. v. 43, n. 2, p. 105-108, 1997.

COPP, D. H. Calcitonin: discovery, development, and clinical application. **Clin. Invest. Med.**, 17, p. 268-277, 1994.

COSTA, C. M. da; BRUM, I. R.; LIMA, E. S. Anemia e marcadores séricos da deficiência de ferro em grávidas atendidas na rede pública municipal de Manaus, Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**. v. 39, n. 4, p. 901 - 906, 2009.

COSTA, F. S.; CARDOSO, M. J. L.; MUNIZ, L. M. R.; VULCANO, L. C.; SANTOS, W. G. dos; PADOVANI, C. R. Correlação entre a densidade mineral óssea e níveis séricos de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina total em gatos após tirotoxicose experimental. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 46, n. 2, p. 138-143, 2009.

COTOMI, 2010. Disponível em: <<http://www.cotomi.com.br>>. Acesso: 12 fev. 2010.

CRISÓSTOMO, N. L.; MONTE, R.; NAVARRO, F.; NETO, J. S. Relação da obesidade e cálcio: uma abordagem de estudos realizados. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**. São Paulo, v. 1, n. 4, p. 16-24, julho/ago, 2007.

CUMMINGS, S. R.; BLACK, D. M.; RUBIN, S. M. Lifetime risk of hip, Colles' or vertebral fracture and coronary heart disease among white postmenopausal women. **Arch. International Med.**, 149, p. 2445-2448, 1989.

CURADO, F. F.; QUIEIROZ, V. A. V.; DIAS, A. C. P.; SILVA, M. D. R.; NETTO, R. S. M. Avaliação do potencial de utilização de alimentos biofortificados na alimentação escolar nos municípios de Maranhão, Sergipe e Minas Gerais. In: III Reunião Anual de Biofortificação no Brasil, 31 de maio a 5 de junho de 2009, Aracaju – Sergipe. **Anais...** Aracaju – SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2009. 1 CD-ROM - ISSN 1678-1953148.

CUTLER, J. A.; BRITTAIN, E. Calcium and blood pressure; an epidemiologic perspective. **Am. J. Hypertens.**, 3, p. 137-146, 1990.

DAL PIVA, C.; BONONI, V. L. R.; FIGUEIREDO, R. S.; SOUZA, C. C. Sistema de Gestão Ambiental implementado aos moldes da ISO 14001:2004 em um frigorífico de abate de aves, no Município de Sidrolândia – Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional G&DR**. v. 3, n. 3, p. 20-53, set-dez/2007.

DAWSON, A.. Food and the public's health. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, 20, p. 225-229, 2007.

DAWSON-HUGHES, B.; HARRIS, S. S. Calcium intake influences the association of protein intake with rates of bone loss in elderly men and women. **The American Journal of Clinical Nutrition**. USA, 75, p. 773–779, 2002.

De DOMENICO, I.; WARD, D. M.; KAPLAN, J. Hepsidin regulation: ironing out the details. **Journal Clin. Invest.** 2007, v. 117, n. 7, p. 1755-1758.

De MAEYER, E. M.; DALLMAN, P.; GURNEY, J. M.; HALLBERG, L.; SOOD, S. K.; SRIKANTIA, S. G. **Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care**. A guide for health administrators and program managers. Geneva: WHO; 1989.

DECHEN, A. R.; NACHTIGAL, G. R. Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; de BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**. 1. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007, p. 91-132.

DOURADOR, E. B. Osteoporose Senil. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica**, v. 43, n. 6, p. 446- 451, 1999.

DUARTE, A. P. Adubação com zinco para aumentar a produtividade e enriquecer os grãos do milho. In: III Reunião Anual de Biofortificação no Brasil, 31 de maio a 5 de junho de 2009, Aracaju – Sergipe. **Anais...** Aracaju – SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2009. 1 CD-ROM - ISSN 1678-1953148.

EMBRAPA. **Embrapa desenvolve tecnologia de criação comercial de tartaruga da Amazônia**, 25/11/2004- Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2004/setembro/bn.2004-11-5.3540478918/?searchterm=tartaruga>>. Acesso em: 19 mar. 2009.

ESCODA, M. S. Q. **Anemia Ferropriva**. Dissertação de Mestrado em Ciências Sociais: A Determinação Social da Fome e a Intervenção do Estado, cap. II (mimeo). UFRN, 89. Revisão 9/2000. Disponível em: <<http://www.ufrnet.br/~scorpius/14-Anemia%20ferropriva.htm>>. Acesso em: 23 out. 2008.

FACHIN-TERAN, A. **Ecologia de Podocnemis sextuberculata (Testudines, Pelomedusidae) na reserva de desenvolvimento sustentável, Amazônia, Brasil**. 1999. 189 f. Tese (Doutorado em Ecologia)- Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade do Amazonas, Manaus, 1999.

FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Revista Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 59-65, 2004.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Protein quality evaluation; Report of Joint FAO/WHO expert consultation**. Rome: WHO, 66 p., 1991.

FEARO (Federal Environmental Assessment Review Office). **Revised guide to the Federal Environmental Assessment and Review Process**. Environ. Assess. Rev., Canadá, 1979, 12 p.

FERREIRA, D. F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0**. In... 45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, julho 2000. p. 255-258.

FERREIRA, P. R. Criador vai abater 20 toneladas. **Revista Agroamazônia**, 2. ed., abril 2002. Disponível em: <<http://www.revistaagromazonia.com.br/tartaruga.htm>>. Acesso em: 24 jan. 2005.

FMUSP (FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO). Centro de Bioterismo da FMUSP/DTAEP 2004. **Laudo clínico e resultados dos exames bioquímicos de *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, machos, adultos, de categoria sanitária convencional do centro de Bioterismo da FMUSP, avaliados no período de janeiro/ 1999 a junho/ 2000**. Disponível em: <<http://www.usp.br>>. Acesso em: 30 jan. 2010.

FISH, I.; WINICK, M. Effects of Malnutrition on Regional Growth of the Development Rat Brain. **Exp. Neurol.**, 1969; 25:534.

FRIEDMAN, M. Nutritional value of proteins from different food sources: A Review. **Journal Agriculture and Food Chemists**, v. 44, p. 6-29, 1996.

GASPAR, A. **Avaliação do abate e da qualidade da carne de Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) criada em cativeiro para consumo humano**. 2003. 145 f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)- Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2003.

GASPAR, A.; RANGEL FILHO, F. B. Utilização de carne de tartarugas da Amazônia, criadas em cativeiro, para consumo humano. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Edição nacional, v.23, n. 5, p. 207-210, set./out. 2001.

GLEERUP, A.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; HALLBERG, L. Duration of the inhibitory effect of calcium on non-haem iron absorption in man. **Eur. Journal Clin. Nutr.**, v. 47, n. 12, p. 875-879, 1993.

GONZALEZ, C.; CARDOSO, C. E. L.; FUKUDA, W. .M. G. Adoção preliminar de variedades de mandioca com melhor qualidade nutricional no nordeste do Brasil. In: III Reunião Anual de Biofortificação no Brasil, 31 de maio a 5 de junho de 2009, Aracaju – Sergipe. **Anais...** Aracaju – SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2009. 1 CD-ROM - ISSN 1678-1953148.

GRACITELLI, M. E. C.; VIDORIS, A. A. C.; LUBA, R.; LAZARETTI-CASTRO, M. Paratormônio e Osteoporose: encontrando o fio da meada. Bases fisiológicas para utilização do PTH no tratamento da osteoporose. Artigo original. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metab.** v. 46, n. 3, p. 215-220, 2002.

GROTTO, H. Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.** v. 30, n. 5, São Paulo, p. 390-397, set/out. 2008.

GRÜDTNER, V. S.; WEINGRILL, P.; FERNANDES, A. L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Revista Brasileira de Reumatologia**, 37, p. 143-151, 1997.

GUALANDRO, S. F. M. Diagnóstico diferencial das anemias. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 22, supl. 5, p. 7-10, 2000.

GUÉGUEN, L.; POINTILLART, A. The bioavailability of dietary calcium. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 2, p. 119-136, 2000.

HALLBERG, L.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; BRUNE, M.; GLEERUP, A. Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance. **Eur. Journal Clin. Nutr.**, v. 46, n. 5, p. 317-327, 1992.

HARKNESS, J. E.; WAGNER, J. E. **Biologia e Clínica de Coelhos e Roedores.** 3. ed. São Paulo: Roca, 1993. 238 p.

HAUACHE, O. M.; VIEIRA, J. G. H.; MACIEL, R. M. B. Diagnóstico Laboratorial do Carcinoma Medular de Tiróide: Calcitonina Basal e Testes de Estímulo. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metab.** , v. 47, n. 5, p. 529-533, 2003.

HEGSTED, D. M. Fractures, calcium, and the modern diet. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 74, p. 571-573, 2001.

HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamentos por métodos laboratoriais.** 20. ed. São Paulo: Manole, 2008. 1670 p.

HOFMEYR, G.; DULEY, L.; ATALLAH, A. Dietary calcium supplementation for prevention of pre-eclampsia and related problems: a systematic review and commentary. Calcium supplementation in pregnancy: systematic review. **BJOG 2007 An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, 114, p. 933-943, 2007.

INFERYONWA, F.; SMITH, M.; LATHAM, J.; AZUBUKE, W.; BUTLER, R.; PHILLIPS, L.; PONDS, W.; EMOONWN, C. Blood Plasma Level of Cortisol, Insulin and Somatomedin in Children with Marasmus and Kwashiorkor. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 1981; 167:607.

ISO, H.; STAMPFER, M. J.; MANSON, J. E.; REXRODE, K.; HENNEKENS, C. H.; COLDITZ, G. A.; SPEIZER, F. E.; WILLETT, W. C. Prospective study of calcium, potassium, and magnesium intake and risk of stroke in women. **Stroke; a Journal of Cerebral Circulation**, v. 30, n. 9, p. 1772-1779, 1999.

IUCN (International Union for Conservation of Nature) 2009. **The IUCN Red List of Threatened Species 2009.2**. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/>>. Acesso em: 10 nov. 2009. JACKSON, D. C. Review: Living without oxygen: lessons from the freshwater turtle. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 125, p. 299-315, 2000.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica-Texto/Atlas**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524 p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 540 p.

KANIS, J. A. The use of calcium in the management of osteoporosis. **Bone**, 24, p. 279-290, 1999.

KATO, I.; TONIOLO, P.; ZELENIUCH-JACQUOTTE, A.; SHORE, R. E.; KOENIG, K. L.; AKHMEDKHANOV, A.; RIBOLI, E. Diet, smoking and anthropometric indices and postmenopausal bone fractures: a prospective study. **International Journal of Epidemiology**, 29, p. 85-92, 2000.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes Orgânicos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1985. 492 p.

KNUDSEN, E.; SANDSTROM, B.; SOLGAARD, P. Zinc, copper and magnesium absorption from a fibre-rich diet. **Journal Trace Elements Med Biol**, n. 10, p. 68-76, 1996.

KRAUSE, M. V.; MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia**. 11. ed. São Paulo: Roca, 2005. 1242 p.

KRAUSE, M.V.; MAHAN, L.K. **Alimentos, Nutrição & Dietoterapia**. 6ªed. São Paulo: Ed. Roca, 2002. 981p.

KUSHNER, J. P. Anemias hipocrômicas. In: WYNGAARDEN, J. B.; SMITH, L. H.; BENNETT, J. C. **Tratado de Medicina Interna**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, p. 858- 865.

LACERDA, E.; CUNHA, A. J. Anemia ferropriva e alimentação no segundo ano de vida no Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica (Pan Am Journal Public Health)**, v. 9, n. 5, p. 294-301, 2001.

LAURITZEN, J. B. Hip fractures: epidemiology, risk factors, falls, energy absorption, hip protectors, and prevention. **Danish Med Bull**, 44, p. 155-168, 1997.

LEE, G. R. Fatores nutricionais na produção e função dos eritrócitos. In: LEE, G. H.; BITHHELL, T. C.; FOERSTER, J.; ATHENS, J. W.; LUKENS, J. N.; editores. Wintrobe **Hematologia Clínica**. 1. ed. São Paulo: Manole; 1998. p.166-207.

LERNER, B. R.; LEI, D. L. M.; CHAVES, S. P.; FREIRE, R. D. O cálcio consumido por adolescentes de escolas públicas de Osasco, São Paulo. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 1, p. 57-63, 2000.

