

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DA
MULTIMISTURA TRATADA POR IRRADIAÇÃO GAMA**

Cinthia Graciele Gonçalves

Belo Horizonte
2008

Comissão Nacional de Energia Nuclear
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA NUCLEAR
Mestrado em Ciência e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DA MULTIMISTURA
TRATADA POR IRRADIAÇÃO GAMA**

Cinthia Graciele Gonçalves

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais, como requisito
parcial à obtenção do Grau de Mestre.

Área de concentração: Ciência e Tecnologia das Radiações

Orientador: Dr. Alexandre Soares Leal

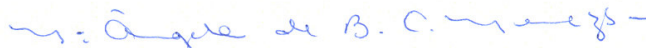
Belo Horizonte
2008

A presente dissertação de mestrado, intitulada “**Avaliação química e microbiológica da multimistura tratada por irradiação gama**” de autoria de **Cinthia Graciele Gonçalves**, foi defendida e aprovada em 22 de agosto de 2008 pela Banca Examinadora abaixo assinada.

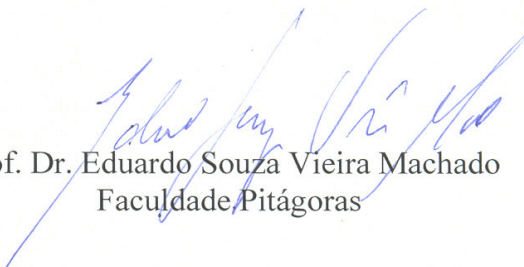
Belo Horizonte, 22 de agosto de 2008



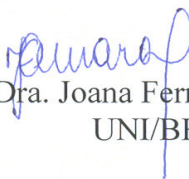
Prof. Dr. Alexandre Soares Leal
CDTN – Orientador



Profa. Dra. Maria Ângela de Barros Correia Menezes
CDTN



Prof. Dr. Eduardo Souza Vieira Machado
Faculdade Pitágoras



Profa. Dra. Joana Ferreira do Amaral
UNI/BH

AGRADECIMENTOS

Ao CDTN e funcionários pelos serviços prestados.

À CNEN pela bolsa concedida.

À Fundação Ezequiel Dias por ceder o espaço físico, os materiais e os técnicos para a realização das análises.

A Deus que sempre está ao meu lado guiando e iluminando meus caminhos.

Aos meus pais José e Dalva, pessoas que admiro muito pelos seus exemplos de luta, dedicação, perseverança, humildade e que tenho enorme admiração, respeito, amor e gratidão.

Aos meus irmãos (as), cunhados (as), sobrinhos (as), pela presença constante em minha vida, pelo apoio e carinho.

Ao meu namorado, Fran, pois sempre me incentivou em todas as minhas conquistas e sem sua presença eu não teria êxito. O seu amor, carinho, compreensão, apoio e incentivo foram a base para a conquista dessa jornada.

Ao Dr. Alexandre, pela orientação técnico-científica, pelo incentivo e pela confiança em mim depositada.

À Ionara pela amizade, presença constante, pelos ensinamentos e pelas consultorias nas análises estatísticas.

Ao Guilherme, Mariem e Vanessa da Fundação Ezequiel Dias pela oportunidade, confiança, apoio constante e por cederem os laboratórios e a equipe para a realização das análises.

A toda a equipe técnica dos laboratórios da Fundação Ezequiel Dias, em especial à Fátima e Mabel, pela grande contribuição nas atividades laboratoriais.

À Crisolita pelas análises bacteriológicas.

À Mariângela pelas análises de ativação neutrônica.

Ao Ferracini pelas irradiações das amostras.

Ao Klaus pelas análises da RPE.

À Pastoral da Criança pelas informações concedidas.

Aos colegas de turma do mestrado pelos bons momentos que passamos juntos.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram na efetivação deste trabalho.

RESUMO

No Brasil, a multimistura vem sendo utilizada há mais de 25 anos como uma opção para combater a desnutrição infantil da população carente. Entretanto, seu uso ainda é motivo de controvérsias principalmente quanto à presença de fatores antinutricionais, à qualidade microbiológica e seu valor nutricional. Considerando o uso rotineiro da multimistura na região, esse trabalho teve como objetivo avaliar amostras de multimisturas coletadas na Região Metropolitana de Belo Horizonte/MG para determinação: dos fatores antinutricionais, da qualidade microbiológica, da composição centesimal e mineral, e ainda do efeito induzido pela radiação nestes fatores. Para as análises, as amostras passaram pelo processo de irradiação gama nas doses de: 2, 4, 6, 8 e 10 kGy e posteriormente foram avaliados os fatores antinutricionais (ácidos fítico e oxálico), a qualidade microbiológica (bactérias e leveduras, *Salmonella*, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Bacillus cereus*, coliformes a 45 °C) a composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos) e a eficiência do método de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) na detecção de amostras irradiadas. A composição mineral das amostras foi realizada através da irradiação por Ativação Neutrônica. As metodologias utilizadas foram pesquisadas na literatura. Os resultados obtidos sugerem que os teores dos ácidos fítico e oxálico podem não ser adequados às crianças com déficit nutricional grave e que seria necessário controle na ingestão dos mesmos devido ao poder complexante com os minerais. Em geral as amostras apresentaram qualidade microbiológica aceitável para consumo, exceto em uma das amostras, porém identificou-se a presença de produtores de micotoxinas. Os dados da composição centesimal e mineral, nas porções usualmente recomendadas, mostraram que os macronutrientes e os minerais, apresentaram-se em aquém do recomendado para a faixa etária. Não houve alteração significativa nos teores dos ácidos fítico e oxálico e na composição centesimal após a irradiação gama. A ressonância paramagnética eletrônica foi capaz de detectar amostras irradiadas.

Palavras – chaves:

Desnutrição, multimistura, ácidos fítico e oxálico, irradiação.

ABSTRACT

In Brazil, the multimixture have being used since the eighties as an alternative against severe infantile malnutrition of the poorest population. However, its use is still reason of controversies mainly due to: the presence of anti nutritional factors, the microbiological quality and the nutritional value. Considering the routine use of multimixture in the region, this work aimed to evaluat samples of multimixture were collected in the metropolitan area of the City of Belo Horizonte/MG for determining the anti nutritional factors (phytic and oxalic acids), the microbiological quality, the centesimal and mineral composition, and still the induced effect in these factors of the gamma radiation. For the analyses, the samples passed by the process of gamma irradiation at doses of: 2, 4, 6, 8 and 10 kGy and then were evaluated antinutritional factors (phytic acid and oxalic), the microbiological quality (yeasts and molds, Salmonella, Coagulase positive Staphylococcus, Bacillus cereus, coliform to 45 C) to full percentage (moisture, ash, proteins, carbohydrates and lipids) and the efficiency of the method of Paramagnética Electronics Resonance (EPR) in the detection of irradiated samples. The mineral composition of the samples was carried out by the irradiation by Activation Neutrônica. The methods used were searched in literature. The obtained results suggest that the concentration of the phytic and oxalic acids can not be appropriated for the children with severe nutritional deficit and that it would be necessary additional control in their daily ingestion due to the absorption of essential minerals. In general the samples had presented acceptable microbiological quality for consumption, except by one of it. The data of the centesimal and mineral composition, in the usually recommended portions, showed lower concentration than recommended for children. Any significant alteration in phytic and oxalic acids as well as in the centesimal composition were detected after gamma irradiation. The electronic paramagnetic resonance can be detected irradiated samples.

Key – words:

Malnutrition, multimixture, phytic and oxalic acids, irradiation.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AN: Ativação Neutrônica

CFN: Conselho Federal de Nutricionistas

CLAE: Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência

CNBB: Conferência Nacional de Bispos do Brasil

DEP: Desnutrição Energético Proteica

DTA: Doenças Transmitidas por Alimentos

DRBC: Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol

FAO: Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

FBB: Fundação Banco do Brasil

GCIIA: Grupo Consultivo Internacional de Energia Atômica

IAEA: Agência Internacional de Energia Atômica

IDR: Ingestão Diária Recomendada

INAN: Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição

RPE: Ressonância Paramagnética Eletrônica

SBAN: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição

SBP: Sociedade Brasileira de Pediatria

UNICEF: Fundo das Nações Unidas para a Infância

WHO: Organização Mundial da Saúde

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estrutura química do ácido fítico.....	20
FIGURA 2 - Estrutura química do ácido oxálico.....	25
FIGURA 3 - Radura – símbolo de alimento tratado por irradiação.....	31
FIGURA 4 - Espectros de RPE de alecrim e coentro de amostras não irradiadas e irradiadas a 10 e 20 kGy. Fonte: LEAL et al. (2004).....	35
FIGURA 5 - Gráfico representando a divisão dos setores da Arquidiocese de Belo Horizonte. Fonte: PASTORAL DA CRIANÇA, 2005.....	36
FIGURA 6 - Aspectos da produção de multimistura.....	38
FIGURA 7 - Perfil cromatográfico do branco do reagente extraído.....	45
FIGURA 8 - Perfil cromatográfico do padrão de ácido fítico não-extraído.....	46
FIGURA 9 - Perfil cromatográfico do padrão de ácido fítico extraído.....	46
FIGURA 10 - Perfil cromatográfico de amostra de multimistura não-irradiada extraída.....	46
FIGURA 11 - Cromatograma de amostra de multimistura adicionada e não adicionada.....	47
FIGURA 12 - Perfil cromatográfico de amostra de multimistura não-irradiada extraída e irradiada.....	49
FIGURA 13 - Perfil cromatográfico do branco do reagente.....	52
FIGURA 14 - Perfil cromatográfico do padrão do ácido oxálico.....	52
FIGURA 15 - Perfil cromatográfico da amostra não-irradiada.....	52
FIGURA 16 - Comparação dos perfis cromatográficos das amostras não- irradiada e irradiada.....	53
FIGURA 17 - Comparação dos perfis cromatográficos da amostra de multimistura não-irradiada adicionada e não adicionada.....	53
FIGURA 18 - Identificação dos fungos.....	57
FIGURA 19 - Espectros da RPE da multimistura 1.....	66
FIGURA 20 - Variação do sinal de RPE com a dose na multimistura 1.....	67
FIGURA 21 - Variação do sinal de RPE com a dose na multimistura 4.....	67
FIGURA 22 - Decaimento do sinal da RPE com o tempo.....	68
FIGURA 23 - Curva de calibração do padrão de ácido fítico.....	88
FIGURA 24 - Curva de calibração do ácido oxálico.....	88