LIMA, A. C. **Caracterização Socioeconômica e Ambiental da Criação de Quelônios no Estado do Amazonas**. 2000. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais, Área de Concentração: Gestão e Políticas Ambientais). Centro de Ciências do Ambiente e Sustentabilidade na Amazônia, Universidade do Amazonas, Manaus, 2000.

LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J. B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J. R. **Métodos de laboratório aplicado à clínica**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 5. ed., 1977.

LOPES, H. F.; BARRETO-FILHO, J. A. S.; RICCIO, G. M. G. Tratamento não medicamentoso da hipertensão arterial. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 13, n. 1, p. 148-155, jan/fev 2003.

LUZ, V. L. F.; REIS, I. J. **Curso: Biologia, Manejo e Conservação de Répteis. Ordem dos Quelônios**. In: **XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGICOS, IV ENCONTRO INTERNACIONAL DE ZOOLOGICOS**. Área Técnica de Criação de Quelônios em Cataveiro, Centro Nacional dos Quelônios da Amazônia, CENAQUA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, IBAMA, Salvador: 1998. p. 5-8, 43 p.

LUZ, V. L. F.; REIS, I. S.; CANTARELLI, V.H. S.; QUITARILHA, L. C. A. A criação de quelônios como alternativa de uso racional dos recursos naturais. In: **CONGRESSO INTERNACIONAL DE MANEJO E CONSERVACION DA FAUNA SILVESTRE DE LA AMAZONIA**, 2., 1997, La Paz. **Anais...** La Paz, 1997. 125 p.

MACHADO, D. F.; FERREIRA, C. L. L. F.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, T. T. Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido fólico. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, Campinas May/Aug. 2003.

MALAFAIA, G.; MARTINS, R. F.; SILVA, M. E. Avaliação dos efeitos, em curto prazo, da deficiência protéica nos parâmetros físicos e bioquímicos de camundongos swiss. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, Campo Mourão, v. 4, n. 2, p. 21-33, jul./dez. 2009.

MALTA, G.; SPONQUIADO, R.; FERRAZ, V. P.; SEGALL, S. D. Utilização de resíduos da indústria de carnes para produção de biodiesel. VIII Congresso de Ecologia do Brasil- da Sociedade de Ecologia do Brasil (SEB), 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu – MG. **Anais...** p. 1-2.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Projeções do Agronegócio Mundial e do Brasil - 2006/07 a 2017/18**. Assessoria de Gestão Estratégica do MAPA, 2009. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 13 jun. 2009.

MARA. **Métodos Analíticos de Controle de Alimentos para Uso Animal**. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Associação Nacional dos Fabricantes de Rações (ANFAR), Métodos n^{os} 15 e 16, 1992.

MARTINS, A. S.; HIROSE, M. **Anemia causada pela deficiência de ferro**. Disponível em: <http://www.medcenter.com/Medscape/content.aspx?LangType=1046&menu_id=49&id=411>. Acesso em: 23 fev. 2010.

MARX, S. J. Hyperparathyroid and hypoparathyroid disorders. **N. Engl. J. Med.**, 343, p. 1863-1875, 2000.

MAURER, J.; HARRIS, M. M.; STANFORD, V. A.; LOHMAN, T. G.; CUSSLER, E.; GOING, S. B.; HOUTKOOPER, L. B. Dietary iron positively influences bone mineral density in postmenopausal women on hormone replacement therapy. **The Journal of Nutrition**, 135, p. 863-869, 2005.

MCCARRON, D. A.; REUSSER, M. E. Are low intakes of calcium and potassium important causes of cardiovascular disease? **American Journal of Hypertension**, v. 14, n. 6, part 2, p. 206-212, 2001.

MELO, L. A. S.; IZEL, A. C. U.; LIMA, M. G. H.; SILVA, A. V.; ANDRADE, P. C. M. Criação e Manejo de Quelônios no Amazonas. Projeto Diagnóstico da Criação de Animais Silvestres no Estado do Amazonas. In: **I Seminário de Criação e Manejo de Quelônios da Amazônia Ocidental**, cap.12, Ed. Paulo César Machado Andrade, FAPEAM/SDS, Manaus: 477 p., cap.12, 2004.

MENA, N. P.; ESPARZA, A.; TAPIA, V.; VALDES, P.; NUNEZ, M. T. Hcpidin inhibits apical iron uptake in intestinal cells. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**. 2007: DOI 10.1152/ajpgi.00122.2007.

MEURER, E. J. Fatores que influenciam o crescimento e o desenvolvimento das plantas. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; de BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**. 1. ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007, p. 65-90.

MIGUEL Jr. A. **Medicina geriátrica: Paratormônio ou PTH**. Dinamicsite - Categoria Dicionário em 26 de janeiro de 2007. Disponível em: <<http://www.medicinageriatrica.com.br>>. Acesso em: 13 dez. 2008.

MILLER, O.; GONÇALVES, R. R. **Laboratório para o clínico**. 8. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 607 p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE – MS, UNICEF. 2007. **Cadernos de Alimentação básica: Carências de Micronutrientes**. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). 60 p

MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS. **Alimentos regionais brasileiros**. Coordenação Geral de Políticas de Alimentação e Nutrição, Secretaria de Políticas de Saúde, Ministério da Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2002. (Série F: Comunicação e Educação em Saúde).

MITCHELL, J. E. Medical complications of anorexia nervosa and bulimia. **Psychol. Med.**, London, v. 1, p.229-255, 1983.

MITRUKA, B. M.; RAWNSLEY, H. M. **Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals**. New York: Masson Publishing, 272 p., 1977.

MONCKEBERG, F. Artificial Feeding in Infants. High risk in underdeveloped countries.,p. 57-63 In: Risk factors and the health and nutrition of young children. **Supreme Council Population and Family Planning**. Egypt, 1979.

MONTEIRO, C. A.; SZARFARC, S. C.; MONDINI, L. Tendência secular da anemia na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 6, p. 62-72, 2000.

MOORE, G. R. P.; MARTELLI, S. M.; GANDOLFO, C. A.; PIRES, A. T. N. LAURINDO, J. B. Queratina de penas de frango: extração, caracterização e obtenção de filmes. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 421-427, abr.-jun., 2006.

MORAIS, C. S. N.; BARCELOS, M. F. P.; SOUSA, R. V.; LIMA, H. M.; LIMA, A. L. Efeitos das fontes e níveis de lipídios nas dietas de ratos machos da linhagem wistar (*Rattus norvegicus*) sobre frações lipídicas do sangue. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. v. 27, n. 5, p. 1082-1088, set./out., 2003.

MUZZO, S. B. Evolucion de los problemas nutricionales en el mundo. El caso de Chile. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 29, n. 2, 13 p., Santiago, agosto 2002.

NAGEL, C. C.; COSTA, A. C. S.; PADRE, J.G. **Destinação ambientalmente correta de resíduos das indústrias de abate bovino e couro**. 6 p. Disponível em: <http://www.pec.uem.br/dcu/VII_SAU/Trabalhos/6-laudas/NAGEL,%20Cornelia%20Cristina.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2009.

NEMETH, E.; RIVERA, S.; GABAYAN, V.; KELLER, C.; TAUDORF, S.; PEDERSEN, B. K. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. **J. Clin. Invest.** 2004a, v. 113, n. 9, p. 1271-1276.

NEMETH, E.; TUTTLE, M. S.; POWELSON, J.; VAUGHN, M. B.; DONOVAN, A.; WARD, D. M. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. **Science**. 2004b, v. 306, n. 5704, p. 2090-2093.

NEWMARK, H. L.; YANG, K.; LIPKIN, M.; KOPELOVICH, L.; LIU, Y.; FAN, K.; SHINOZAKI, H. A Western-style diet induces benign and malignant neoplasms in the colon of normal C57B1/6 mice. **Carcinogenesis** v. 22, n. 11, p. 1871-1875, 2001.

NOGUEIRA, F. A. G.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Disponibilidade de cálcio em leites integral e desnatado adicionados de frutas, café e achocolatado. **B. Ceppa**, Curitiba, v. 26, n. 2, p. 213-228, jul/dez 2008.

NOVAIS, F. R.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa: UFV, 1999. 399 p.

NUNES, L. C. C.; SANTANA, A. K. M.; SOBRINO, J. L. S.; FELTS DE LA ROCA, M.; DE LIMA, E. Q.; ROLIM NETO, P. J. Obtenção de comprimidos contendo cálcio de conchas de ostras: pré-formulação e biodisponibilidade comparativa. **Acta Sci. Health Sci**. Maringá, v. 28, n. 1, p. 49-55, 2006.

NUNES, S. M. T.; YUYAMA, L. K. O.; GUEDES, D. P.; OLIVEIRA, M. C. de. **Anemia ferropriva em atletas adolescentes da Fundação Vila Olímpica de Manaus-AM**. Acta Amazônica. v. 38, n. 2, p. 263 - 266, 2008.

OKIGAMI, H. Piruvato de cálcio e magnésio em obesidade. **Revista Science News**, v. 1, n. 2, p. 3- 4, 2002.

OLIVARES, M.; WALTER, T.; HERTRAMPF, E.; PIZARRO, F. Anaemia and iron deficiency disease in children. **Br. Med. Bull**, 55, 534-548, 1999.

OLIVARES, M.; WALTER, T. Artículos de Actualización. Consecuencias de la deficiencia de hierro. **Revista Chilena de Nutricion**, v. 30, n. 3, Santiago, 13 p., 2003.

OLIVEIRA, D. A.; BENELLI, P.; AMANTE, E. R. **Valorização de resíduos sólidos: casca de ovos como matéria-prima no desenvolvimento de novos produtos**. 2nd International Workshop – Advances in Cleaner Production. “Key elements for a sustainable world: energy, water and climate change.” São Paulo, p. 1-11, 20 à 22 maio 2009.

OLIVEIRA, I. M. V.; ANGELIS, R. C. Requisitos protéicos mínimos de diferentes fontes vegetais para ratos de laboratório em fase de crescimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 23-28, 2001.

OLIVEIRA, J. E. D. A biofortificação, a fortificação de alimentos e a deficiência de micronutrientes. In: III Reunião Anual de Biofortificação no Brasil, 31 de maio a 5 de junho de 2009, Aracaju – Sergipe. **Anais...** Aracaju – SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2009. 1 CD-ROM - ISSN 1678-1953148.

OLIVEIRA, J. E. D.; CANTOLINI, A. Uso da água como um carreador de ferro para fornecer ferro e controlar a anemia ferropriva em crianças pré-escolares. In: III Reunião Anual de Biofortificação no Brasil, 31 de maio a 5 de junho de 2009, Aracaju – Sergipe. **Anais...** Aracaju – SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2009b. 1 CD-ROM - ISSN 1678-1953148.

OLIVEIRA, J. M.; CUNHA, C. O. M. **Produção mais limpa no setor de Matadouros Frigoríficos**. Dossiê Técnico - SENAI (Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial) RS- Centro Nacional de Tecnologias Limpas; BRT (Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas); FIERGS SENAI. Rio Grande do Sul, 39 p. Dez 2007.

OLIVEIRA, M. A. A.; OSÓRIO, M. M.; RAPOSO, M. C. F. R. Concentração de hemoglobina e anemia em crianças no Estado de Pernambuco, Brasil: fatores sócio-econômicos e de consumo alimentar associados. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 10, p. 2169-2178, out 2006.

OMS, ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Requerimentos de energia e proteína**. Genebra, 1985. 206 p.

OSKI, F. A. Iron deficiency in infancy and childhood. **N Engl Journal Medicine**, v. 329, n. 3, p. 190-193, 1993.

OSÓRIO, M. M. Fatores determinantes da anemia em crianças. Artigo de revisão. **Jornal de Pediatria**, R. J., v. 78, n. 4, p. 269-278, 2002.

PAIVA, A. A.; RONDO, P. H. C.; GUERRA-SHINOHARA, E. M.. **Parâmetros para a avaliação do estado nutricional de ferro**. Revista de Saúde Pública, v. 34, n. 4, 2000, p. 421-426.

PALLAORO, T. M. **Nutrição Molecular: melhorando a qualidade de vida**. Petrópolis: Vozes, 1997. 117 p.