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Características de alguns elementos essenciais encontrados em multimisturas.	24
TABELA 2 - Composição das amostras de multimisturas.	37
TABELA 3 - Média dos teores de hexafosfato de mioinositol nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.	47
TABELA 4 - Média dos teores de pentafofato de mioinositol nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.	48
TABELA 5 - Média dos teores de tetrafosfato de mioinositol nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.	48
TABELA 6 - Média dos teores de fitato total encontrados nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.	49
TABELA 7 - Média dos teores de ácido oxálico encontrados nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.	54
TABELA 8 - Contagem de bolores e leveduras em amostras de multimisturas não irradiadas e irradiadas.	55
TABELA 9 - Perfil microbiológico das amostras de multimisturas não-irradiadas.	56
TABELA 10 - Teores de umidade nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.	58
TABELA 11 - Teores médios de cinzas nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.	59
TABELA 12 - Teores de proteínas nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.	60
TABELA 13 - Teores de lipídeos nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.	61
TABELA 14 - Teores de carboidratos nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.	62
TABELA 15 - Valor calórico total nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.	62
TABELA 16 - Comparação da composição centesimal entre as amostras de multimistura não-irradiadas.	63
TABELA 17 - Composição mineral das amostras de multimisturas não-irradiadas.	64
TABELA 18 - Teor de minerais nas amostras de multimisturas não-irradiadas e adequação com a Ingestão Diária Recomendada, segundo a faixa etária.	89
TABELA 19 - Teor de minerais nas amostras de multimisturas não-irradiadas e adequação com a Ingestão Diária Recomendada, segundo a faixa etária.	89

SUMÁRIO

RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS	X
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 MULTIMISTURA	15
2.2 FATORES ANTINUTRICIONAIS	20
2.2.1 Ácido fítico e seus derivados	20
2.2.2 Ácido oxálico	25
2.3 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA MULTIMISTURA	26
2.4 QUALIDADE NUTRICIONAL	28
2.5 IRRADIAÇÃO GAMA	30
2.6 MÉTODO DE IDENTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS IRRADIADOS.....	33
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 COLETA DAS AMOSTRAS	36
3.2 PREPARO DA AMOSTRA	39
3.3 IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS	39
3.4 EQUIPAMENTOS E PADRÕES	39
3.5 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁCIDO FÍTICO E SEUS DERIVADOS.....	40
3.5.1 Condições analíticas da cromatografia líquida de alta eficiência	40
3.6 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁCIDO OXÁLICO	41
3.6.1 Condições analíticas da cromatografia líquida de alta eficiência	41
3.7 DETERMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS.....	42
3.8 QUALIDADE NUTRICIONAL	43
3.8.1 Irradiação por Ativação Neutrônica	43
3.9 RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA.....	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE ÁCIDO FÍTICO E OXÁLICO NAS AMOSTRAS DE MULTIMISTURAS.....	45

4.1.1	Determinação do ácido fítico e seus derivados	45
4.1.2	Determinação do ácido oxálico	51
4.2	DETERMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS.....	55
4.3	QUALIDADE NUTRICIONAL	58
4.3.1	Composição mineral	64
4.4	RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA.....	66
5	CONCLUSÕES	70
5.1	PERSPECTIVAS FUTURAS	71
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
APÊNDICE A - CURVA DE CALIBRAÇÃO DOS ÁCIDOS FÍTICO E OXÁLICO.....		88
APÊNDICE B – TEORES DE MINERAIS E ADEQUAÇÃO COM A IDR		89

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a necessidade de erradicar o elevado grau de desnutrição da população de baixa renda tem levado diversos segmentos da sociedade organizada a buscar soluções como o emprego de alimentos alternativos inseridos na dieta brasileira ricos em vitaminas e minerais e acessíveis a toda população (BRANDÃO, 1988; DEBESSAUTET, 1992; FARFAN, 1998). A utilização desses alimentos é fundamentada na idéia de: 1) aproveitar todas as partes das plantas, chamadas de “comestíveis”; 2) resgatar hábitos alimentares tradicionais perdidos com a migração do homem do campo para a cidade e 3) enriquecer a alimentação com fibras e fontes de minerais e vitaminas de baixo custo como farelos (FARFAN, 1998).

Uma dessas alternativas alimentares que vêm sendo utilizadas como forma de combater a desnutrição é a multimistura (FURTUNATO, 2003). A multimistura, dieta habitual da população brasileira, especialmente a de baixa renda, é enriquecida devido a combinação de alimentos não-convencionais, como farelos de arroz e trigo, casca de ovo, pó de folha de mandioca, pó e sementes de outros vegetais e cascas de frutas e verduras, entre outros ingredientes, que variam de acordo com as práticas culinárias regionais (BRANDÃO, 1989; DEBESSAUTET, 1992; ASSIS et al., 1996).

Entretanto, apesar da utilização da multimistura em ampla escala como complemento nutricional, há muitas críticas no meio acadêmico devido à falta de comprovação científica de seus efeitos, ausência de controle sanitário na sua preparação, além da possível presença de fatores antinutricionais (fitatos e oxalatos), que formam complexos insolúveis com minerais e proteínas na luz intestinal (SANT’ANA et al., 1996; FARFAN, 1998; CÂMARA & MADRUGA, 2001; SANT’ANA et al., 2006).

Levando em consideração essas questões sobre o emprego da multimistura, uma alternativa que poderia ser viável é o tratamento por irradiação gama. A irradiação é uma tecnologia de descontaminação e conservação de alimentos usada em mais de quarenta países. Ela esteriliza e/ou diminui a carga microbiológica (fungos e bactérias) a níveis seguros para o consumo, reduz ou elimina insetos ou pragas, inibe o brotamento (em cebolas ou batatas, por exemplo) e retarda o amadurecimento do alimento ampliando o tempo de armazenamento dos produtos alimentícios (FIGUEIREDO, 1990; SPOTO, 1998). Além disso, BRIGIDE (2002)

relata que a irradiação na dose de 6 kGy reduziu os fatores antinutricionais no feijão cozido e MECHI et al. (2005) destacaram em seu estudo a eficiência da irradiação gama na redução de fitato em feijão preto irradiado até a dose de 8 kGy. Entretanto, VILLAVINCENCIO et al. (2000) observaram que a irradiação não afetou a concentração do fitato e seus derivados em grãos crus e cozidos.

A carência de dados em relação às características químicas e nutricionais da multimistura é ainda motivo de preocupação em relação ao uso destes alimentos em programas coletivos de combate à desnutrição. Considerando o uso rotineiro da multimistura pela população de Belo Horizonte/MG e Região Metropolitana houve a necessidade de um estudo mais detalhado da presença de fatores antinutricionais, da qualidade microbiológica e da composição centesimal. Desta forma, o objetivo geral desta pesquisa foi realizar a avaliação química e microbiológica das amostras de multimistura coletadas na Região Metropolitana de Belo Horizonte e avaliar os efeitos da irradiação gama sobre os teores dos fatores antinutricionais, os padrões sanitários e os níveis de macronutrientes nas multimisturas.

Mais especificamente pretendeu-se:

- quantificar os teores dos ácidos fítico e oxálico nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas;
- avaliar o efeito da irradiação gama nos teores dos ácidos fítico e oxálico das amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas;
- determinar a qualidade microbiológica e avaliar o efeito da irradiação gama na descontaminação microbiana das amostras;
- determinar a composição centesimal e mineral quantitativa das amostras de multimisturas;
- avaliar o efeito da irradiação gama na composição centesimal das amostras de multimisturas;
- avaliar a eficiência do método da ressonância paramagnética eletrônica (RPE) na detecção da multimistura irradiada.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MULTIMISTURA

A desnutrição energético-proteica é ainda uma das principais carências nutricionais do Brasil, com alta prevalência na população de baixa renda. Segundo dados da Pesquisa Nacional em Demografia e Saúde (PNDS), 5,7% das crianças brasileiras menores de cinco anos são desnutridas, sendo esta a principal causa da elevada taxa de mortalidade infantil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Segundo dados do Ministério da Saúde, 11 % das crianças brasileiras menores de cinco anos estão com déficit estatural, que varia notavelmente nas regiões brasileiras: entre 5,1% no Sul e 17,9% no Nordeste. Adicionalmente, duas em cada dez crianças com déficit estatural no Brasil apresentam baixo peso, o que pode levar ao nanismo nutricional grave (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004). Segundo MADRUGA et al. (2004), a fome e a desnutrição continuam sendo as principais causas de morbimortalidade infantil no país.

A desnutrição resulta de uma série de manifestações clínicas condicionadas pelo déficit de proteína e/ou energia, severidade e duração das deficiências, da causa da deficiência e da associação com outras desordens nutricionais ou infecciosas. Sua severidade resulta na perda de peso, retardo no crescimento, redução da capacidade de resistência às doenças e frequentemente está associada às deficiências de vitaminas e minerais (SHILLS et al., 2003). Para combater a desnutrição, diversas estratégias de intervenções vêm sendo colocadas em prática, variando desde os mais tradicionais programas de suplementação alimentar até alternativas simplificadas e de baixo custo, como o uso de subprodutos não-convencionais nos quais se inclui a utilização de misturas à base de farelo de cereais, denominadas multimisturas (FURTUNATO, 2003).

Uma dessas estratégias é o uso da multimistura com objetivo de enriquecer a dieta habitual da população brasileira, especialmente a de baixa renda, via combinação de alimentos não-convencionais, como farelos de arroz e trigo, casca de ovo, pó de folha de mandioca, pó e sementes de outros vegetais e casca de frutas e verduras, que variam de acordo com cada região do país (DEBESSAUTET, 1992; ASSIS et al., 1996). Normalmente é adicionada a preparações, como: mingaus, sopas, arroz, feijão, bolo.

Os principais argumentos apresentados pelos defensores da multimistura como medida de prevenção e tratamento da desnutrição são: disponibilidade regional de seus ingredientes; aproveitamento das partes não-comestíveis dos alimentos, evitando desperdícios; não interferência nos hábitos alimentares da população; baixo custo; possibilidade de preparo caseiro e acessibilidade a toda a população (BRANDÃO, 1996).