PANNEMANS, D. L.; SCHAAFSMA, G.; WESTERTERP, K. R. Calcium excretion, apparent calcium absorption and calcium balance in young and elderly subjects: influence of protein intake. **British Journal of Nutrition**, v. 77, n. 5, p. 721-729, maio 1997.

PAPA, A. C. E.; FURLAN, J. P.; PASQUELLE, M.; GUAZZELLI, C. A. F.; FIGUEIREDO, M. S. de; CAMANO, L.; MATTAR, R. **A anemia por deficiência de ferro na grávida adolescente: comparação entre métodos laboratoriais**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. v. 25, n. 10, 2003, p. 731-738.

PAZ, L. H. B. C.; JORGETTI, V.; YOSHINARI, N. H. Modelos animais de osteoporose. **Revista Hosp Alem Fac Med São Paulo**, v. 52, n. 2, p. 86-89, 1997.

PEREIRA, M. G. **Epidemiologia: teoria e prática**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2003. 596 p.

PEREIRA, N. **A Tartaruga Verdadeira do Amazonas**. Resumo informativo. Reedição. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Divisão de Caça e Pesca, 1958. 17 p.

POGGIANI, F.; GUEDES, M. C.; BENEDETTI, V. Aplicabilidade de bio-sólido em plantações florestais: I. Reflexo no ciclo dos nutrientes. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 312 p.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; MCFARLAND, W. N. **A Vida dos Vertebrados**. Editora Atheneu: São Paulo, 1993, 839 p.

PROGRAMA FOME ZERO. **Distribuição de ferro (Saúde de Ferro) / Programas e ações**. FOME ZERO, Disponível em: <<http://www.fomezero.gov.br>>. Acesso em: 07 nov. 2008.

PROUDLOVE, R. K. **Os Alimentos em Debate: uma Visão Equilibrada**. São Paulo: Livraria Varela, 1996, 68 p.

RAIJ, B. V. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Ceres, 1991. 343p.

RAMOS, M. E. **Efeito protetor do café sobre a pressão arterial e frequência cardíaca em ratos desnutridos**. 2006. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

RAMOS, A. L. S. **Sistema Multimídia para apoio ao gerenciamento de resíduos de abatedouros**. 2007. 95 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

RAN. **Projeto Quelônios da Amazônia**. Centro de Conservação e Manejo de Répteis e Anfíbios. Ministério do Meio Ambiente, Goiânia, 2007. Disponível em: <<http://www.ibama.org.br>>. Acesso em: 01 jun. 2007, 18:20:35.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY Jr., G. C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of American Institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of Nutrition**, [s.l.], v. 123, p. 1939 – 1951, 1993.

RINGLER, D.; DABICH, L. **Hematology and Clinical Biochemistry**. In: The Laboratory Rat. San Diego: Academic Press; 1979. p.105-119.

ROMANI, S. A. M.; LIRA, P. I. C. Fatores determinantes do crescimento infantil. Revisão. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**. Recife, v. 4, n. 1, p. 15-23, jan./mar, 2004.

ROSA, F. S.; LUNKES, R. J. **Revolução verde: a gestão ambiental auxiliando a transformar o fantasma da poluição ineficiente em vantagem competitiva**. IX Congresso Internacional de Custos - Florianópolis, SC, Brasil, p. 1-15, 28 a 30 de novembro de 2005.

RUSSEL, W. M. S.; BURCH, R. L. **The principle of human experimental technique**. London: Methuen, 1959.

SCAPIM, M. R. S.; LOURES, E. G.; ROSTAGNO, H.; CECON, P. R.; SCAPIM, C. A. Avaliação nutricional da farinha de sangue para frangos de corte submetida a diferentes tratamentos térmicos. **Revista Acta Scientiarum. Animal Sciences**. Maringá, v. 25, n. 1, p. 91-98, 2003.

SCARLATO, R. C.; GASPAR, A. Composição nutricional do casco da tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) criada em cativeiro e em idade de abate. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(supl.): 41-44, ago. 2007

SCHENINI, P. C.; MONTAGNA DA ROSA, A. L.; RIBEIRO, M. M. A. **O Mecanismo de Desenvolvimento Limpo como Atrativo ao Investimento Ambiental: Estudo de Caso em um Frigorífico de Bovinos**. III SEGeT – Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia. 16/10/2006 à 18/10/2006. p. 1-12. 2006.

SCHILLER, D. **A polêmica do cálcio**. Disponível em: <<http://www.ivu.org/portuguese/trans/tva-calcium.html-8k>>. Acesso em: 19 jul. 2007.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia Animal - Adaptação e Meio Ambiente**. 5. ed. São Paulo: Livraria Santos Editora, 2002. 611 p.

SCHWEIGGER, A. F. Prodomus Monographiae Cheloniorum. **Köenigsberg. Arch. Naturwiss. Math.** v. 1, p. 271-458, 1812.

SECRETARIA PRO TEMPORE. **Biología y Manejo de La Tortuga *Podocnemis expansa* (Testudines, Pelomedusidae)**. Tratado de Cooperacion Amazônica. Caracas: Secretaria pro Tempore, 1997. 48 p.

SETIAN, N.; COLLI, A. S.; MARCONDES, E. **Adolescência**. São Paulo: Editora Sarvier, 1979.

SGARBIERE, V. C. **Alimentação e Nutrição: fator de saúde e desenvolvimento**. São Paulo: Almed, 1987. 387 p.

SIGNORINI, S.; SIGNORINI, J. L. **O poder anti-envelhecimento da nutrição ortomolecular**. São Paulo: Ícone, 1997. 290 p.

SILVA NETO, P. B. **Abate de Tartarugas-da-Amazônia**. São Paulo: Pró-Fauna Assessoria e Comércio Ltda., Convênio Empresa Pro-Fauna/Cenaqua-Ibama, 1998. 48p. Relatório.

SILVA, A. G. H.; COZZOLINO, S. M. F.; In: Cozzolino, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, p. 421-446, 2005.

SILVA, C. A. Uso de resíduos orgânicos na agricultura. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 597-624.

SILVA, C. C.; TEIXEIRA, A. S.; GOLDBERG, T. B. L. Impacto da ingestão de cálcio sobre a mineralização óssea em adolescentes. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 351-359, 2004.

SILVA, M. E. **Efeito do chá de berinjela no metabolismo de lipídeos em ratos**. Departamento de Alimentos, Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto. Disponível em: <http://www.enut.ufop.br/coman/v2/modelo_resumo_expandido.doc>. Acesso em: 20 maio 2010.

SILVA, P. **Introdução à Endocrinologia: Química Fisiológica**. Homeostasia do Ca²⁺. Universidade Fernando Pessoa. 4 de Janeiro de 2002. Disponível em: <<http://www2.ufp.pt/~pedros/qfisisio/hormonas1.htm>>. Acesso em: 20 mar. 2009.

SINCOBESP (Sindicato Nacional dos Coletores e Beneficiadores de Subprodutos de Origem Animal). VI Workshop de Graxarias e 2. ed. da Feira Nacional de Graxarias (FENAGRA). Moema, SP. 22 a 23 março de 2007. **Revista Negócios-Minas Gerais**. Ed. Cinco Ltda. Disponível em: <<http://www.revistanegocios.com.br/busca.asp>>. Acesso em: 10 nov. 2009.

SOARES, J. C. M.; COSTA, S. T.; CECIM, M. Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com *diabetes mellitus* aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 113-118, 2000.

SOUZA, A. I.; BATISTA FILHO, M. Diagnóstico e tratamento das anemias carenciais na gestação: consensos e controvérsias. **Rev. Bras. Saúde Mater. Infant.** v. 3, n. 4, p. 473-479. 2003.

STEKEL, A.; OLIVARES, M.; PIZARRO, F.; CHADUD, P.; LÓPEZ, I.; AMAR, M. Absorption of fortification iron from milk formulas in infants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 43, p. 917-922, 1986.

TAPIERO, H.; GATÊ, L.; TEW, K. D. Iron: deficiencies and requirements. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 55, n. 6, p. 324-332, 2001.

TEDESCO, M. J.; SELBACH, P. A.; GIANELLO, C.; CAMARGO, F. A. O. Resíduos orgânicos no solo e os impactos no ambiente In: SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Gênese, Porto alegre: 1999, p. 9-26.

TEDESCO, M. J.; SELBACH, P. A.; GIANELLO, C.; CAMARGO, F. A. O. Resíduos orgânicos no solo e os impactos no ambiente In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008., p. 113-135.

TEEGARDEN, D.; GUNTHER, C. Can the controversial relationship between dietary calcium and body weight be mechanistically explained by alterations in appetite and food intake? **Nutrition Reviews**, v. 66, n. 10, p. 601-605, out. 2008.

TELHADO, S. F. P. **Desempenho e produtividade de milho em consórcio com adubos verdes em sistema orgânico de produção**. 2007. 121 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ-USP), Piracicaba, 2007.

TOMMASI, L. R., 1994. **Estudo de Impacto Ambiental**. São Paulo: Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo. 355 p.

UCHIMURA, T. T. **Anemia e desnutrição em escolares ingressantes nas escolas estaduais de Maringá, PR**. 1994. Dissertação (Mestrado em Nutrição)- Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, SP, 1994.

UNICEF-CEPAL. **Indicadores sobre la Situación de la infancia en América Latina y el Caribe**. Santiago de Chile, 1986; 27 p.

VAN DE VIJVER, L. P. L.; KARDINAAL, A. F. M.; CHARZEWSKA, J.; ROTILY, M.; CHARLES, P.; MAGGIOLINI, M.; ANDO, S.; VÄÄNÄNEN, K.; WAJSZCZYK, B.; HEIKKINEN, J.; DELORAINE, A.; SCHAAFSMA, G. Calcium intake is weakly but consistently negatively associated with iron status in girls and women in six European countries. **The Journal of Nutrition**, 129, p. 963-968, 1999.

VASHI, N.; JAGATIANI, N. Plasma Cortisol and its Relation to Malnutrition Indian **Pediat**. 1980; 17: 59.

VENQUIARUTO, L. D.; DALLAGO, R. M.; BIDEL, A. C. R.; TACCA, J. A. Extração de cálcio de casca de ovo: avaliação de diferentes soluções extratoras. **XVI Encontro de Química da Região Sul (16-SBQSul) FURB**, 13 a 15 de novembro de 2008.

VERAS, C. **Notícia Agência Estado**. Disponível em <<http://www.agenciaestado22nov2008/noticia>>. Acesso em: 10 dez. 2008.

VIANNA, C. A Tartaruga no Contexto Histórico da Amazônia Brasileira. In: **VIII Encontro sobre quelônios da Amazônia**, 1991, Belém: Sociedade de Preservação aos Recursos Naturais e Culturais da Amazônia-SOPREM, 1991. p. 2-7.

VIZEU, V. E.; FEIJÓ, M. B. S.; CAMPOS, R. C. Determinação da composição mineral de diferentes formulações de multimistura. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 254-258, abr./ jun. 2005.

WARNOCK, D. G. Renal Osteodystrophy. **Tratado de Medicina Interna**, v. 2, 20. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1522-1526, 1997.

WARRIER, R. P.; DOLE, M. G.; WARRIER, J.; SUSKIND, R. M. The anemia of malnutrition. In: Suskind RM, Lewinter-Suskind L, editores. The malnourished child. **Nestlé Nutrition Workshop Series**, 19. New York: Nestlé, Raven Press; 1990, p.71-72.

WHO (World Health Organization). **Sixth Report on the World Health Situation 1973-1977**, Geneve, 1980.

WIJAYANTI, N.; KATZ, N. Immenschuh. Biology of heme in health and disease. **Curr Med Chem**. v. 11, n. 8, 2004, p. 981-986.

WINICK, M.; NOBLE, A. Cellular response in rats during malnutrition and various ages. **The Journal of Nutrition**, 1966; 89:300.

WOOLF, A. D.; PFLEGER, B. Burden of osteoporosis and fractures in developing countries. **Curr. Osteoporos. Rep.**, Phyladelphia, v. 3, n. 3, p. 84-91, 2005.

Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005: WHO Global Database on Anaemia. Editors: Benoist, B.; McLean, E.; Egli, I.; Cogswell, M. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. World Health Organization (WHO), Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta 2008, 41 p.