A utilização e os padrões de identidade e qualidade destas misturas à base de farelo de cereais foram regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA/MS), pela Resolução nº 53 em 15 de junho de 2000 (BRASIL, 2000) que a definiu como “*Produto obtido pela secagem, torragem, moagem e mistura de ingredientes de origem vegetal, podendo ser adicionado de leite em pó*”. A promoção do uso da multimistura começou há quase 25 anos com o trabalho desenvolvido pelos médicos Clara e Rubens Brandão, no Estado do Pará. Ela só passou a ser difundida por todo o país a partir da avaliação positiva do relatório de Roger Schrimpton, pelo Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF do inglês), que apontava ser a multimistura uma forma de redução drástica da desnutrição (NOGARA et al., 1994).

Segundo BRANDÃO (1988) a qualidade da alimentação é dada pela variedade e não pela quantidade. E enfatiza, ainda, que o uso da multimistura em doses mínimas, mas constantemente acrescidas à alimentação, pode contribuir significativamente para promover o crescimento da criança, aumentar a resistência a infecções, prevenir e curar a anemia nutricional, diminuir diarreias e manter a saúde sendo, portanto, um complemento alimentar com certa qualidade nutricional.

Apesar da ampla utilização da multimistura, há divergências em relação ao seu uso. Existem dois grupos com opiniões claramente opostas sobre a multimistura (VELHO & VELHO, 2002). De um lado estão os proponentes – Conselho Nacional dos Bispos do Brasil (CNBB), Pastoral da Criança, UNICEF/Brasil, Fundação Banco do Brasil (FBB) e Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN) do Ministério da Saúde – e do outro os oponentes – Conselho Federal de Nutricionistas (CFN), Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP) e Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN). O CFN e a SBP posicionam-se de forma contrária à utilização da alimentação alternativa em virtude da carência de estudos que comprovem a eficiência dos alimentos que a compõem e da

influência de fatores antinutricionais sobre a biodisponibilidade dos minerais (CFN, 2002; VELHO & VELHO, 2002).

Desde 1983, a Pastoral da Criança e alguns serviços da rede pública de saúde e educação conduzem o programa de alimentação alternativa (DEBESSAUTET, 1992). A Pastoral da Criança é um organismo de ação social ligado à CNBB, constituída por 264 mil voluntários que acompanham, mensalmente, 95.821 gestantes e 1.882.925 crianças, o que significa 19% das crianças brasileiras de baixa renda (PASTORAL DA CRIANÇA, 2005). Dentro de um contexto comunitário, os líderes da Pastoral da Criança são treinados e acompanhados para atuar junto a famílias mediante nove ações prioritárias: acompanhamento da gestante, incentivo ao aleitamento materno, vigilância nutricional e promoção do crescimento, incentivo às imunizações, controle das infecções diarreicas, controle das infecções respiratórias agudas, prevenção de acidentes domésticos, alternativas alimentares e acompanhamento do desenvolvimento. Ao avaliarem o desempenho da Pastoral da Criança nas ações de sobrevivência infantil e na educação em saúde em Criciúma, Santa Catarina, NEUMANN et al. (1999) já haviam constatado aspectos positivos de sua atuação, assim como as áreas em que maiores investimentos seriam necessários.

Vários estudos já foram realizados em relação ao consumo de alimentos alternativos, sobretudo na década de 90, quando as discussões giraram em torno da insuficiência de investigações científicas quanto aos seguintes aspectos: eficácia nutricional, biodisponibilidade dos nutrientes em relação ao alto teor de fatores antinutricionais, qualidade microbiológica e físico-química (FARFAN, 1998). Analisando alguns estudos epidemiológicos, BITTENCOURT (1998) concluiu que há muitas ambigüidades, lacunas e contradições em relação aos aspectos metodológicos, colocando em dúvida a confiabilidade dos resultados encontrados em tais estudos.

Vários municípios brasileiros utilizam a multimistura para o controle da desnutrição. Em Belo Horizonte/MG, essa ação foi instituída em 1993, no âmbito do Programa de Prevenção e Combate à Desnutrição abrangendo, em 2005, 15.009 menores de 5 anos e 4.885 gestantes e nutrízes. De acordo com o relatório técnico da Secretaria Municipal da Saúde, no ano de 1995, a mortalidade infantil caiu de 34,4/1000 nascidos vivos, para 29,3/1000. Quanto à evolução das crianças desnutridas, observou-se que 39% melhoraram o estado nutricional; 56% mantiveram-se inalteradas e 5% apresentaram deterioração do quadro inicial

(PREFEITURA MUNICIPAL DE BELO HORIZONTE, 1997). Porém, deve-se destacar que como não houve um grupo controle, não se pode atribuir os resultados obtidos apenas ao uso da multimistura.

Alguns estudos com o emprego da multimistura deram resultados satisfatórios. SANTOS et al. (2001) realizaram um estudo com a população de baixa renda do Estado da Bahia, e, do total dos entrevistados, 70,7% demonstraram uma percepção positiva sobre a alimentação alternativa como uma estratégia que contribui para melhoria das condições de saúde. SIQUEIRA et al. (2003) investigaram a efetividade da suplementação com multimistura em 31 crianças estudantes de uma escola rural por meio da antropometria e hematologia. Concluíram que esta suplementação contribuiu para melhora da estatura das crianças.

Entretanto, em outros estudos conclui-se pela ineficácia da multimistura. Assim, BICUDO et al. (1996) analisaram a recuperação ponderal de ratos desnutridos recebendo multimistura e COSTA et al. (1996) avaliaram a influência da multimistura básica adicionada a uma dieta à base de caseína no município de Quissamã/RJ. Nas duas pesquisas, os resultados dos grupos adicionados de multimistura foram inferiores aos do grupo de referência. BION et al. (1997) e JONG et al. (1998) também demonstraram não haver diferença significativa no ganho em peso entre os animais que se alimentaram de dietas suplementadas ou não com multimistura. BOAVENTURA et al. (2000) estudaram em ensaio biológico a qualidade proteica da dieta adicionada de multimistura e consumida por crianças desnutridas do município de Quissamã/RJ e concluíram que a adição da multimistura à dieta não melhorou sua qualidade. LEITE et al. (2002) avaliaram o desempenho lactacional de ratas alimentadas com dieta suplementada com 2% de multimistura, concluindo que a performance lactacional das ratas diminuiu após a adição da multimistura, não havendo necessidade, portanto, deste suplemento para garantir o sucesso do processo de lactação. Em outro estudo sobre a influência de uma multimistura no combate à desnutrição realizado por MADRUGA et al. (2004) foi observado que o acréscimo da multimistura na dieta não influenciou na recuperação ponderal dos ratos. SANTOS et al. (2004) com o intuito de verificar a influência de uma multimistura no combate à desnutrição em ratos, concluíram que o acréscimo da multimistura à dieta, mesmo em concentração dobrada, não acarretou diferenças nos níveis séricos de minerais analisados. FERREIRA et al. (2005) pesquisaram a efetividade da multimistura como suplemento vitamínico e/ou mineral na recuperação ponderal de ratos

submetidos à desnutrição pós-natal. Após 28 dias, concluíram que a multimistura analisada fornecia as necessidades de vitaminas a ratos desnutridos e supria apenas parte das suas necessidades minerais. OLIVEIRA et al. (2006) determinaram o impacto da suplementação da dieta com multimistura sobre o estado nutricional de crianças em fase pré-escolar em quatro creches municipais de João Pessoa/PB e constataram que esta suplementação não causou impacto significativo sobre o estado nutricional das crianças, segundo os indicadores antropométricos altura/idade, peso/idade e peso/altura. SANT'ANA et al. (2006) ao avaliarem o efeito do consumo de uma multimistura no estado nutricional relativo ao elemento ferro em pré-escolares da rede municipal de ensino em Viçosa/MG, observou que os mesmos não obtiveram melhora nos índices hematológicos. SOUZA et al. (2006) estabeleceram a qualidade proteica de multimisturas distribuídas em Alfenas/MG e concluíram que o emprego da multimistura como fonte proteica não promoveu crescimento adequado dos animais, portanto consideraram que o uso das mesmas em programas de combate à desnutrição não é justificado.

Enquanto a comunidade científica levanta inúmeros questionamentos em relação ao uso da multimistura, uma parcela significativa da população brasileira, principalmente as classes de baixa renda a utilizam na dieta cotidiana. Para muitos, trata-se de um resgate dos hábitos alimentares populares, considerando-os como solução para os problemas de saúde e nutrição, enquanto que para outros, tratam-se de restos ou sobras de alimentos, levando a um grande debate entre aqueles que acreditam nas multimisturas e aqueles que a rejeitam (SANTOS, 1996b). Porém, em 2001, SANTOS et al. demonstraram, em um estudo, que 57,2% da população estudada já ouviram falar da multimistura e 46,8% deste percentual fazem uso do produto. Seu principal veiculador de uso, citado por 33,6% dos entrevistados, foi a Pastoral da Criança.

Dentre as controvérsias referentes à utilização da multimistura estão: a presença de fatores antinutricionais, fitatos e oxalatos, que podem interferir na biodisponibilidade dos minerais presentes, a ausência de controle sanitário, além da não comprovação da sua qualidade nutricional (ARTUS & RAMOS, 2007).

Essas divergências a cerca do uso da multimistura acabaram criando opiniões distintas entre a comunidade científica: uma a favor dos alimentos alternativos, levando em consideração seu valor nutricional, baixo custo e a observação prática dos resultados. Outra,

contra, baseada na falta de comprovação científica dos resultados, na presença de fatores antinutricionais e na sua qualidade microbiológica, constituindo-se um dos temas mais contestados e polêmicos (TORIN et al., 1994). Isto foi confirmado por ARTUS & RAMOS (2007) em seus estudos para verificar os prós e contras do uso da multimistura e para avaliar a possibilidade desse alimento vir a ser utilizado em ampla escala como política alimentar e nutricional no combate à desnutrição no Brasil.

2.2 FATORES ANTINUTRICIONAIS

2.2.1 Ácido fítico e seus derivados

O ácido fítico, hexafosfato de mio-inositol ou IP₆ (FIG.1) tem a fórmula molecular C₆H₁₈O₂₄P₆ e peso molecular de 660,08. É um líquido incolor ou amarelo, viscoso que apresenta propriedades quelantes ao ligar com metais, formando complexos insolúveis, prejudicando a biodisponibilidade dos mesmos (CHERYAN, 1980; MAGA, 1982; GRAF, 1983; MERCK, 1996). O ácido fítico é uma molécula carregada negativamente e, portanto, muito reativa que, em pH básico ou neutro, os seis grupamentos fosfato da molécula expõem suas 12 cargas negativas favorecendo a formação de complexos em presença de íons metálicos (TSAO, 1997). Sua coordenação se dá pelos grupos doadores, os fosfatos, e a estrutura resultante forma um quelato. A capacidade de ligação do inositol fosfato aos íons metálicos depende do número de grupos fosfatos deprotonados da molécula (PERSON et al., 1998). Em seu estudo sobre a estabilidade do complexo ácido fítico e o íon níquel CARLI et al. (2006) concluíram que quanto mais deprotonado estiver o ácido fítico, mais fortemente interage com este íon.

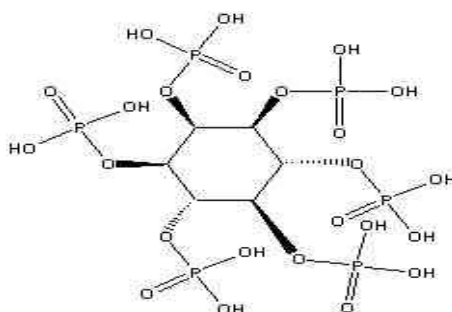


FIGURA 1 - Estrutura química do ácido fítico.

O ácido fítico e seus derivados representam uma classe complexa de compostos de ocorrência natural formados durante o processo de maturação das sementes e grãos de cereais (O'DELL, 1979; MAGA, 1982; TORRE et al., 1991; ZHOU & ERDMAN, 1995; VELHO & VELHO, 2002). É encontrado em alimentos ricos em fibras e em consequência das recomendações das autoridades de saúde pública de se aumentar o consumo destes alimentos, há também um consumo maior de ácido fítico. Sua principal origem nos países ocidentais são os cereais e em países desenvolvidos predomina nos legumes (PLAAMI, 1997). Sua concentração nos alimentos encontra-se em níveis de 0,1 a 6% dependendo de sua concentração na parte da planta que se consome; em sementes os níveis são elevados, em tubérculos, raízes e frutas moderados e em verduras baixos (RAVINDRAN et al., 1994).

O ácido fítico pode ser encontrado em uma ampla variedade de alimentos: feijão, cevada, milho, sementes de algodão, aveia, amendoim, ervilha, arroz, soja, trigo, entre outros (MAGA, 1982). Segundo SANT'ANA et al. (2000), os componentes da multimistura com maior concentração de ácido fítico e seus derivados são os farelos de trigo e de arroz.

Durante a estocagem, fermentação, germinação, processamento de alimentos e digestão dos grãos e sementes, o ácido fítico pode ser parcialmente desfosforilado originando compostos penta-fosfato (IP_5), tetra-fosfato (IP_4), tri-fosfato (IP_3) e possivelmente, di-fosfato (IP_2) e mono-fosfato (IP_1), por ação das fitases endógenas e essa alteração vai reduzindo seu poder de inibir a absorção intestinal dos nutrientes. Somente o inositol penta e hexa-fosfato (IP_5 e IP_6 , respectivamente) apresentam efeito negativo na biodisponibilidade dos minerais – cálcio, ferro, zinco, magnésio (BURBANO et al., 1995; ZHOU & ERDMAN, 1995; CÂMARA, 1996; PLAAMI, 1997; DOMINGUEZ et al., 2002). Os demais compostos (IP_4 , IP_3 , IP_2 e IP_1) apresentam baixa capacidade de ligar-se aos minerais ou formam complexos mais solúveis (SANDBERG et al., 1989; ZHOU & ERDMAN, 1995; COZZOLINO, 1997). Porém, VELHO & VELHO (2002) relataram em seu estudo que, embora se alegue que as formas de maior poder complexante sejam IP_6 , IP_5 e IP_4 , não se descarta a possibilidade de as outras formas existentes possuírem poder ligante de intensidade variável.

SANDBERG et al. (1989) avaliaram o efeito do inositol tri-, tetra-, penta- e hexa-fosfato na disponibilidade de ferro e concluíram que a adição do inositol hexa (IP_6) e penta-fosfato (IP_5) reduz a solubilidade do ferro de 39% (valor de referência) para 0,2% e 6%, respectivamente, enquanto que o inositol tetra e tri-fosfato aumentam ligeiramente a

solubilidade do ferro, concluindo que estes últimos aumentam e o inositol hexa e penta-fosfato diminuem a biodisponibilidade de ferro nos alimentos. PLAAMI & KUMPULAINEN (1991) avaliando o conteúdo de inositol fosfato em alguns alimentos à base de cereais (trigo, arroz), concluíram que os mesmos apresentam, surpreendentemente, baixa quantidade de ácido fítico. Entretanto, os teores totais dos inositóis hexa-, penta-, tetra- e trifosfatos, ou seja, o fitato total é relativamente alto. Isto porque o inositol hexa-fosfato foi hidrolisado, com consequente redução de seu nível quando comparado aos inositóis inferiores. LONNERDHAL et al. (1989) constataram que o efeito inibidor do fitato depende do grau de fosforilação do inositol. Os inositóis hexa e penta-fosfato diminuem a absorção do cálcio e zinco significativamente, entretanto, a níveis menores de fosforilação este efeito não se observa. Os complexos insolúveis fitato-cálcio são também considerados como os principais responsáveis pela redução da biodisponibilidade de outros minerais como ferro e zinco, pela união destes ao composto fitato-cálcio para formar um complexo ainda menos solúvel (ZHOU & ERDMAN, 1995).

Durante o processamento a altas temperaturas, o ácido fítico é parcialmente degradado em inositol fosfato com menos de seis grupos fosfatos (PHILLIPPY et al., 1988). Assim, HIRA & KAUR (1993) obtiveram relação molar fitato/zinco e fitato/cálcio menor em leguminosas e cereais cozidos em comparação aos grãos crus, devido ao decréscimo do conteúdo de fitato, principalmente em grãos que foram assados a 250 °C.

A função do ácido fítico na espécie botânica é armazenar fósforo com a maturidade da semente. Nas sementes de leguminosas, aproximadamente 70% do conteúdo de fósforo presente são provenientes do ácido fítico, sendo estruturalmente integrados com proteínas e/ou minerais na forma de complexos e 75% do ácido fítico estão associados às fibras solúveis presentes nas sementes (ZHOU & ERDMAN, 1995). Do ponto de vista antinutricional, o ácido fítico se destaca pela sua capacidade de formar complexos insolúveis com alguns minerais (cálcio, ferro, zinco, cobre e magnésio) no alimento 'in natura' e no trato intestinal, diminuindo assim a biodisponibilidade dos mesmos (CHERYAN, 1980; FORBES et al., 1984, HALLBERG et al., 1987; SGARBIERI, 1987; SAHA et al., 1994). Além disso, o ácido fítico interage com as proteínas, formando complexos insolúveis, tornando-as assim indisponíveis às enzimas digestivas e esse complexo pode contribuir para reduzir a biodisponibilidade dos minerais (REDDY et al., 1982; FURTADO, 2003). Nos alimentos sob condições naturais o ácido fítico encontra-se carregado negativamente, o que lhe confere alto potencial para

complexação com moléculas carregadas positivamente como cátions e proteínas (CHERYAN, 1980). Quando presentes simultaneamente dois ou mais cátions, eles podem atuar em conjunto, aumentando a quantidade de complexos fitato-metal precipitados. Geralmente, os cátions bivalentes formam complexos insolúveis penta e hexafosfato e, como a molécula intacta de fitato não pode ser absorvida e o intestino tem baixa capacidade para hidrolisá-la, um amplo efeito negativo é exercido pelo fitato na biodisponibilidade de minerais (TORRE et al., 1991). Sendo assim, a deficiência desses elementos pode acarretar algumas complicações (TAB. 1).

A interação cálcio, fitato e proteína parece ser afetada pelo pH do meio e pela concentração dos três componentes. Sabe-se que um mol de ácido fítico pode quelar de 3 a 6 moles de cálcio, formando complexos insolúveis no pH intestinal (pH básico). Esta mesma capacidade faz com que o ácido fítico forme também uma variedade de sais insolúveis com cátions di e trivalentes em pH neutro (Zn, Cu, Mn, Fe, Ca e Mg), impedindo que estes minerais sejam absorvidos no intestino (SILVA & SILVA, 1999; PAYÁ et al., 2002). Esses complexos são solúveis em pH ácido, porém sua solubilidade diminui em pH básico ou neutro, como o do intestino delgado e essa insolubilidade é a principal razão da reduzida biodisponibilidade desses complexos. As conseqüências negativas sobre o estado nutricional dos indivíduos poderão ser significativas, particularmente para aqueles indivíduos que apresentam deficiência marginal de minerais (COELHO, 1995; RAUPP et al., 2002). Em pH básico (7,4) o fitato forma complexos com metais, preferencialmente na seguinte ordem decrescente: $Cu > Zn > Co > Mn > Fe > Ca$ (OBERLEAS, 1973). Complexos insolúveis de ácido fítico-cálcio podem contribuir para reduzir a biodisponibilidade de outros minerais. O zinco, ferro ou cobre podem ligar-se ao complexo ácido-fítico-cálcio para formar complexos ainda menos solúveis (ERDMAN, 1979; MAGA, 1982; HEANEY et al., 1991; ZHOU & ERDMAN, 1995).

Apesar do relatado por vários autores sobre a influência do fitato na biodisponibilidade de minerais e proteínas, ainda existem autores que discordam. FORBES et al. (1984) sugerem que o fitato provavelmente não exerce efeito significativo na biodisponibilidade de zinco em seres humanos que ingerem uma dieta adequada. HUNT et al. (1987) analisaram a influência de alimentos de origem animal e vegetal na biodisponibilidade de zinco e constataram que esta foi similar para as duas classes de alimentos, contradizendo o conceito geral de que o zinco é pouco disponível em alimentos de origem vegetal comparado com os de origem

animal. OLIVEIRA et al. (2003) avaliaram a influência da adição de ácido fólico á dieta de caseína e concluíram que o ácido fólico adicionado não interferiu na digestibilidade da caseína e no ganho de peso em ratos, ou seja, não alterou o valor nutritivo da caseína.

TABELA 1 - Características de alguns elementos essenciais encontrados em multimisturas.