ZANGERL, R. The Turtle Shell. In: Gans, C., editor. **Biology of the Reptilia**. v.1, Morphology A. Bellairs, A' d'A., Parsons, T. S., coeditors, London and New York: Academic Press, 1969, Cap. 6, p.311-321.

ZEMEL, M. B.; SHI, H.; GREER, B; DIRIENZO, D.; ZEMEL, P. C. Regulation of adiposity by dietary calcium. **The FASEB Journal**, 14, p. 1132-1138, 2000.

ZEPEDA, V. **Diagnóstico de lesões ósseas e osteoporose ganham novo impulso no país.** LIMA, I. Boletim da FAPERJ. Semana de 12 à 18 de fevereiro de 2009. Ano 04, n. 223. Disponível em <http://www.faperj.br/home-boletim83B.phtml?ctx_cod=1.6.268>. Acesso em: 12 fev. 2009.

8 ANEXOS

Anexo 1 - Composição centesimal, teores de cálcio, ferro e fósforo e valor energético total (VET) da farinha de casco de Tartaruga-da-Amazônia (*P. expansa*).

Parâmetros	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Média	Desvio padrão
Umidade (%)	5,45	5,60	5,51	5,52	0,08
Proteína (%)	25,26	24,75	24,26	24,76	0,50
Lipídios (%)	0,63	0,64	0,66	0,64	0,02
Cinzas (%)	42,33	42,78	42,23	42,45	0,29
Cálcio (mg/100g)	7700,24	7698,65	7701,23	7700,04	1,30
Ferro (mg/100g)	19,65	19,68	19,62	19,65	0,03
Fósforo (mg/100g)	9680,07	9742,73	9774,27	9732,36	47,95
VET (kcal/100g)	106,71	104,76	102,98	104,82	1,87

Anexo 2 - Composição centesimal, teor de cálcio e ferro e valor energético total (VET) da ração RC.

Parâmetros	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Média	Desvio padrão
Umidade (%)	9,81	9,66	9,75	9,74	0,08
Proteína (%)	16,83	16,87	16,79	16,83	0,04
Lipídios (%)	7,18	7,22	7,19	7,20	0,02
Carboidratos totais (%)	57,62	53,95	55,26	55,61	1,86
Cinzas (%)	2,22	1,58	2,41	2,07	0,43
Cálcio (mg/100g)	452,52	456,32	455,62	454,82	2,03
Ferro (mg/100g)	4,25	5,02	3,02	4,10	1,01
VET (kcal/100g)	362,42	348,26	352,91	354,53	7,22

Anexo 3 - Composição centesimal, teor de cálcio e ferro e valor energético total (VET) da ração RDCa.

Parâmetros	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Média	Desvio padrão
Umidade (%)	9,80	9,70	10,20	9,90	0,26
Proteína (%)	16,64	16,46	16,58	16,56	0,09
Lipídios (%)	7,20	7,18	7,26	7,21	0,04
Carboidratos totais (%)	59,20	58,00	57,25	58,15	0,98
Cinzas (%)	1,84	1,74	1,82	1,80	0,05
Cálcio (mg/100g)	231,82	228,06	221,52	227,13	5,21
Ferro (mg/100g)	4,08	4,12	4,07	4,09	0,03
VET (kcal/100g)	368,16	362,46	360,66	363,76	3,92

Anexo 4 - Composição centesimal, teor de cálcio e ferro e valor energético total (VET) da ração RDFe.

Parâmetros	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Média	Desvio padrão
Umidade (%)	10,00	9,94	10,06	10,0	0,06
Proteína (%)	16,64	16,80	16,71	16,72	0,08
Lipídios (%)	7,30	7,19	7,25	7,25	0,06
Carboidratos totais (%)	58,20	57,45	56,35	57,33	0,93
Cinzas (%)	2,06	1,96	2,12	2,05	0,08
Cálcio (mg/100g)	462,01	455,01	432,89	449,97	15,20
Ferro (mg/100g)	2,08	2,13	2,03	2,08	0,05
VET (kcal/100g)	365,06	361,71	357,49	361,42	3,79

Anexo 5 - Composição centesimal, teor de cálcio e ferro e valor energético total (VET) da ração RFC.

Parâmetros	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3	Média	Desvio padrão
Umidade (%)	8,76	8,32	8,53	8,54	0,22
Proteína (%)	20,19	20,17	20,21	20,19	0,02
Lipídios (%)	7,60	7,54	7,53	7,56	0,04
Carboidratos totais (%)	36,80	38,20	37,30	37,43	0,71
Cinzas (%)	20,40	19,76	20,36	20,17	0,36
Cálcio (mg/100g)	7450,68	7368,00	7323,82	7380,83	64,40
Ferro (mg/100g)	7,79	9,18	8,70	8,55	0,70
VET (kcal/100g)	296,36	301,34	297,81	298,50	2,56

ANEXO 6 – Estatísticas dos anexos 2, 3, 4 e 5.

Tabela de Análise de Variância do teor de umidade das RC, RDCa, RDFe e RFC.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	4.163	1.388	43.460	0.0000
erro	8	0.256	0.032		
Total corrigido	11	4.419			

Tabela de Análise de Variância do teor de proteína das RC, RDCa, RDFe e RFC.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	27.481	9.160	2176.683	0.000
erro	8	0.034	0.004		
Total corrigido	11	27.514			

Tabela de Análise de Variância do teor de lipídeos das RC, RDCa, RDFe e RFC.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	0.261	0.087	52.382	0.000
erro	8	0.013	0.002		
Total corrigido	11	0.274			

Tabela de Análise de Variância do teor de carboidratos das RC, RDCa, RDFe e RFC.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	874.252	291.417	201.124	0.0000
erro	8	11.592	1.449		
Total corrigido	11	885.844			

Tabela de Análise de Variância do teor de resíduo mineral fixo (cinzas) das RC, RDCa, RDFe e RFC.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	745.515	248.505	3040.128	0.0000
erro	8	0.654	0.082		
Total corrigido	11	746.169			

Tabela de Análise de Variância do teor de cálcio das RC, RDCa, RDFe e RFC.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	110462603.887	36820867.962	33403.770	0.0000
erro	8	8818.374	1102.297		
Total corrigido	11	110471422.261			

Tabela de Análise de Variância do teor de ferro das RC, RDCa, RDFe e RFC.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	67.423	22.474	59.171	0.0000
erro	8	3.039	0.380		
Total corrigido	11	70.461			

Tabela de Análise de Variância do valor energético total das RC, RDCa, RDFe, RFC.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	3	8620.551	2873.517	130.061	0.0000
erro	8	176.750	22.094		
Total corrigido	11	8797.300			

Anexo 7 - Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g) de seis ratos pertencentes ao grupo GC alimentados com ração RC, com início e término aos 28 e 105 dias de vida, respectivamente.

Animais	Peso dos animais (g)												GP
	28 d	35 d	42 d	49 d	56 d	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105 d	
1	68,00	94,00	143,00	183,00	212,00	247,50	278,00	311,00	321,00	336,00	342,50	375,00	307,00
2	69,00	99,00	138,50	141,00	134,00	141,00	143,00	127,00	128,50	131,50	144,00	352,00	283,00
3	52,00	83,00	120,00	154,80	184,00	222,00	251,00	273,50	280,00	288,50	307,00	399,00	347,00
4	62,30	94,00	142,00	142,90	202,00	254,50	294,00	328,00	338,00	348,50	367,00	368,00	305,70
5	51,00	83,80	136,00	185,00	228,00	268,00	300,50	334,00	336,50	350,00	354,00	314,50	263,50
6	44,00	75,30	123,60	170,00	216,80	278,50	314,50	360,00	370,00	373,00	387,00	149,50	105,50
Média	57,72	88,18	133,85	162,78	196,13	235,25	263,50	288,92	295,67	304,58	316,92	326,33	268,62
Desvio Padrão	± 10,20	± 8,91	± 9,73	± 19,43	± 33,87	± 50,04	± 62,91	± 84,33	± 86,97	± 89,30	± 88,82	± 91,05	± 84,66

Anexo 8 - Consumo de ração RC semanal e total (CT) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GC, com início e término aos 28 e 105 dias de vida, respectivamente.

Animais	Consumo ração (g)											CT	CEA
	35 d	42 d	49 d	56 d	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105 d		
1	72,70	90,60	95,20	84,30	129,30	110,50	109,60	100,90	132,50	121,50	82,50	1129,60	0,27
2	79,60	86,90	67,90	42,30	52,70	42,00	31,00	43,50	59,50	75,00	81,00	661,40	0,43
3	82,50	78,90	86,30	83,20	117,00	97,00	101,40	92,10	117,50	108,00	113,00	1076,90	0,32
4	77,40	95,70	71,20	117,70	132,00	127,00	128,90	11,10	124,50	135,50	162,50	1183,50	0,26
5	70,10	91,50	110,20	111,40	149,00	130,50	134,50	102,00	123,00	109,50	119,50	1251,20	0,21
6	74,40	81,60	109,20	113,00	179,70	141,00	161,40	129,60	130,00	141,00	123,50	1384,40	0,08
Média	76,12	87,53	90,00	91,98	126,62	108,00	111,13	79,87	114,50	115,08	113,67	1114,50	0,26
Desvio Padrão	±4,59	±6,36	±18,22	±28,58	±42,22	±35,89	±44,51	±43,83	±27,46	±23,74	±30,18	±246,27	± 0,12

Anexo 9 - Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CT) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GDca recebendo ração RDca.

Animais	Peso dos animais						Consumo ração					
	28 d	35 d	42 d	49 d	56 d	GP	35 d	42 d	49 d	56 d	CT	CEA
1	53,00	68,00	88,00	103,00	108,00	55,00	58,00	47,00	49,00	44,50	198,50	0,28
2	38,00	50,30	75,00	99,40	101,60	63,60	58,10	47,00	49,00	44,50	198,60	0,32
3	52,00	68,90	87,00	101,00	105,00	53,00	58,00	47,00	49,00	44,50	198,50	0,27
4	49,00	68,00	83,00	102,00	109,00	60,00	55,00	47,00	49,00	44,50	195,50	0,31
5	60,50	72,10	89,80	104,00	113,00	52,50	58,00	47,00	49,00	44,50	198,50	0,26
6	31,00	52,00	72,00	87,00	85,00	54,00	54,50	47,00	49,00	44,50	195,00	0,28
Média	47,25	63,22	82,47	99,40	103,60	56,35	56,93	47,00	49,00	44,50	197,43	0,29
Desvpad	±10,81	±9,48	±7,36	±6,28	±9,89	±4,46	±1,70	±0,00	±0,00	±0,00	±1,70	±0,02

Anexo 10 - Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CT) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GDfe recebendo ração RDfe

Animais	Peso dos animais (g)						Consumo de ração (g)					
	28 d	35 d	42 d	49 d	56 d	GP	35 d	42 d	49 d	56 d	CT	CEA
1	70,00	79,00	93,60	107,00	111,00	41,00	54,30	47,00	49,00	44,50	194,80	0,21
2	60,00	73,00	89,00	102,00	104,00	44,00	59,00	47,00	49,00	44,50	199,50	0,22
3	39,00	55,40	74,00	75,00	82,00	43,00	55,30	47,00	44,00	42,00	188,30	0,23
4	54,00	66,00	86,00	102,00	82,00	28,00	59,00	47,00	49,00	36,00	191,00	0,15
5	49,00	55,00	74,80	94,00	100,70	51,70	52,80	46,50	49,00	44,50	192,80	0,27
6	61,00	64,00	84,00	99,00	106,00	45,00	29,00	47,00	49,00	44,50	169,50	0,27
Média	55,50	65,40	83,57	96,50	97,62	42,12	51,57	46,92	48,17	42,67	189,32	0,22
Desvpad	±10,75	±9,52	±7,81	±11,36	±12,55	±7,81	±11,34	±0,20	±2,04	±3,42	±10,42	±0,04

ANEXO 11 – Estatísticas dos anexos 7, 9 e 10.

Tabela de Análise de Variância do Ganho de peso total dos GC, GDCa e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	32422.431	16211.216	28.477	0.0000
erro	15	8539.172	569.278		
Total corrigido	17	40961.603			

ANEXO 12 – Estatísticas dos anexos 8, 9 e 10.