Minerais*	Funções	Carência/Excesso	Fontes
Potássio (K)	Equilíbrio de água do organismo, função renal, contração do músculo do coração e tonicidade muscular.	Carência: hipotensão (pressão baixa), dilatação cardíaca, arritmia, fraqueza muscular. Excesso: câimbras, paralisia muscular, distúrbios cardíacos.	Cereais integrais, castanha de caju, espinafre, batata, água-de-côco, tomate, frutas cítricas, carnes, leite, melão, banana.
Magnésio (Mg)	Formação dos ossos e dentes, funcionamento do sistema nervoso e muscular, atua no metabolismo de aminoácidos.	Carência: Atraso no crescimento, perda de apetite, náusea, vômito, taquicardia. Excesso: distúrbios cardíacos, compete com cálcio.	Vegetais folhosos, cereais em grãos, frutos do mar e sementes, leite, carne.
Manganês (Mn)	Metabolismo das vitaminas B1 e C, metabolismo de carboidratos e gorduras.	Carência: Defeitos congênitos. Excesso: Ainda não conhecido.	Cereais em grãos, folhosos, nozes e sementes.
Sódio (Na)	É essencial na motilidade muscular e na distribuição de água e volume sanguíneo.	Carência: fraqueza e câimbras musculares, redução do volume urinário. Excesso: Pressão alta, dores de cabeça, eritema da pele.	Sal de cozinha, enlatados, grãos, embutidos, carnes industrializadas, leite e derivados.
Zinco (Zn)	Produção de enzimas digestivas (insulina), síntese de proteínas, defesa do organismo.	Carência: retardo no crescimento, diminuição do paladar. Excesso: náusea, vômito, diarreia.	Carne bovina, ovos, peixes, aves, leite e derivados, cereais, aveia, grão de soja.
Ferro (Fe)	Função imunológica, formação e transporte da hemoglobina, oxigênio e gás carbônico.	Carência: anemia, dor de cabeça, baixa resistência a infecções, fraqueza. Excesso: náusea, vômito, febre, suor.	Fígado, gema do ovo, açaí, brócolis, feijão, banana, carne magra, vegetal verde escuro.
Cálcio (Ca)	Construção dos ossos e dentes, contração e relaxamento muscular, transmissão nervosa e regula os batimentos cardíacos.	Carência: osteoporose e raquitismo, hipertensão, paralisia muscular. Excesso: calcificação excessiva dos ossos, formação de cálculos renais, interferência na absorção de Fe, Mg e Mn.	Vegetais de folhas escuras (couve, espinafre, mostarda, brócolis), sardinha, leite e derivados, ovos, cereais, feijão.

Fonte: SHILLS et al., 2003.

O papel dos fatores antinutricionais tem sido rediscutido em função de descobertas recentes que evidenciam que essas substâncias podem exercer funções benéficas ao organismo humano atuando como anticarcinogênico, antioxidante, na prevenção de cálculos renais e doenças cardiovasculares (PLAAMI, 1997; SILVA & SILVA, 1999). A habilidade do fitato em ligar-se a metais, particularmente ao ferro, pode explicar sua ação antioxidante e anticarcinogênica. Em relação às funções benéficas do ácido fítico, são necessários mais estudos para explicar seu mecanismo de ação.

2.2.2 Ácido oxálico

O ácido oxálico ou ácido etano dióico (FIG. 2) tem a fórmula molecular $C_2H_2O_4$ e peso molecular de 126,07. É um sólido cristalino incolor e inodoro, pouco solúvel em água (MERCK, 1996).

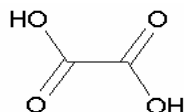


FIGURA 2 - Estrutura química do ácido oxálico.

O ácido oxálico encontra-se presente em inúmeros alimentos de origem vegetal constituintes da dieta humana. Nestes alimentos, pode ser encontrado na forma de oxalato solúvel, como o de sódio e potássio, ou oxalatos insolúveis, oxalato de cálcio e, raramente, é encontrado ácido oxálico livre (OKE, 1980; MASSEY et al., 1993; PINTO et al., 2001). Poucos autores estudaram o teor de ácido oxálico em amostras de multimisturas e seus ingredientes. SANT'ANA et al. (2000) analisaram o farelo de arroz, de trigo, folhas de mandioca desidratadas e sementes de gergelim, encontrando os seguintes resultados em g/100 g: 0,10 no farelo de arroz, 0,15 no farelo de trigo, 0,58 na folha de mandioca e 0,67 na semente de gergelim. Pôde-se observar que a folha de mandioca e a semente de gergelim foram os ingredientes que apresentaram maiores teores de ácido oxálico. NAPPI (2004, 2006) determinou os teores de ácido oxálico em uma amostra de multimistura distribuída em Belo Horizonte/MG e encontrou valores entre 0,04 a 0,06 g/100 g.

Do ponto de vista antinutricional, o ácido oxálico pode complexar com o cálcio, tornando-o indisponível, tendo como principais conseqüências, a hipocalcemia e o raquitismo

(OKE, 1980; MASSEY et al., 1993). Sendo assim, é importante conhecer o risco em potencial da presença de ácido oxálico nos alimentos folhosos, uma vez que das 93 ordens dos vegetais superiores, apenas 11 apresentam a maioria de suas espécies tendo baixos níveis de oxalato em seus tecidos (ZINDLER, 1976).

Do ponto de vista toxicológico, o ácido oxálico, quando ingerido em excesso, pode acarretar ação corrosiva da mucosa intestinal, gastroenterite corrosiva, hemorragia gástrica, cálculos renais e/ou insuficiência renal devido à deposição de cristais de oxalato de cálcio com consequente obstrução dos túbulos renais, entre outros. Além disso, a ingestão entre 2 e 30 gramas de ácido oxálico pode ser letal a um indivíduo, dependendo da sua idade, peso e doenças renais ou cardíaca pré-existent (HODGKINSON, 1977). De acordo com FASSET (1973), a ingestão de 5 gramas ou mais de ácido oxálico puro como produto químico, leva a úlcera no estômago e intestino, hemorragia gástrica e cólica renal.

De acordo com resultados de pesquisa em ratos e na espécie humana, o oxalato é pouco solúvel e diminui a absorção do cálcio presente no espinafre e em outros alimentos quando na mesma refeição (POINTILLART & GUÉGUEN, 1992). Isto confirmou a constatação de WEAVER et al. (1987) que estudaram a absorção de cálcio de várias fontes vegetais e seus teores de ácido oxálico.

O cozimento dos alimentos reduz em grande parte a quantidade de oxalatos solúveis; porém, os insolúveis permanecem no vegetal (MIDIO & MARTINS, 2000). Aproximadamente 2 a 6% dos oxalatos presentes na dieta são absorvidos pelo trato gastrointestinal, o restante é degradado pela flora intestinal ou eliminado pelas fezes. Quando os oxalatos são absorvidos, não são metabolizados pelo homem e sim excretados pela urina em até 24 horas após a ingestão (FASSET, 1973; OKE, 1980).

2.3 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA MULTIMISTURA

Recentemente, as doenças transmitidas por alimentos (DTA) tem sido motivo de grande preocupação do governo. Conforme dados do Ministério da Saúde, entre os anos 1999 e 2004, ocorreram mais de 25 mil óbitos e mais de 3 milhões de casos de internações o que pode ser maior, pois há muito mais casos que não são notificados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). As DTA ocorrem quando há ingestão de alimentos contaminados por microrganismos e seus sintomas são náuseas, vômitos, diarréias, dores de cabeça, entre outros (FORSYTHE,

2002). A contaminação dos alimentos por microrganismos pode ser pela água, ar, solo, alimento, fezes e pelo próprio manipulador que não realiza as boas práticas de fabricação. A utilização da multimistura como suplemento alimentar em dietas para recuperação de crianças desnutridas tem sido bastante discutida pela comunidade científica em função das precárias condições de processamento, que pode acarretar na contaminação e inadequação do produto final, já que a multimistura é produzida em diversos setores e serviços e em diversas escalas, até mesmo artesanalmente, em ambiente domiciliar (VELHO & VELHO, 2002; ARTUS & RAMOS, 2007).

ANGELIS et al. (1988) avaliaram o farelo de trigo, ingrediente muito utilizado na preparação de multimisturas, e concluíram que cerca de 20% das amostras de farelos analisadas apresentaram, antes de serem torradas, contaminação microbiológica acima dos limites máximos permitidos para o consumo humano. A contaminação da multimistura foi confirmada por estudos mais recentes. OLIVEIRA et al. (1997) constataram a presença de bolores e leveduras em valores variando entre $1,0 \times 10^1$ a $2,5 \times 10^5$ UFC/g e ausência de *Salmonella* sp em amostras de multimistura do Rio Grande do Sul. COSTA (1998) avaliou multimisturas usadas em programas de intervenções nutricionais para populações carentes e verificaram que os aspectos higiênico-sanitários deveriam ser melhorados, pois havia contaminação por coliformes fecais na maioria das amostras, sendo estas consideradas impróprias para o consumo humano. Em pesquisa realizada por ANDRADE & CARDONHA (1998) em uma multimistura produzida pela Associação de Atividades de Valorização Social (ATIVA/RN), foi constatada a presença de coliformes fecais acima do padrão estabelecido de 10 NMP/g em 90% das amostras. Foi confirmada também a presença de bolores e leveduras variando de $0,7 \times 10^1$ a $7,4 \times 10^3$ UFC/g e em 5% das amostras, a presença de *Salmonella* sp. Em relação à contagem de *Staphylococcus aureus*, todas as amostras apresentaram crescimento negativo. A legislação utilizada por estes autores foi a Portaria nº 01 de 28 de janeiro de 1987 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1987). Os dados obtidos nesta multimistura com relação à contagem de *Staphylococcus aureus* foram similares ao registrado posteriormente por ALMEIDA et al. (1992) em avaliação do farelo de trigo, utilizado em programas de alimentos alternativos de creches em Salvador/BA. Entretanto, estes autores observaram ausência de coliformes fecais e valores médios de bolores e leveduras acima de 5×10^5 UFC/g em 17,24% das amostras pesquisadas.

CARVALHO et al. (1998) avaliaram amostras de multimisturas da cidade de Salvador/BA, e observaram que as mesmas apresentavam qualidade microbiológica satisfatórias para coliformes totais e fecais, bactérias mesófilas, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, bolores e leveduras e *Salmonella sp*, encontrando-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação - Portaria nº 451 de 19/09/97 (BRASIL, 1997). A qualidade microbiológica de uma multimistura do estado de Paraíba foi analisada por MADRUGA et al. (2004) e verificaram que a mesma era própria para o consumo humano, considerando-se que as bactérias mesófilas, coliformes totais e fecais, bolores e leveduras e *Staphylococcus aureus* estavam de acordo com a mesma Portaria acima.