Tabela de Análise de Variância do Consumo total de ração dos GC, GDCa e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	92928.041	46464.021	84.240	0.0000
erro	15	8273.515	551.568		
Total corrigido	17	101201.556			

ANEXO 13 – Estatística dos anexos 8 e 9.

Tabela de Análise de Variância do Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) entre os GC e GDCa obtido na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	0.034	0.034	8.737	0.014
erro	10	0.039	0.004		
Total corrigido	11	0.073			

ANEXO 14 – Estatística dos anexos 8 e 10.

Tabela de Análise de Análise de Variância do Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) entre os GC e GDFe obtida na primeira fase experimental.FV

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	0.085	0.085	18.367	0.002
erro	10	0.046	0.005		
Total corrigido	11	0.131			

ANEXO 15 – Estatística dos anexos 8, 9 e 10.

Tabela de Análise de Variância do Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) entre os GC, GDCa e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	0.087	0.044	13.317	0.0005
erro	15	0.049	0.003		
Total corrigido	17	0.136			

Anexo 16 - Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g) de seis ratos pertencentes ao grupo GC alimentados com ração RC, com início e término aos 56 e 105 dias de vida, (segunda fase experimental).

Peso dos animais									
Animais	56 d	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105 d	GP
1	212,00	247,50	278,00	311,00	321,00	336,00	342,50	375,00	163,00
2	134,00	141,00	143,00	127,00	128,50	131,50	144,00	352,00	218,00
3	184,00	222,00	251,00	273,50	280,00	288,50	307,00	399,00	215,00
4	202,00	254,50	294,00	328,00	338,00	348,50	367,00	368,00	166,00
5	228,00	268,00	300,50	334,00	336,50	350,00	354,00	314,50	86,50
6	216,80	278,50	314,50	360,00	370,00	373,00	387,00	149,50	-67,30
Média	196,13	235,25	263,5	288,92	295,67	304,58	316,92	326,33	130,20
Desvio Padrão	± 33,87	± 50,04	± 62,91	± 84,33	± 86,97	± 89,30	± 88,82	± 91,05	± 107,86

Anexo 17 - Consumo de ração RC semanal e total (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GC, com início e término aos 63 e 105 dias de vida.

Animais	Consumo ração							CT	CEA
	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105 d		
1	129,30	110,50	109,60	100,90	132,50	121,50	82,50	786,80	0,21
2	52,70	42,00	31,00	43,50	59,50	75,00	81,00	384,70	0,57
3	117,00	97,00	101,40	92,10	117,50	108,00	113,00	746,00	0,29
4	132,00	127,00	128,90	11,10	124,50	135,50	162,50	821,50	0,20
5	149,00	130,50	134,50	102,00	123,00	109,50	119,50	868,00	0,10
6	179,70	141,00	161,40	129,60	130,00	141,00	123,50	1006,20	-0,07
Média	126,62	108	111,13	79,87	114,5	115,08	113,67	768,87	0,22
Desvio Padrão	±42,22	±35,89	±44,51	±43,83	±27,46	±23,74	±30,18	±208,50	±0,21

Anexo 18 - Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GRCa recebendo ração RC (GRCaRC).

Peso dos animais										Consumo de ração								
Animais	56 d	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105 d	GT	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105d	CT	CEA
1	117,00	182,50	223,50	252,00	267,50	297,00	302,50	315,00	198,00	126,80	103,50	95,50	87,00	129,50	113,50	127,00	782,80	0,25
2	104,00	166,00	203,50	224,50	240,00	255,00	272,50	279,00	175,00	128,60	101,50	95,00	97,00	119,00	118,00	125,50	784,60	0,22
3	112,00	193,50	243,50	288,00	314,00	351,50	374,50	392,00	280,00	155,60	126,50	127,00	118,00	178,00	160,00	189,00	1054,10	0,27
4	102,40	145,00	182,00	199,00	204,00	217,00	238,50	241,50	139,10	104,30	103,50	90,50	79,00	131,50	116,00	126,00	750,80	0,19
5	115,00	191,50	231,50	262,00	277,50	294,00	319,00	331,00	216,00	138,30	110,00	102,60	95,40	127,50	128,00	142,00	843,80	0,26
6	93,00	149,00	185,50	225,50	235,00	248,50	247,00	263,50	170,50	126,30	109,50	118,00	108,00	141,50	126,10	152,50	881,90	0,19
Média	107,23	231,63	211,58	241,83	256,33	277,17	292,33	303,67	196,43	129,98	109,08	104,77	97,40	137,83	126,93	143,67	849,67	0,23
Desvpad	±9,11	±21,18	±25,21	±31,76	±38,36	±47,19	±50,82	±54,34	±48,55	±16,80	±9,21	±14,55	±14,05	±20,97	±17,18	±24,72	±110,77	±0,03

Anexo 19 - Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GRCa recebendo ração RFC (GRCaRFC).

Peso dos animais										Consumo total								
Animais	56 d	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105 d	GT	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105d	CT	CEA
1	120,00	187,00	227,50	267,00	282,00	300,50	310,50	316,50	196,50	160,40	139,50	154,50	135,50	174,50	141,00	39,00	944,40	0,21
2	111,00	172,50	212,50	244,00	253,00	266,00	275,50	271,50	160,50	141,60	126,00	128,50	108,00	146,50	137,50	25,00	813,10	0,20
3	92,00	135,50	171,00	203,50	215,00	232,00	244,50	243,50	151,50	126,60	110,00	118,50	99,50	147,00	123,50	26,50	751,60	0,20
3	104,00	157,50	201,50	244,00	258,50	287,50	309,00	312,00	208,00	137,70	135,50	144,10	124,40	166,50	149,50	43,50	901,20	0,23
5	110,00	165,50	211,00	240,50	255,00	280,00	292,00	293,00	183,00	142,30	139,50	139,40	115,60	160,00	144,00	34,50	875,30	0,21
6	112,00	177,50	217,00	263,00	280,00	296,50	291,00	299,00	187,00	148,60	142,50	167,00	145,00	166,00	122,00	34,00	925,10	0,20
Média	108,17	165,92	206,75	243,67	257,25	277,08	287,08	289,25	181,08	142,87	132,17	142,00	121,33	160,08	136,25	33,75	868,45	0,21
Desvpad	±9,43	±17,99	±19,45	±22,55	±24,25	±25,29	±24,56	±27,49	±21,45	±11,26	±12,29	±17,48	±17,07	±11,31	±11,18	±7,10	±73,23	±0,01

Anexo 20 - Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GRFE recebendo ração RC (GRFeRC).

Animais	Peso dos animais (g)									Consumo de ração (g)								
	56 d	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105 d	GP	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105d	CT	CEA
1	114,0	188,5	231,5	274,0	289,5	315,5	334,5	340,5	226,50	135,30	109,50	123,50	111,00	123,00	128,00	113,50	843,80	0,27
2	106,0	166,0	216,5	251,0	269,0	303,5	323,5	334,0	228,00	119,10	102,50	127,20	104,80	129,50	120,50	150,00	853,60	0,27
3	100,0	175,5	215,0	246,0	267,0	274,0	300,5	298,0	198,00	135,70	113,50	61,50	93,00	102,50	119,50	27,00	652,70	0,30
4	96,0	169,5	208,0	240,0	257,5	280,0	293,5	305,5	209,50	128,10	121,50	139,00	108,00	98,50	130,50	132,50	858,10	0,24
5	101,0	157,0	190,5	221,5	232,5	252,5	269,0	262,0	161,00	127,50	102,50	114,50	101,50	106,00	108,50	26,00	686,50	0,23
6	96,0	178,5	226,0	259,0	273,0	293,0	314,5	319,0	223,00	157,60	131,50	108,10	107,90	115,50	122,50	27,50	770,60	0,29
Média	102,17	172,50	214,58	248,58	264,75	286,42	305,92	309,83	207,67	133,88	113,50	112,30	104,37	112,50	121,58	79,42	777,55	0,27
Desvpad	±6,88	±10,89	±14,45	±17,74	±18,95	±22,48	±23,44	±28,48	±25,60	±13,12	±11,37	±27,07	±6,44	±12,22	±7,72	±58,75	±90,10	±0,03

Anexo 21 - Ganho de peso semanal (GPS) e ganho de peso total (GPT) (g), consumo de ração semanal e consumo total de ração (CTR) (g) e Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) de seis ratos pertencentes ao grupo GRFe recebendo ração (RFC) (GRFeRFC).

Animais	56 d	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105 d	GP	63 d	70 d	77 d	84 d	91 d	98 d	105d	CT	CEA
1	109,00	171,00	208,50	237,00	246,50	264,00	276,50	269,50	160,50	145,70	129,00	138,00	132,70	123,30	139,50	25,00	833,20	0,19
2	100,00	161,50	201,00	230,00	240,50	259,50	272,50	274,00	174,00	148,20	134,50	137,00	131,50	130,00	135,50	31,00	847,70	0,21
3	95,60	146,50	184,50	220,50	225,50	239,00	256,50	254,50	158,90	130,60	125,00	144,00	129,00	135,00	139,50	32,50	835,60	0,19
4	101,00	133,00	167,50	196,00	210,50	229,50	240,50	245,00	144,00	97,60	109,00	110,50	113,00	124,50	124,00	26,00	704,60	0,20
5	114,00	171,00	201,50	234,00	254,00	273,50	282,50	291,50	177,50	131,00	113,50	115,50	122,90	128,50	125,00	128,50	864,90	0,21
6	108,00	167,50	208,50	230,50	241,00	257,00	273,00	266,00	158,00	129,40	132,50	118,40	125,85	121,75	128,00	26,50	782,40	0,20
Média	104,60	158,42	195,25	224,67	236,33	253,75	266,92	266,75	162,15	130,42	123,92	127,23	125,83	127,18	131,92	44,92	811,40	0,20
Desvpad	±6,85	±15,47	±16,18	±15,11	±15,74	±16,40	±15,55	±16,10	±12,13	±18,05	±10,43	±14,06	±7,25	±4,95	±7,12	±41,06	±59,14	±0,01

Anexo 22 – Estatística dos anexos 17, 18 e 19.

Tabela de Análise de Variância do Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) entre os GC, GRCaRC e GRCaRFC, obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	0.003	0.002	0.139	0.871
erro	15	0.169	0.011		
Total corrigido	17	0.172			

Anexo 23 – Estatística dos anexos 17, 20 e 21.

Tabela de Análise de Variância do Coeficiente de eficiência alimentar (CEA) entre os GC e GRFeRC e GRFeRFC, obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	0.014	0.007	0.608	0.557
erro	15	0.167	0.011		
Total corrigido	17	0.180			

Anexo 24 - Consumo de ração (CR) (g), Cálcio ingerido (CaI) (mg), Cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) no grupo GC ingerindo RC, durante a primeira fase experimental.

GC 1	CR (g)	CaI (mg)	CáE (mg)	CDA Ca (%)
1	20,50	93,24	44,24	52,55
2	16,18	73,57	48,62	33,91
3	12,65	57,53	28,24	50,92
4	20,05	91,19	59,17	35,11
5	5,53	25,13	11,92	52,55
6	14,00	63,67	35,57	44,14
Média	14,80	67,40	38,00	44,86
Desvio Padrão	± 5,50	± 25,20	± 16,60	± 8,61

Anexo 25 - Consumo de ração (CR) (g), Ferro ingerido (FeI) (mg), Ferro excretado (FeE) (mg) e coeficientes de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) no grupo GC ingerindo RC, durante a primeira fase experimental.

GC 1	CR (g)	FeI (mg)	FeE (mg)	CDA Fe (%)
1	20,50	0,84	0,65	22,62
2	16,18	0,66	0,59	10,61
3	12,65	0,52	0,46	11,54
4	20,05	0,82	0,71	13,41
5	5,53	0,23	0,20	13,04
6	14,00	0,57	0,37	35,09
Média	14,80	0,60	0,50	17,72
Desvio Padrão	± 5,50	± 0,20	± 0,20	± 9,54

Anexo 26 - Consumo de ração (CR) (g), Cálcio ingerido (CaI) (mg), Cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) no GDCa ingerindo RDCa, durante a primeira fase experimental.

GDCa	CR (g)	CaI (mg)	CaE (mg)	CDA Ca (%)
1	7,00	15,90	1,64	89,69
2	7,00	15,90	5,12	67,80
3	7,00	15,90	0,54	96,60
4	7,00	15,90	1,32	91,70
5	7,00	15,90	1,31	91,76
6	7,00	15,90	0,39	97,55
Média	7,00	15,90	1,72	89,18
Desvio Padrão	± 0,00	± 0,00	± 1,73	± 10,91

Anexo 27 - Consumo de ração (CR) (g), Ferro ingerido (FeI) (mg), Ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) no grupo GDFe ingerindo ração RDFe, durante a primeira fase experimental.

GDFe	CR (g)	FeI (mg)	FeE (mg)	CDA Fe (%)
1	5,35	0,11	0,07	36,36
2	7,00	0,15	0,12	20,00
3	6,80	0,14	0,08	42,86
4	7,00	0,15	0,13	13,33
5	7,00	0,15	0,12	20,00
6	7,00	0,15	0,12	20,00
Média	6,69	0,14	0,11	25,43
Desvio Padrão	± 0,66	± 0,01	± 0,03	± 11,47

Anexo 28 - Estatística dos anexos 24 e 26.

Tabela de Análise de Variância do consumo de ração (CR) entre os GC e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	65889.720	65889.720	85.227	<0.0001
erro	10	7731.047	773.105		
Total corrigido	11	73620.767			

Anexo 29 - Estatística dos anexos 24 e 27

Tabela de Análise de Variância do consumo de ração (CR) entre os GC e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	73304.701	73304.701	88.756	<0.0001
erro	10	8259.082	825.908		
Total corrigido	11	81563.783			

Anexo 30 - Estatística dos anexos 24 e 26

Tabela de Análise de Variância do cálcio ingerido (CaI) entre os GC e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	72805.700	72805.700	88.562	<0.0001
erro	10	8021.031	820.689		
Total corrigido	11	84763.652			

Anexo 31 - Estatística dos anexos 25 e 27

Tabela de Análise de Variância do ferro ingerido (FeI) entre os GC e GDFe obtida na primeira fase experimental

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	62805.700	62805.700	58.562	<0.0001
erro	10	6021.031	420.689		
Total corrigido	11	74763.652			

Tabela de Análise de Variância do ferro excretado (FeE) entre os GC e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	32805.700	32805.700	38.462	<0.0001
erro	10	2021.096	320.720		
Total corrigido	11	54802.520			

Tabela de Análise de Variância do coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) entre os GC e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	30202.584	15101.292	0,810	0,365
erro	10	285512.800	18356.586		
Total corrigido	11	368110.389			

ANEXO 32 - Estatística dos anexos 24 e 26.

Tabela de Análise de variância do cálcio excretado (CaE) entre os GC e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	66752.700	66752.700	38.462	<0.0001
erro	10	7531.096	720.720		
Total corrigido	11	72480.520			

Tabela de Análise de variância do coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) entre os GC e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	567502.600	567502.600	80.325	<0.0001
erro	10	6531.041	620.720		
Total corrigido	11	62480.320			

Anexo 33 - Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC1) no período de 28 a 56 dias de vida (primeira fase experimental).

Anexo: 28-56 dias de vida

Grupo Controle	Consumo total de ração (g)	Ganho de peso total (g)	Consumo total de proteína (g)	IC	Consumo total de energia (Kcal)
1	342,80	144,00	57,69	2,50	1215,33
2	276,70	65,00	46,57	1,40	980,98
3	330,90	132,00	55,69	2,37	1173,14
4	362,00	139,70	60,92	2,29	1283,40
5	383,20	177,00	64,49	2,74	1358,56
6	378,20	172,80	63,65	2,71	1340,83
Média	345,63	138,42	58,17	2,34	1225,37
Desvio Padrão	± 39,29	± 40,34	± 6,61	± 0,49	± 139,28

Anexo 34 - Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC2) no período de 63 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).

Anexo: 63-105 dias de vida

Grupo Controle	Consumo total de ração (g)	Ganho de peso total (g)	Consumo total de proteína (g)	IC	Consumo total de energia (Kcal)
1	786,80	163,00	132,42	1,23	2789,44
2	384,70	218,00	64,75	3,37	1363,88
3	746,00	215,00	125,55	1,71	2644,79
4	821,50	166,00	138,26	1,20	2912,46
5	868,00	86,50	146,08	0,59	3077,32
6	1006,20	-67,30	169,34	-0,40	3567,28
Média	768,87	130,20	129,40	1,28	2725,86
Desvio Padrão	± 208,50	± 107,86	± 35,09	± 1,25	± 739,18

Anexo 35 - Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC) no período de 28 a 105 dias de vida (primeira e segunda fases experimentais).

28 -105 dias de vida

Grupo Controle	Consumo total de ração (g)	Ganho de peso total (g)	Consumo total de proteína (g)	IC	Consumo total de energia (Kcal)
1	1129,60	307,00	190,11	1,61	4004,77
2	661,40	283,00	111,31	2,54	2344,86
3	1076,90	347,00	181,24	1,91	3817,93
4	1183,50	305,70	199,18	1,53	4195,86
5	1251,20	263,50	210,58	1,25	4435,88
6	1384,40	105,50	232,99	0,45	4908,11
Média	1114,50	268,62	187,57	1,43	3951,24
Desvio Padrão	± 246,27	± 84,66	± 41,45	± 2,04	± 873,09

Anexo 36 - Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GDCa no período de 28 a 56 dias de vida (primeira fase experimental).

28-56 dias de vida					
Grupo Depletado em Cálcio	Consumo total de ração (g)	Ganho de peso total (g)	Consumo total de proteína (g)	IC	Consumo total de energia (Kcal)
1	198,50	55,00	32,87	1,67	722,06
2	198,60	63,60	32,89	1,93	722,43
3	198,50	53,00	32,87	1,61	722,06
4	195,50	60,00	32,37	1,85	711,15
5	198,50	52,50	32,87	1,60	722,06
6	195,00	54,00	32,29	1,67	709,33
Média	197,43	56,35	32,69	1,72	718,18
Desvio Padrão	± 1,70	± 4,46	± 0,28	± 0,14	± 6,18

Anexo 37 - Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GDFe no período de 28 a 56 dias de vida (primeira fase experimental).

28-56 dias de vida					
Grupo Depletado em Ferro	Consumo total de ração (g)	Ganho de peso total (g)	Consumo total de proteína (g)	IC	Consumo total de energia (Kcal)
1	194,80	41,00	32,57	1,26	704,05
2	199,50	44,00	33,36	1,32	721,03
3	188,30	43,00	31,48	1,37	680,55
4	191,00	28,00	31,94	0,88	690,31
5	192,80	51,70	32,24	1,60	696,82
6	169,50	45,00	28,34	1,59	612,61
Média	189,32	42,12	31,66	1,34	684,23
Desvio Padrão	± 10,42	± 7,81	± 1,74	± 0,26	± 37,64

Anexo 38 - Estatísticas dos anexos 33, 36 e 37.

Tabela de Análise de Variância do Consumo total de proteínas dos animais da primeira fase experimental (GC, GDCa e GDFe).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	2706.021	1353.011	86.708	0.0000
erro	15	234.063	15.604		
Total corrigido	17	2940.084			

Tabela de Análise de Variância do Consumo total de energia dos animais da primeira fase experimental (GC, GDCa e GDFe).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	1102468.253	551234.127	79.299	0.0000
erro	15	104269.798	6951.320		
Total corrigido	17	1206738.051			

Tabela de Análise de Variância do Índice de crescimento (IC) dos animais da primeira fase experimental (GC, GDCa e GDFe).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	3.042	1.521	13.818	0.0004
erro	15	1.651	0.110		
Total corrigido	17	4.693			

Anexo 39 - Estatística dos Anexos 33 e 36

Tabela de Análise de Variância do Índice de crescimento (IC) dos animais dos grupos estudados para o cálcio obtida na primeira fase experimental (GC e GDCa).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	1.129	1.129	8.669	0.015
erro	10	1.302	0.130		
Total corrigido	11	2.430			

Anexo 40 - Estatística dos anexos 33 e 37

Tabela de Análise de Variância do Índice de crescimento (IC) dos animais dos grupos estudados para o ferro obtida na primeira fase experimental (GC e GDFe).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	2.990	2.990	19.183	0.001
erro	10	1.559	0.156		
Total corrigido	11	4.549			

Anexo 41 - Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GRCa com a ração RC (GRCaRC) no período de 56 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).

Grupo Repletado em Cálcio ração controle	Consumo total de ração (g)	Ganho peso total (g)	Consumo total de proteína (g)	IC	Consumo total de energia (Kcal)
1	782,80	198,00	131,75	1,50	2775,26
2	784,60	175,00	132,05	1,33	2781,64
3	1054,10	280,00	177,41	1,58	3737,10
4	750,80	139,10	126,36	1,10	2661,81
5	843,80	216,00	142,01	1,52	2991,52
6	881,90	170,50	148,42	1,15	3126,60
Média	849,67	196,43	143,00	1,36	3012,32
Desvio Padrão	± 110,77	± 48,55	± 18,64	± 0,20	± 392,70

Anexo 42 - Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GRCa com a ração RFC (GRCaRFC) no período de 56 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).

Grupo Repletado em Cálcio ração casco	Consumo total de ração (g)	Ganho peso total (g)	Consumo total de proteína (g)	IC	Consumo total de energia (Kcal)
1	944,40	196,50	190,67	1,03	2819,03
2	813,10	160,50	164,16	0,98	2427,10
3	751,60	151,50	151,75	1,00	2243,53
4	901,20	208,00	181,95	1,14	2690,08
5	875,30	183,00	176,72	1,04	2612,77
6	925,10	187,00	186,78	1,00	2761,42
Média	868,45	181,08	175,34	1,03	2592,32
Desvio Padrão	±73,23	± 21,45	± 14,78	± 0,06	± 218,60

Anexo 43 - Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GRFe com a ração RC (GRFeRC) no período de 56 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).

Grupo Repletado em Ferro ração controle	Consumo total de ração (g)	Ganho peso total (g)	Consumo total de proteína (g)	IC	Consumo total de energia (Kcal)
1	843,80	226,50	142,01	1,59	2991,52
2	853,60	228,00	143,66	1,59	3026,27
3	652,70	198,00	109,85	1,80	2314,02
4	858,10	209,50	144,42	1,45	3042,22
5	686,50	161,00	115,54	1,39	2433,85
6	770,60	223,00	129,69	1,72	2732,01
Média	777,55	207,67	130,86	1,59	2756,65
Desvio Padrão	± 90,10	± 25,60	± 15,16	± 0,16	± 319,42

Anexo 44 - Consumo total de ração (g), ganho de peso total (g), consumo total de proteína (g), índice de crescimento (IC) e consumo total de energia (kcal) dos animais pertencentes ao grupo GRFe com a ração RFC (GRFeRFC) no período de 56 a 105 dias de vida (segunda fase experimental).

Grupo Repletado em Ferro ração casco	Consumo total de ração (g)	Ganho peso total (g)	Consumo total de proteína (g)	IC	Consumo total de energia (Kcal)
1	833,20	160,50	168,22	0,95	2487,10
2	847,70	174,00	171,15	1,02	2530,38
3	835,60	158,90	168,71	0,94	2494,27
4	704,60	144,00	142,26	1,01	2103,23
5	864,90	177,50	174,62	1,02	2581,73
6	782,40	158,00	157,97	1,00	2335,46
Média	811,40	162,15	163,82	0,99	2422,03
Desvio Padrão	± 59,14	± 12,13	± 11,94	± 0,04	± 176,54

Anexo 45 - Estatísticas dos anexos 34, 41, 42, 43 e 44.

Tabela de Análise de Variância do ganho de peso dos animais da segunda fase experimental (grupos controle (GC2), repletados em cálcio (GRCaRC e GRCaRFC) e repletados em ferro (GRFeRC e GRFeRFC)).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	22406.309	5601.577	1.836	0.1534
erro	25	76274.550	3050.982		
Total corrigido	29	98680.859			

Tabela de Análise de Variância do consumo total de ração dos animais da segunda fase experimental (grupos controle (GC2), repletados em cálcio (GRCaRC e GRCaRFC) e repletados em ferro (GRFeRC e GRFeRFC)).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	45613.518	11403.380	0.784	0.5463
erro	25	363588.757	14543.550		
Total corrigido	29	409202.275			

Tabela de Análise de Variância do consumo total de proteínas dos animais da segunda fase experimental (grupos controle (GC2), repletados em cálcio (GRCaRC e GRCaRFC) e repletados em ferro (GRFeRC e GRFeRFC)).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	9967.315	2491.829	5.742	0.0020
erro	25	10848.434	433.937		
Total corrigido	29	20815.749			

Tabela de Análise de Variância do consumo total de energia dos animais da segunda fase experimental (grupos controle (GC2), repletados em cálcio (GRCaRC e GRCaRFC) e repletados em ferro (GRFeRC e GRFeRFC)).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	1141612.160	285403.040	1.619	0.2007
erro	25	4407883.442	176315.338		
Total corrigido	29	5549495.601			

Anexo 46 - Estatística dos anexos 34, 41 e 42.