SANTOS et al. (1998) mostraram que em uma multimistura processada no setor de Puericultura, de um Hospital Universitário/PB foi detectada a presença de bolores e leveduras, sendo alguns produtores de micotoxinas, apesar dos valores estarem dentro dos parâmetros da legislação. Entretanto, em 1999, SANTOS et al. identificaram na multimistura desse mesmo hospital a presença de bactérias mesófilas, coliformes totais e *E.coli* acima dos limites estabelecidos pela Portaria nº 1 de 28 de janeiro de 1987 (BRASIL, 1987). Esses resultados demonstram que as amostras apresentavam condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Além disto, foi identificado ausência de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* e, para bolores e leveduras, as amostras estavam dentro dos padrões estabelecidos. Resultado semelhante foi obtido por GOMES (1999), na multimistura do Hospital Universitário/PB: presença de grande variedade fúngica, com contaminação entre $2,5 \times 10^6$ e $5,0 \times 10^6$ UFC/g, superiores ao limite de $1,0 \times 10^4$ UFC/g, estabelecido pela Portaria 451 de 1997 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1997).

2.4 QUALIDADE NUTRICIONAL

A alimentação exerce grande influência sobre o indivíduo, principalmente sobre sua saúde e capacidade de trabalho. No entanto, para evitar o desencadeamento de doenças e permitir ao indivíduo desenvolver uma vida saudável, é necessário que ela seja balanceada incluindo todos os nutrientes essenciais e em quantidades suficientes (BITTENCOURT, 1998).

Para determinar os nutrientes contidos em um alimento realiza-se a composição centesimal do mesmo. A composição química ou centesimal de um alimento exprime de

forma básica o valor nutritivo ou valor calórico, bem como a proporção de componentes em que aparecem, em 100 g da amostra. É conhecida por meio das análises químicas de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, fibras e carboidratos. Apesar da composição dos alimentos ser uma indicação importante do seu valor nutritivo, ela não é suficiente para uma caracterização completa do ponto de vista nutricional. Isto porque, são raros os nutrientes contidos nos alimentos que se tornam totalmente disponíveis ao organismo após a ingestão. A avaliação completa inclui a biodisponibilidade dos nutrientes, a capacidade do organismo de utilizar estes nutrientes e o estado de interação dos nutrientes com outras substâncias do alimento (SGARBIERI, 1987).

As multimisturas são formuladas com diferentes ingredientes disponíveis regionalmente, de baixo custo e baseadas em preparações caseiras ou artesanais. Sendo assim, é possível obter diferentes composições da multimistura, respeitando-se as diferentes culinárias de cada região. Em geral, as partes dos alimentos aproveitados na multimistura são pobres em calorias, mas apresentam elevadas concentrações de minerais, vitaminas e fibras (BEAUSSET, 1992, NOGARA et al., 1994; BRANDÃO & BRANDÃO, 1997). De acordo com o Manual do Serviço Nacional de Aprendizagem Rural/BA (1994) baseado nos estudos de BRANDÃO (1989) o farelo de trigo é um subproduto da moagem do grão de trigo, rico em fibras e com alto teor de minerais (ferro, cálcio, zinco e magnésio), de vitaminas do complexo B e de macronutrientes (proteínas, carboidratos, gorduras e fibras). O fubá de milho é um alimento essencialmente energético devido ao alto teor de carboidratos. A folha de mandioca constitui-se em grande parte de carboidratos, são ricas em vitamina A, do complexo B e C, além de ferro e cálcio. O pó da casca de ovo contém grande fonte de cálcio, uma vez que a mesma é composta essencialmente de carbonato de cálcio. NAVES et al. (2007) recomendam o uso do pó da casca de ovo para fortificar alimentos consumidos habitualmente por diferentes grupos de indivíduos, pois, além de ser uma fonte de cálcio de boa qualidade nutricional, é um produto de fácil aquisição, de preparo simples e de baixo custo.

Na ampla literatura sobre a composição centesimal e elementar da multimistura, diversas pesquisas já foram realizadas, porém, os valores encontrados variam devido a utilização de diferentes ingredientes. Neste sentido, os resultados obtidos sobre o valor nutricional das multimisturas consumidas nas diferentes regiões do país, variaram (em 100g) entre: 2,08 a 6,5g para umidade, 2,7 a 11,08 g para cinzas, 11,7 a 15,15 g para proteínas, 3,93 a 21,65 g para lipídeos e 59,72 a 74,2 g para carboidratos, 460,37 a 1404,08 mg de potássio,

130,67 a 449,97 mg de magnésio, 4,0 a 12,19 mg de manganês, 6,6 a 7,91 mg de sódio, 2,6 a 7,70 mg de zinco, 3,78 a 13,69 mg de ferro e 51 a 1419 mg de cálcio (ITA, 1995; CHIAPPINI et al., 1996; SANT'ANA et al., 1996; CARVALHO et al., 1998; MADRUGA & CÂMARA, 2000; SANT'ANA et al., 2000; MADRUGA et al., 2004; SANTOS et al., 2004; VIZEU et al., 2005; BARBOSA et al. 2006).

Em relação à qualidade nutricional da multimistura, pôde-se perceber que existem diferentes formulações de multimisturas que variam de acordo com o ingrediente disponível em cada região, portanto, sempre haverá variações nos resultados da composição centesimal e de minerais, dependendo de cada formulação.

2.5 IRRADIAÇÃO GAMA

O tratamento por irradiação gama é uma das tecnologias que vem crescendo em todo mundo. Ainda pouco difundida, mas já foi aprovada no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) pela Resolução RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001, que aprova o regulamento para irradiação de alimentos (BRASIL, 2001b).

Em 1981, a irradiação de alimentos foi aprovada pelo Comitê Misto da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura/Organização Mundial da Saúde (FAO/WHO, siglas do inglês) e pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, sigla do inglês). Em 1984, foi criado o Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos (GCIIA) pela FAO/WHO e a IAEA, para acompanhar a evolução dessa tecnologia. O Brasil, junto com outros 44 países, faz parte desse grupo (GIROUX & LACROIX, 1998; DEL MASTRO, 1999; MATSUDA, 2002).

O processo consiste em submeter o produto a uma quantidade controlada de radiação ionizante por um tempo determinado sem que o alimento entre em contato direto com a fonte. Normalmente, se utilizam os raios gamas oriundos de fontes radioativas de cobalto 60. O processo não aumenta o nível de radioatividade normal dos alimentos, independente do tempo de exposição ou da dose absorvida e, uma vez interrompida a emissão de energia, os efeitos da irradiação não persistem no alimento irradiado (IAEA, 1991). A irradiação é realizada dentro de uma câmara blindada e a espessura da blindagem depende da intensidade da fonte e da taxa de dose na superfície externa da blindagem (BRASIL, 2001b).

A quantidade de energia absorvida medida em grays ($1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg}$) é a dose, e os efeitos provocados pela radiação dependem da dose recebida. A dose e o tempo de exposição devem ser suficientes para produzir os resultados desejáveis e mínimos o bastante para manter a qualidade do alimento. De acordo com a Resolução RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001b) não há mais restrições em relação às doses de radiação a serem aplicadas nos alimentos. Qualquer alimento pode ser irradiado, desde que sejam observadas as seguintes condições: a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade desejada e a dose máxima deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais do alimento. A mesma resolução estabelece que quando um produto irradiado é utilizado como ingrediente em outro alimento, este último deve conter no rótulo da embalagem que o ingrediente em questão foi tratado por irradiação. No Brasil já se encontram batata chips adicionadas de condimentos e especiarias irradiados. Porém, nos Estados Unidos os alimentos irradiados devem apresentar o símbolo radura (FIG. 3) escrito “Tratado por irradiação” (HUNTER, 2000), o que ainda não é registrado no Brasil.

O interesse pela irradiação como tecnologia de tratamento de alimentos é devido às grandes perdas decorrentes da infestação por insetos e da contaminação e deterioração por microrganismos. A FAO estima que 25% da produção mundial de alimentos se perdem pela ação destes microrganismos (MARTIN-NETO et al., 1996). As doenças transmitidas por alimentos contaminados por estes microrganismos podem levar à morte (MOLINS, 2001)



FIGURA 3 - Radura – símbolo de alimento tratado por irradiação.

O tratamento por radiação ionizante: 1) reduz e/ou elimina a carga microbiológica a níveis seguros para o consumo, diminuindo a incidência de doenças causadas por microrganismos e ampliando o tempo de armazenamento dos produtos alimentícios; 2) impede a infestação de insetos ao atuar sobre suas células; 3) inibe o brotamento (cebolas, batatas) pela inibição das auxinas, que promovem o crescimento das células broto; 4) retarda

o amadurecimento dos alimentos ao inibir as reações bioquímicas nos tecidos vegetais; 5) reduz o risco de contaminação cruzada visto que o alimento pode ser irradiado já embalado. Além disto, a irradiação de alimentos substitui tratamentos com produtos químicos utilizados na conservação dos alimentos, muitas vezes carcinogênicos, e não aumenta a temperatura do alimento, reduzindo a probabilidade de perdas nutricionais (FIGUEIREDO, 1990; SPOTO, 1998; MOLINS, 2001).

A irradiação nos alimentos previne o crescimento de microrganismos devido aos danos causados no DNA por ação do fóton de energia ou elétron. Nesse caso, a radiação irá interagir de duas maneiras: a direta, quando o raio gama colide com o DNA do microrganismo, ionizando-o e provocando sua destruição e a indireta, que ocorre devido à presença de certa quantidade de água nos microrganismos e, neste caso, a radiação interage com a água levando à formação de radicais livres (OH e H) que são altamente reativos, e que, por sua vez, reagem com componentes vitais das células dos microrganismos levando à sua destruição (FIGUEIREDO, 1990; SPOTO, 1998; MOLINS, 2001).

O efeito da irradiação sobre os nutrientes tem sido motivo de muitas pesquisas na área de alimentos, observando-se que as alterações são as mesmas que ocorrem em outros processos de conservação de alimentos, como o térmico (pasteurização e esterilização a quente). Especialistas da FAO, WHO e IAEA, observaram que a irradiação não induz a alteração nutricional significativa (IAEA, 1998). A tecnologia de irradiação de alimentos é claramente aceita pela comunidade científica e considerada eficiente na conservação e extensão da vida de prateleira de alimentos, pois atinge seus objetivos com um mínimo de mudanças nas qualidades funcionais, nutritivas e sensoriais dos alimentos (IAEA, 1998). De acordo com FARKAS (1998), o tratamento de alimentos com a irradiação não altera suas características sensoriais próprias.