Tabela de Análise de Variância do Índice de crescimento (IC) dos animais estudados para o cálcio na segunda fase experimental (GC2, GRCaRC e GRCaRFC).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	0.359	0.180	0.334	0.722
erro	15	8.083	0.539		
Total corrigido	17	8.442			

Anexo 47 - Estatística dos anexos 34, 43 e 44

Tabela de Análise de Variância do Índice de crescimento (IC) dos animais estudados para o ferro na segunda fase experimental (GC2, GRFeRC e GRFeRFC).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	1.080	0.540	1.014	0.386
erro	15	7.987	0.532		
Total corrigido	17	9.068			

Anexo 48 - Estatística dos anexos 34, 41, 42, 43 e 44.

Tabela de Análise de Variância do Índice de crescimento (IC) dos animais na segunda fase experimental (GC2, GRCaRC, GRCaRFC, GRFeRC e GRFeRFC).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	1.469	0.367	1.118	0.3702
erro	25	8.210	0.328		
Total corrigido	29	9.679			

Anexo 49 - Estatística dos anexos 17, 18, 19, 20 e 21.

Tabela de Análise de Variância do Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) dos animais na segunda fase experimental (GC, GRCaRC, GRCaRFC, GRFeRC e GRFeRFC).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	0.016	0.004	0.432	0.7845
erro	25	0.237	0.009		
Total corrigido	29	0.254			

Anexo 50 - Valores obtidos nas análises de hematócrito (%) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.

Parâmetro	Grupo							
	Depletado		Repletado em Cálcio		Repletado em ferro			
Hematócrito (%)	Controle 1	Controle 2	Cálcio	Ferro	Ração controle	Ração casco	Ração controle	Ração casco
1	38	39	20	25	42	31	44	25
2	36	40	31	43	38	26	42	28
3	40	39	22	10	39	25	45	31
4	37	37	32	33	42	28	37	31
5	39	34	42	45	37	29	39	24
6	38	39	28	38	20	19	45	36
Média	38,00	38,00	29,17	32,33	36,33	26,33	42	29,17
Desvio Padrão	± 1,41	± 2,19	± 7,91	± 13,11	± 8,26	± 4,18	± 3,35	± 4,45

Anexo 51 - Estatística do anexo 50.

Tabela de Análise de variância do parâmetro hematócrito realizada entre os GC1 e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	234,083	234,083	7,251	0,023
erro	10	322,833	32,283		
Total	11	556,917			
corrigido					

Tabela de Análise de variância do parâmetro hematócrito realizada entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	477,778	238,889	7,916	0,004
erro	15	452,667	30,178		
Total corrigido	17	930,444			

Tabela de Análise de variância do parâmetro hematócrito realizada entre os GC1 e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	96,333	96,333	1,108	0,317
erro	10	869,333	86,933		
Total corrigido	11	965,667			

Tabela de Análise de variância do parâmetro hematócrito realizada entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	517,444	258,722	21,701	<0,0001
erro	15	178,833	11,922		
Total corrigido	17	696,278			

Anexo 52 - Valores obtidos nas análises de hemoglobina (g/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.

Parâmetro Hemoglobina (g/dL)	Grupo							
			Depletado		Repletado em Cálcio		Repletado em ferro	
	Controle 1	Controle 2	Cálcio	Ferro	Ração controle	Ração casco	Ração controle	Ração casco
1	12,38	13,76	11,56	10,43	14,80	7,50	14,14	6,10
2	11,12	13,76	8,66	12,07	13,51	6,60	14,23	6,70
3	13,76	14,52	9,81	2,32	13,16	7,00	12,40	7,10
4	11,98	12,34	15,08	10,08	13,76	6,90	12,60	8,10
5	14,52	8,60	11,06	12,48	12,41	7,60	14,01	7,43
6	11,90	11,50	12,49	13,08	5,51	4,40	11,10	9,30
Média	12,61	12,41	11,44	10,08	12,19	6,67	13,08	7,46
Desvio Padrão	± 1,28	± 2,17	± 2,23	± 3,98	± 3,37	± 1,17	± 1,26	± 1,13

Anexo 53 - Estatísticas do anexo 52.

Tabela de Análise de Variância do parâmetro hemoglobina realizada entre os GC1 e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	4,083	4,083	1,236	0,292
erro	10	33,041	3,304		
Total corrigido	11	37,124			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro hemoglobina realizado entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	127,198	63,599	10,972	0,001
erro	15	86,951	5,797		
Total corrigido	17	214,148			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro hemoglobina realizada entre os GC1 e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	19,253	19,253	2,208	0,168
erro	10	87,205	8,720		
Total corrigido	11	106,458			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro hemoglobina realizada entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	113,340	56,670	22,534	<0,0001
erro	15	37,723	2,515		
Total corrigido	17	151,063			

Anexo 54 - Valores obtidos nas análises de colesterol (mg/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.

Parâmetro Colesterol (mg/dL)	Grupo							
	Controle 1	Controle 2	Depletado		Repletado em Cálcio		Repletado em ferro	
			Cálcio	Ferro	Ração controle	Ração casco	Ração controle	Ração casco
1	90,20	89,20	70,23	78,26	90,15	68,00	80,15	187,00
2	81,61	90,20	87,00	210,10	89,50	69,00	68,20	57,00
3	110,00	110,00	100,40	189,90	79,61	77,62	86,00	71,90
4	98,33	98,00	68,60	215,90	90,20	69,05	72,00	69,80
5	80,27	115,00	75,20	239,00	87,30	119,90	79,00	59,00
6	88,96	89,00	143,7	66,89	92,15	78,20	86,00	70,20
Média	91,56	98,57	90,86	166,68	88,15	80,30	78,56	85,82
Desvio Padrão	± 11,14	11,40	± 28,51	± 74,64	± 4,46	± 19,93	± 7,26	± 49,96

Anexo 55 - Estatística do anexo 54.

Tabela de Análise de Variância do parâmetro colesterol realizada entre os GC1 e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	1,498	1,498	0,003	0,956
erro	10	4685,259	468,526		
Total corrigido	11	4686,758			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro colesterol realizado entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	1008,106	504,053	2,764	0,095
erro	15	2735,327	182,355		
Total corrigido	17	3743,434			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro colesterol realizado entre os GC1 e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	16926,039	16926,039	5,944	0,035
erro	10	28474,339	2847,434		
Total corrigido	11	45400,377			

Tabela de Análise de variância do parâmetro colesterol realizado entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	1231,159	615,579	0,689	0,517
erro	15	13395,834	893,056		
Total corrigido	17	14626,992			

Anexo 56 - Valores obtidos nas análises de triglicerídeos (mg/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.

Parâmetro Triglicerídeos (mg/dL)	Grupo							
			Depletado		Repletado em Cálcio		Repletado em ferro	
	Controle 1	Controle 2	Cálcio	Ferro	Ração controle	Ração casco	Ração controle	Ração casco
1	96,52	75,40	80,00	66,09	78,90	35,65	68,00	212,90
2	78,26	87,20	52,17	24,20	67,00	23,48	66,96	40,87
3	87,20	79,30	78,20	60,50	80,20	62,78	59,20	63,78
4	79,30	89,50	50,00	69,40	68,16	32,17	60,00	62,80
5	75,65	97,22	69,57	34,70	76,08	49,20	61,11	54,00
6	73,04	56,67	25,80	49,57	69,00	62,78	72,22	64,44
Média	81,66	80,88	59,29	50,74	73,22	44,34	64,58	83,13
Desvio Padrão	± 8,71	± 14,14	± 20,74	± 18,12	± 5,85	± 16,51	± 5,25	± 64,21

Anexo 57 - Estatísticas do anexo 56.

Tabela de Análise de Variância do parâmetro triglicerídeos realizada entre os GC1 e GDCa obtidos na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	1501,474	1501,474	5,935	0,035
erro	10	2529,814	252,981		
Total corrigido	11	4031,289			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro triglicérides realizada entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtidos na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	4455,509	2227,754	13,189	0,000
erro	15	2533,607	168,907		
Total corrigido	17	6989,116			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro triglicérides realizada entre os GC1 e GDFe obtidos na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	2867,830	2867,830	14,189	0,004
erro	10	2021,163	202,116		
Total corrigido	11	4888,993			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro triglicérides realizada entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtidos na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	1229,710	614,855	0,424	0,662
erro	15	21749,350	1449,957		
Total corrigido	17	22979,060			

Anexo 58 - Valores obtidos nas análises de cálcio sérico (g/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimental.

Parâmetro	Grupo							
	Cálcio		Depletado		Repletado em Cálcio		Repletado em ferro	
Cálcio sérico (g/dL)	Controle 1	Controle 2	Cálcio	Ferro	Ração controle	Ração casco	Ração controle	Ração casco
1	10,28	11,47	9,68	8,39	9,32	11,09	10,57	9,90
2	10,92	10,92	8,40	10,90	9,15	9,86	10,02	9,80
3	12,30	10,64	11,70	12,20	9,97	11,04	9,09	9,60
4	10,64	10,84	8,60	9,80	9,94	10,99	9,03	9,64
5	13,26	13,83	10,55	12,20	9,85	13,00	10,60	11,04
6	9,89	10,64	9,60	9,80	9,49	12,36	10,77	10,19
Média	11,22	11,39	9,76	10,55	9,62	11,39	10,01	10,03
Desvio Padrão	± 1,30	± 1,23	± 1,23	± 1,51	± 0,35	± 1,12	± 0,78	± 0,54

Anexo 59 - Estatísticas do anexo 58.

Tabela de Análise de Variância do parâmetro cálcio sérico realizada entre os GC1 e GDCa obtidos na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	6,395	6,395	3,991	0,074
erro	10	16,022	1,602		
Total corrigido	11	22,416			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro cálcio sérico realizada entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtidos na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	12,532	6,266	6,500	0,009
erro	15	14,460	0,964		
Total corrigido	17	26,992			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro cálcio sérico realizada entre os GC1 e GDFe obtidos na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	1,333	1,333	0,675	0,431
erro	10	19,765	1,976		
Total corrigido	11	21,098			

Tabela de Análise de variância do parâmetro cálcio sérico realizada entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtidos na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	7,499	3,750	4,646	0,027
erro	15	12,107	0,807		
Total corrigido	17	19,606			

Anexo 60 - Valores obtidos nas análises de ferro sérico ($\mu\text{g/dL}$) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.

Parâmetro	Grupo							
	Ferro sérico ($\mu\text{g/dL}$)	Controle 1	Controle 2	Depletado		Repletado em Cálcio		Repletado em ferro
Cálcio				Ferro	Ração controle	Ração casco	Ração controle	Ração casco
1	219,00	165,60	110,86	187,00	206,00	152,00	190,00	72,13
2	185,25	185,25	183,76	54,10	222,62	143,00	180,60	98,52
3	210,10	210,10	204,00	156,10	216,84	129,00	202,00	172,95
4	192,00	194,26	158,00	68,90	190,20	156,00	208,85	85,57
5	258,97	115,00	150,20	78,98	194,26	162,00	198,00	136,25
6	238,46	142,00	185,00	62,39	213,31	132,00	200,36	220,00
Média	217,30	168,70	165,30	101,25	207,21	145,67	196,64	130,90
Desvio Padrão	$\pm 27,95$	$\pm 35,35$	$\pm 33,08$	$\pm 55,92$	$\pm 12,85$	$\pm 13,31$	$\pm 9,95$	$\pm 57,08$

Anexo 61 - Estatísticas do anexo 60.

Tabela de Análise de Variância do parâmetro ferro sérico realizada entre os GC1 e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	8109,920	8109,920	8,648	0,015
erro	10	9377,722	937,772		
Total corrigido	11	17487,642			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro ferro sérico realizada entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	11600,169	5800,084	10,932	0,001
erro	15	7958,621	530,575		
Total corrigido	17	19558,790			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro ferro sérico realizada entre os GC1 e depletado em ferro (GDFe) obtidos na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	40403,968	40403,968	20,674	0,001
erro	10	19543,439	1954,344		
Total corrigido	11	59947,407			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro ferro sérico realizada entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtidos na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	13059,274	6529,637	4,252	0,034
erro	15	23035,060	1535,671		
Total corrigido	17	36094,334			

Anexo 62 - Valores obtidos nas análises de fósforo sérico (mg/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais

Parâmetro	Grupo							
	Fósforo sérico (mg/dL)	Controle 1	Controle 2	Depletado		Repletado em Cálcio		Repletado em ferro
Cálcio				Ferro	Ração controle	Ração casco	Ração controle	Ração casco
1	10,20	9,20	11,39	9,74	7,59	11,45	9,58	9,30
2	10,26	8,52	10,42	10,5	8,98	8,90	8,90	9,70
3	10,26	8,45	13,90	8,40	8,88	11,61	8,20	8,90
4	8,45	8,05	10,90	9,00	8,47	9,20	6,28	9,13
5	10,67	10,71	9,41	9,80	8,11	10,70	9,23	9,80
6	8,93	8,31	10,00	9,27	8,19	10,82	10,73	8,81
Média	9,80	8,87	11,00	9,45	8,37	10,45	8,82	9,27
Desvio Padrão	± 0,89	± 0,98	± 1,58	± 0,73	± 0,52	± 1,14	± 1,50	± 0,41

Anexo 63 - Estatísticas do anexo 62.

Tabela de Análise de Variância do parâmetro fósforo sérico realizada entre os GC1 e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	4,380	4,380	2,678	0,133
erro	10	16,356	1,636		
Total corrigido	11	20,736			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro fósforo sérico realizada entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	14,083	7,041	8,356	0,004
erro	15	12,640	0,843		
Total corrigido	17	26,722			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro fósforo sérico realizada entre os GC1 e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	0,354	0,354	0,539	0,480
erro	10	6,566	0,657		
Total corrigido	11	6,919			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro fósforo sérico realizada entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtida na segunda fase experimental .

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	0,737	0,368	0,328	0,725
erro	15	16,850	1,123		
Total corrigido	17	17,587			

Anexo 64 - Valores obtidos nas análises de albumina (g/dL) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.

Parâmetro	Grupo							
	Albumina (g/dL)	Controle 1	Controle 2	Depletado		Repletado em Cálcio		Repletado em ferro
			Cálcio	Ferro	Ração controle	Ração casco	Ração controle	Ração casco
1	4,38	4,65	3,52	3,63	3,24	2,64	2,48	3,38
2	3,91	4,47	3,68	4,38	3,33	4,19	2,56	3,22
3	4,47	4,81	4,62	3,09	3,36	3,03	3,52	3,03
4	4,45	3,92	4,33	3,60	3,51	3,33	2,47	3,30
5	4,81	3,92	3,36	3,83	3,47	4,13	2,89	3,09
6	3,99	4,36	3,86	3,44	3,16	4,63	3,56	2,98
Média	4,34	4,36	3,90	3,66	3,35	3,66	2,91	3,17
Desvio Padrão	± 0,33	± 0,37	± 0,49	± 0,43	± 0,13	± 0,77	± 0,51	± 0,16

Anexo 65 - Estatísticas do anexo 64.

Tabela de Análise de Variância do parâmetro albumina sérica realizado entre os GC1 e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	0,581	0,581	3,323	0,098
erro	10	1,748	0,175		
Total corrigido	11	2,329			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro albumina sérica realizada entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	3,207	1,604	6,392	0,010
erro	15	3,763	0,251		
Total corrigido	17	6,970			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro albumina sérica realizada entre os GC1 e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	1,360	1,360	9,166	0,013
erro	10	1,484	0,148		
Total corrigido	11	2,844			

Tabela de Análise de variância do parâmetro albumina sérica realizada entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	7,109	3,555	25,304	<0,0001
erro	15	2,107	0,140		
Total corrigido	17	9,217			

Anexo 66 - Valores obtidos nas análises de fosfatase alcalina (U/L) nos grupos experimentais estudados para o cálcio e para o ferro na primeira e segunda fase experimentais.

Parâmetro	Grupo							
	Fosfatase alcalina (U/L)		Depletado		Repletado em Cálcio		Repletado em ferro	
	Controle 1	Controle 2	Cálcio	Ferro	Ração controle	Ração casco	Ração controle	Ração casco
1	113,53	92,30	126,30	121,19	86,07	115,50	66,20	59,68
2	107,74	77,32	136,51	84,12	63,04	76,38	68,93	101,73
3	77,32	173,04	90,70	89,00	95,18	55,38	78,50	92,41
4	120,00	85,00	102,00	90,10	145,36	179,90	75,00	68,17
5	92,90	84,97	116,94	88,75	55,89	105,00	53,02	94,12
6	89,70	100,59	89,00	98,38	56,79	92,02	65,56	92,00
Média	100,20	102,20	110,24	95,26	83,72	104,03	67,87	84,69
Desvio Padrão	± 16,21	± 35,58	± 19,46	± 13,52	± 34,25	± 42,81	± 8,87	± 16,68

Anexo 67 - Estatísticas do anexo 66.

Tabela de Análise de Variância do parâmetro fosfatase alcalina realizada entre os GC1 e GDCa obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	302,606	302,606	0,943	0,354
erro	10	3207,388	320,739		
Total corrigido	11	3509,994			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro fosfatase alcalina entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	1514,674	757,337	0,532	0,598
erro	15	21358,719	1423,915		
Total corrigido	17	22873,393			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro fosfatase alcalina realizada entre os GC1 e GDFe obtida na primeira fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	73,260	73,260	0,329	0,579
erro	10	2228,007	222,801		
Total corrigido	11	2301,267			

Tabela de Análise de Variância do parâmetro fosfatase alcalina realizada entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtida na segunda fase experimental.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	3537,169	1768,585	3,269	0,066
erro	15	8114,971	540,998		
Total corrigido	17	11652,140			

Anexo 68 - Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC2) na segunda fase experimental.

Grupo controle (GC2)	CR (g)	CaI (mg)	CaE (mg)	CDA Ca (%)
1	17,10	77,77	42,00	45,99
2	16,80	76,41	41,60	45,56
3	17,20	78,23	43,20	44,78
4	16,35	74,36	42,80	42,44
5	17,10	77,77	43,60	43,94
6	16,60	75,50	43,85	41,92
Média	16,86	76,67	42,84	44,10
Desvio Padrão	±0,31	±1,39	±0,81	±1,51

Anexo 69 - Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) dos animais pertencentes ao GRCaRC na segunda fase experimental.

GRCaRC	CR (g)	CaI (mg)	CaE (mg)	CDA Ca (%)
1	17,30	78,68	41,66	47,05
2	23,00	104,61	54,05	48,33
3	17,25	78,46	47,65	39,27
4	9,25	42,07	18,18	56,79
5	18,00	81,87	49,12	40,00
6	15,55	70,72	32,43	54,14
Média	16,73	76,07	40,51	47,60
Desvio Padrão	±4,45	±20,22	±13,22	±7,14

Anexo 70 - Consumo de ração (CR) (g), cálcio ingerido (CaI) (mg), cálcio excretado (CaE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) dos animais pertencentes ao GRCaRFC na segunda fase experimental.

GRCaRFC	CR (g)	CaI (mg)	CaE (mg)	CDA Ca (%)
1	20,33	1500,77	1170,79	21,99
2	21,35	1575,81	1045,94	33,63
3	9,00	664,28	430,62	35,17
4	25,67	1894,41	1402,50	25,97
5	21,50	1586,88	1386,00	12,66
6	19,17	1414,66	1201,82	15,05
Média	19,50	1439,47	1106,28	24,08
Desvio Padrão	±5,59	±412,94	±357,61	±9,32

Anexo 71 - Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) dos animais pertencentes ao grupo controle (GC2) na segunda fase experimental.

Grupo controle (GC2)	CR (g)	FeI (mg)	FeE (mg)	CDA Fe (%)
1	17,10	0,7	0,52	25,71
2	16,80	0,69	0,56	18,84
3	17,20	0,71	0,6	15,49
4	16,35	0,67	0,5	25,37
5	17,10	0,7	0,63	10,00
6	16,60	0,68	0,58	14,71
Média	16,86	0,69	0,57	18,35
Desvio Padrão	±0,31	±0,01	±0,04	±5,70

Anexo 72 - Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) dos animais pertencentes ao grupo GRFeRC na segunda fase experimental.

GRFeRC	CR (g)	FeI (mg)	FeE (mg)	CDA Fe (%)
1	20,50	0,84	0,78	7,14
2	17,35	0,71	0,49	30,99
3	14,83	0,61	0,52	14,75
4	17,00	0,70	0,63	10,00
5	20,20	0,83	0,80	3,61
6	14,17	0,58	0,45	22,41
Média	17,34	0,71	0,61	14,82
Desvio Padrão	±2,63	±0,11	±0,15	±10,27

Anexo 73 - Consumo de ração (CR) (g), ferro ingerido (FeI) (mg), ferro excretado (FeE) (mg) e coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) dos animais pertencentes ao grupo GRFeRFC na segunda fase experimental.

GRFeRFC	CR (g)	FeI (mg)	FeE (mg)	CDA Fe (%)
1	21,50	1,84	1,50	18,48
2	17,33	1,48	1,22	17,57
3	18,17	1,55	1,22	21,29
4	19,17	1,64	1,40	14,63
5	18,50	1,58	1,43	9,49
6	18,75	1,60	1,41	11,88
Média	18,90	1,62	1,36	15,56
Desvio Padrão	±1,41	±0,12	±0,12	±4,40

Anexo 74 - Estatísticas dos anexos 68, 69 e 70.

Tabela de Análise de Variância do consumo de ração (CR) (g) realizada entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase do experimento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	33596.588	16798.294	0.825	0.457
erro	15	305513.802	20367.587		
Total corrigido	17	339110.389			

Anexo 75 - Estatísticas dos anexos 68, 72 e 73.

Tabela de Análise de Variância do consumo de ração (CR) (g) entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtida na segunda fase do experimento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	6060.614	3030.307	0.165	0.849
erro	15	275428.268	18361.885		
Total corrigido	17	281488.883			

Anexo 76 - Estatísticas dos anexos 68, 69 e 70.

Tabela de Análise de Variância do cálcio ingerido (CaI) (g) entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase do experimento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	866153.758	288718.253	67.316	0.0000
erro	15	85779.608	42899.830		
Total corrigido	17	951933.366			

Tabela de Análise de Variância do cálcio excretado (CaE) (g) entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase do experimento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	525004.360	175001.787	54.543	0.0000
erro	15	64170.297	3209.315		
Total corrigido	17	589175.657			

Tabela de Análise de Variância do coeficiente de digestibilidade aparente do cálcio (CDA Ca) (%) entre os GC2, GRCaRC e GRCaRFC obtida na segunda fase do experimento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	1141.922	380.641	1.909	0.1606
erro	15	3987.068	199.353		
Total corrigido	17	5128.991			

Anexo 77 - Estatísticas dos anexos 71, 72 e 73.

Tabela de Análise de Variância do ferro ingerido (FeI) (g) entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtida na segunda fase do experimento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	804457.000	268152.667	92.714	0.0000
erro	15	58439.217	292.961		
Total corrigido	17	810301.217			

Tabela de Análise de Variância do ferro excretado (FeE) (g) entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtida na segunda fase do experimento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	723581.253	246521.523	90.124	0.0000
erro	15	52356.210	231.896		
Total corrigido	17	782106.532			

Tabela de Análise de Variância do coeficiente de digestibilidade aparente do ferro (CDA Fe) (%) entre os GC2, GRFeRC e GRFeRFC obtida na segunda fase do experimento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	2	424.430	141.477	1.629	0.2143
erro	15	1736.697	86.835		
Total corrigido	17	2161.127			