Estudos sobre os efeitos das radiações ionizantes em macronutrientes (carboidratos, lipídeos e proteínas) mostram que eles são relativamente estáveis frente às doses de até 10 kGy. Entre os micronutrientes, poucas vitaminas, em especial as C e B1, entre as hidrossolúveis, e as E, A e K, entre as lipossolúveis, são parcialmente decompostas, porém, estas perdas são similares às provocadas por outros processos de conservação de alimentos como o térmico (DIEHL & JOSEPHSON, 1994; KILCAST, 1994; CRAWFORD & RUFF, 1996; NARVAIZ & LADOMERY, 1998). A FAO, WHO e IAEA concluíram que os

produtos de radiólise e as perdas nutricionais nos alimentos irradiados são similares aos encontrados em alimentos não irradiados tratados por outros processos de conservação (IAEA, 1998).

Aproximadamente meio milhão de toneladas de produtos e ingredientes alimentícios são irradiados anualmente no mundo. Esta quantidade é pequena em comparação ao volume total de alimentos. Entretanto, apesar de suas vantagens, a irradiação de alimentos ainda é pouco aceita pelo mercado consumidor; a maioria das pessoas tem certa resistência à tecnologia de irradiação de alimentos. Em uma pesquisa de opinião ORNELAS et al. (2006) verificaram que para 16% dos entrevistados, dos quais 94% com pelo menos o segundo grau completo, alimentos irradiados significam o mesmo que alimentos radioativos, o que evidencia a falta de informação do público. LEAL et al. (2006), em uma pesquisa com estudantes universitários, mostraram que os mesmos tinham baixo conhecimento a respeito da tecnologia de irradiação. Somente 11% dos entrevistados afirmaram ter alguma informação; entretanto, quando questionados se consumiriam alimentos irradiados, 45% responderam que sim e 24% dos estudantes da área de saúde e 34% de outras áreas afirmaram que antes do consumo gostariam de conhecer melhor o processo. Segundo MARTIN-NETO et al. (1996), é importante que os consumidores superem alguns mitos e entendam que a irradiação não torna o alimento radioativo e não destrói nutrientes em maior extensão que outros processos de conservação.

Vários autores destacam a eficiência da irradiação gama: 1) na descontaminação do alimento pela destruição de fungos e bactérias: MARTIN-NETO et al. (1996) e VIEIRA et al. (2007); 2) na inibição do brotamento de raízes e tubérculos; 3) no retardo do amadurecimento das frutas: AZIZ et al. (2003); FOLEY et al. (2002) e, mais recentemente, 4) na redução dos níveis de: fatores antinutricionais no feijão cozido na dose de 6 kGy (BRIGIDE, 2002); ácido fítico em feijão preto até a dose de 8 kGy (MECHI et al., 2005). Entretanto, VILLAVINCENCIO et al. (2000) observaram que a irradiação não alterou o conteúdo de fitato em feijão cru e cozido.

2.6 MÉTODO DE IDENTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS IRRADIADOS

Uma das questões importantes no tratamento por irradiação gama é a identificação do alimento irradiado. O desenvolvimento de métodos de identificação de alimentos irradiados

contribui para o controle no mercado internacional de alimentos irradiados, re-irradiados e da dose recebida. O processo de irradiação de alimentos pode levar à formação de radicais livres e a avaliação da presença dos mesmos é um dos meios de determinar se o produto foi ou não irradiado. Para isto utiliza-se a ressonância paramagnética eletrônica (RPE) para verificar se um alimento já foi irradiado, pela detecção dos radicais livres, sejam estes induzidos pela irradiação e/ou já existentes na amostra.

Os radicais livres são altamente instáveis e muito reativos: são espécies de duração bastante curta; porém, quando formados em matrizes rígidas e secas como a multimistura, sua vida média aumenta consideravelmente, possibilitando sua detecção durante períodos longos que podem, inclusive, ultrapassar a vida-de-prateleira do produto. Entretanto, em produtos úmidos, os radicais livres são instáveis e altamente reativos e, neste caso, as amostras devem ser desidratadas antes da irradiação (BÖGL, 1989; SCHREIBER et al., 1993; DESROSIERS, 1996).

A avaliação da intensidade do sinal da RPE permite verificar se a amostra foi ou não irradiada e que dose recebeu. Entretanto, em alguns casos, é necessário que a medida da RPE seja feita em uma amostra controle, não-irradiada, pois o sinal de RPE detectado não é produzido somente pela irradiação, já que em alimentos como batatas e macarrão instantâneo são encontrados radicais livres, e, além disso, o aquecimento pode levar à formação de radicais livres (SCHREIBER et al., 1993; DESROSIERS, 1996).

A RPE pode ser aplicada a vários alimentos. No Brasil, esta técnica já foi empregada em pimenta-do-reino, ervas comestíveis e medicinais e especiarias (MARTIN-NETO et al., 1996; LEAL et al., 2004; VIEIRA et al., 2007). De acordo com LEAL et al. (2004), pela RPE foi possível detectar amostras irradiadas de alecrim e coentro (FIG. 4). As amostras não-irradiadas não apresentaram presença de radical livre, enquanto nas irradiadas a 10 kGy havia sinal de radicais livres, porém em menor quantidade que nas irradiadas a 20 kGy.

Segundo DESROSIERS (1996), a RPE é um método simples, rápido e não destrutivo, ou seja, pode ser analisado mais de uma vez no mesmo material sem alterar a intensidade do sinal. E, devido a estas características e aos resultados publicados sobre o uso da RPE em outros alimentos, é que se utilizou esta metodologia para avaliar sua eficiência na detecção da multimistura irradiada.

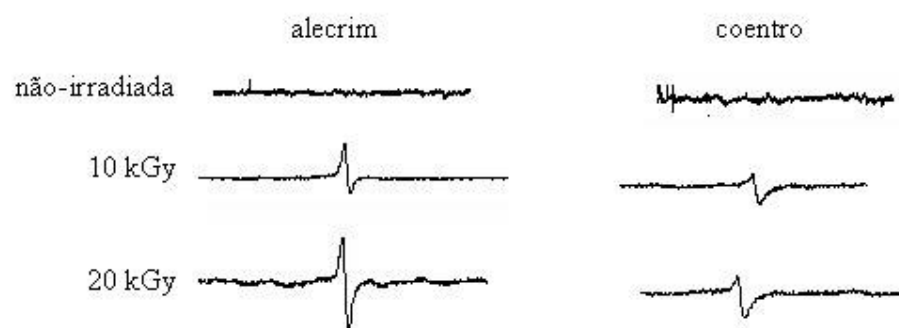


FIGURA 4 - Espectros de RPE de alecrim e coentro de amostras não irradiadas e irradiadas a 10 e 20 kGy. Fonte: LEAL et al. (2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado numa parceria entre os Laboratórios de Irradiação Gama e de Ativação Neutrônica do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN) e os Laboratórios de Micologia e Micotoxinas, Química Bromatológica, Cromatografia e de Microbiologia da Fundação Ezequiel Dias (FUNED) além do Laboratório de Ressonância da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), todos situados em Belo Horizonte, Minas Gerais.

3.1 COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras de multimistura foram coletadas na Região Metropolitana de Belo Horizonte/MG sendo uma industrializada e as demais produzidas manualmente por voluntários da Pastoral da Criança (n = 5 fornecedores). Na FIG. 5 apresenta-se a Arquidiocese de Belo Horizonte – Pastoral da Criança dividida em quatro setores, nos quais foram coletadas as amostras artesanais.

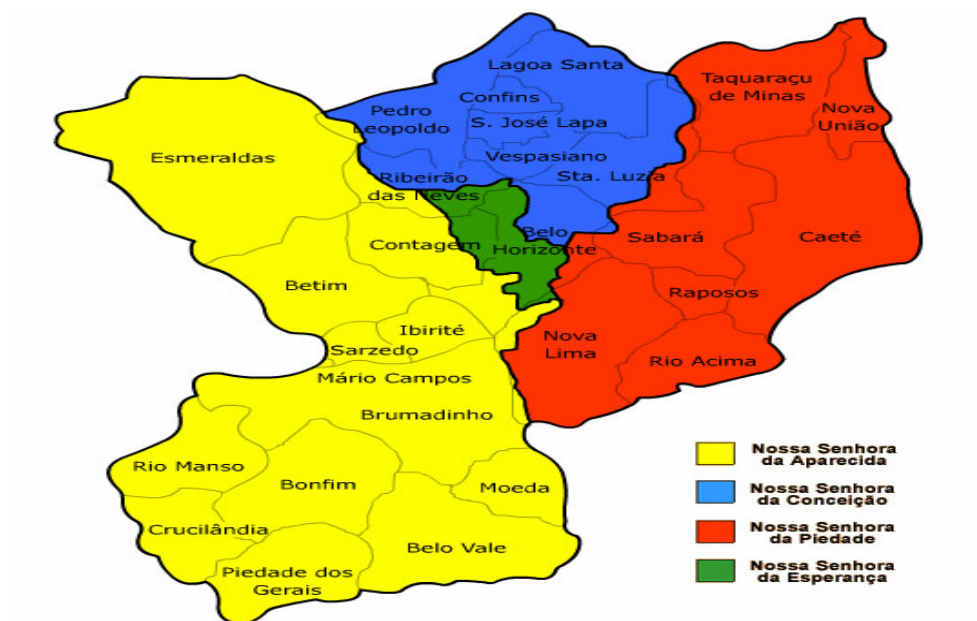


FIGURA 5 - Gráfico representando a divisão dos setores da Arquidiocese de Belo Horizonte.

Fonte: PASTORAL DA CRIANÇA, 2005.

A amostra industrializada foi obtida de uma empresa que revende o produto. Até o ano de 2006, fornecia a multimistura para a Prefeitura Municipal de Belo Horizonte visando sua redistribuição para os Postos de Saúde, onde era doada para as pessoas com prevalência de desnutrição (TAB. 2).

TABELA 2 - Composição das amostras de multimisturas.

	Farelo de Trigo	Fubá	Pó de Folha de Mandioca	Pó de Casca de Ovo
Multimistura 1*	24	70	3	3
Multimistura 2	49,9	49,9	0,25	-
Multimistura 3	60	39,50	0,50	-
Multimistura 4	59,80	40	0,20	-
Multimistura 5	68	31	0,50	0,5

* Multimistura industrial.

Em geral, o modo de preparo das multimisturas consiste em lavar a folha de mandioca, retirar o talo, deixar secar (na sombra) por cinco dias e após esse tempo levar ao moedor. Depois, torra-se separadamente o farelo de trigo e o fubá por ± 25 min no fogo baixo, mexendo sempre. Em seguida mistura-se o farelo, o fubá e o pó da folha de mandioca em uma vasilha e distribui-se nas embalagens. Para a multimistura que contém a casca de ovo em pó, as cascas são lavadas, fervidas por ± 20 min, deixadas no sol para secar e, posteriormente, moídas e misturadas com os demais ingredientes. Foi realizada a visita em um local de produção da multimistura e as fotos são apresentadas na FIG. 6.

As quantidades diárias mínimas recomendadas nos rótulos são diferentes para cada amostra, a saber, multimistura 1: 3 colheres de sopa/dia; multimistura 2: 1 colher de chá/dia; multimistura 3: 3 colheres de sobremesa/dia; multimistura 4: 3 colheres de sopa/dia e multimistura 5: 2 colheres de sobremesa/dia. As multimisturas foram pesadas nas quantidades recomendadas (colher de sopa, sobremesa e chá) e obteve-se, respectivamente, os valores em gramas de 35,97; 4,88; 22,56; 33,81 e 15,08. Os valores foram somados, calculou a média e o resultado obtido foi, aproximadamente, 22,5g.



FIGURA 6 - Aspectos da produção de multimistura.

Para a apresentação e discussão dos resultados utilizou-se as porções de 5g (2 colheres de chá/dia) recomendada por Clara Brandão idealizadora da multimistura (BRANDÃO & BRANDÃO, 1996) e 22,5g obtido pela média dos rótulos das amostras. Não foi possível obter informações a respeito das diferenças ocorridas nas recomendações registradas nos rótulos. As amostras de multimisturas coletadas apresentam em suas embalagens conteúdos diferentes: multimistura 1: 1 kg; multimistura 2: 150g; multimistura 3: 500g; multimistura 4: 500g e multimistura 5: 250g.

3.2 PREPARO DA AMOSTRA

Os conteúdos dos pacotes de cada amostra foram transferidos para um saco plástico grande e homogeneizados. Posteriormente, foram transferidas para sacos plásticos menores constituindo, respectivamente, as amostras não-irradiadas (controle) e irradiadas.

3.3 IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras a serem irradiadas foram levadas para o Laboratório de Irradiação Gama (LIG) do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), onde foram colocadas no Irradiador Gama GB – 127, IR – 214 da MDS Nordion com fonte de ^{60}Co , em taxa de dose de 10 kGy/h, e receberam doses variáveis de 2, 4, 6, 8 e 10 kGy.

3.4 EQUIPAMENTOS E PADRÕES

Os equipamentos e padrões utilizados nas análises foram os seguintes:

- cromatógrafo líquido de alta eficiência – CLAE (Shimadzu, Kyoto Japan), composto de bomba LC-10AD, injetor automático com capacidade de injeção de 50 μL , detector espectrofotométrico UV-VIS SPD-10A, forno para coluna SIL-10A, detector de arranjo de diodo (DAD) SPD-M10A, UV-VIS, unidade de desgaseificação DGU-2A;
- colunas cromatográficas Spherisorb ODS C_{18} (5 μm), 250 mm x 4 mm e de exclusão iônica Supelcogel H, 300mm x 7,8mm;
- balança analítica BEL, com precisão de 0,05 mg;
- sistema Millipore para filtração à vácuo;
- bomba de vácuo seca Edwards, modelo A480-01-880;
- sistema de purificação de água MILLI-Q, modelo ELIX 3;

- evaporador rotativo Jouan;
- agitador planetário e centrífuga;
- estufa a 105 °C; mufla;
- aparelhos digestor de kjeldahl e extrator de soxhlet;
- padrões de hexa, penta, tetra, tri, di e monofosfato de inositol, marca Sigma e de ácido oxálico, marca Merck;
- vidrarias de uso comum do laboratório.

3.5 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁCIDO FÍTICO E SEUS DERIVADOS

A determinação dos teores de ácido fítico e seus derivados foi realizada no Laboratório de Cromatografia da FUNED de acordo com a metodologia descrita e validada por NAPPI, nesta mesma instituição, em 2004. Para as análises foram pesadas separadamente e em duplicata 0,5 g das amostras irradiadas e controle em tubos de centrífuga de 100 mL de capacidade. A seguir, foram adicionados 20 mL de ácido clorídrico 0,5 mol/L e os tubos submetidos à agitação mecânica (agitador planetário) por 2 horas. Após este período, as amostras foram centrifugadas a 289 g por 20 minutos e os sobrenadantes filtrados em papel quantitativo lento e, a seguir, em filtro de 0,45 micra. Dos filtrados foram pipetados 10 mL, transferidos para tubos de centrífuga de 15 mL com tampa esmerilhada e evaporados em evaporador rotativo até resíduo. Aos resíduos foram adicionados 15 mL de ácido clorídrico 25 mmol/L e purificados em coluna de troca aniônica SAX conectada a um sistema a vácuo e previamente lavadas sucessivamente com 10 mL e 5 mL de HCL 0,025 mol/L. Os fosfatidilinositóis foram eluídos com 10 mL de HCL 2 mol/L para um tubo de ensaio de 10 mL, concentrados até resíduo em evaporador rotativo, retomados com 1,0 mL de fase móvel e filtrados em membranas filtrante de 0,45 µm e 13 mm de diâmetro para vials de vidro com tampa. A seguir, foram injetados no CLAE conforme condições analíticas especificadas no item 3.5.1 (NAPPI, 2004). Para confirmar os picos do ácido fítico, foram adicionados 0,27 µg/20 µl do padrão de ácido fítico nas amostras (amostras adicionadas).

3.5.1 Condições analíticas da cromatografia líquida de alta eficiência

Fase móvel: tampão composto de 900 mL de metanol, 900 mL de ácido fórmico 0,05 mol/L, 45 mL de EDTA 0,005 mol/L, 54 mL de hidróxido de tetrabutilamônio a 20 g/100 g,

1,8 mL de ácido fólico 0,6 g/100 g e ácido sulfúrico 9 mol/L para ajuste do pH para 4,3. Coluna: Spherisorb ODS C₁₈ (5 µm), 250 mm x 4 mm; forno: 45 °C; detector: índice de refração; fluxo: 1,2 mL/min; sistema isocrático de eluição e volume injetado: 20 µL.

A quantificação foi realizada pela padronização externa traçando curva de calibração com 7 concentrações que abrangeram a faixa de 30 µg a 240 µg/20 µL. Cada concentração da curva de calibração foi injetada em triplicata e foram determinados os coeficientes angular e linear da reta de regressão. A seguir, foi aplicado o teste estatístico para determinar a linearidade para 7 concentrações com $p \leq 0,05$ (PIMENTEL-GOMES, 1990).

3.6 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁCIDO OXÁLICO

A determinação dos teores de ácido oxálico foi realizada no Laboratório de Cromatografia da FUNED de acordo com metodologia de cromatografia de exclusão iônica descrita e validada por NAPPI, nesta mesma instituição, em 2004. Primeiramente foi realizado o processo de extração das amostras pesando separadamente e em duplicata cerca de 2,5 g de cada amostra irradiada e não-irradiada em erlenmeyer de 125 mL, adicionados 200 mL de ácido clorídrico 1 mol/L e deixados por 20 min em banho-maria a 100 °C. A seguir, foram deixadas à temperatura ambiente por uma noite. Posteriormente, as suspensões foram filtradas por dois papéis de filtro quantitativo lento (nº 42). A seguir, foram pipetados 2 mL para um tubo de ensaio, adicionados 2 mL de água e agitados no agitador Vórtex. Foram purificados em cartuchos Sep-pak C₁₈ de 500 mg previamente ativados com 2 mL de metanol e 2 mL de HCl 0,5 mol/L. O eluato foi recolhido em um tubo de ensaio. Deste filtrado, foram pipetados 2 mL para outro tubo de ensaio e adicionados 1 mL do tampão fosfato de sódio tribásico 20g/100mL e agitados no Vórtex. A seguir, a solução foi filtrada em filtro de 0,45 µ e injetadas no CLAE conforme condições analíticas descritas no item 3.6.1. Para confirmar o pico do ácido oxálico, foram adicionados 0,2 µg/20µl do padrão de ácido oxálico nas amostras (amostras fortificadas).

3.6.1 Condições analíticas da cromatografia líquida de alta eficiência

Fase móvel: solução de ácido ortofosfórico 0,1 g/100mL. Coluna: Supelcogel H, 300 mm x 7,8 mm (5 µm); forno: 40 °C; detector: UV-VIS a 220 nm; fluxo: 0,5 mL/min ; sistema isocrático de eluição; volume injetado: 20 µL.

A quantificação foi realizada pela padronização externa traçando curva de calibração com 7 concentrações que abrangeram a faixa de 0,1 µg a 8 µg de ácido oxálico. Cada concentração da curva de calibração foi injetada em triplicata e foram determinados os coeficientes angular e linear da reta de regressão. A seguir, foi aplicado o teste estatístico para determinar a linearidade para 7 concentrações com $p \leq 0,05$ (PIMENTEL-GOMES, 1990).

3.7 DETERMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram realizadas na FUNED, no Laboratório de Micologia e Micotoxinas e no Laboratório de Microbiologia de Alimentos em duplicata e segundo a metodologia da American Public Health Association (APHA) descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (DOWNES & ITO, 2001). A enumeração de bolores e leveduras viáveis nas amostras irradiadas e não-irradiadas foi feita pelo método do plaqueamento em superfície, onde alíquotas de 0,1 ml foram espalhadas em placas contendo o Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC). A identificação dos fungos filamentosos foi feita de acordo com SAMSON et al. (2004) e PITT & HOCKING (1999). A identificação das leveduras foi feita pelo método automatizado (VITEK). As análises de detecção de *Salmonella sp* nas amostras foram realizadas em 3 etapas: pré-enriquecimento em caldo lactosado, enriquecimento em caldos seletivos: caldo Rappaport Vassiliadis (CRV) e caldo Tetracionato (CT) e plaqueamento seletivo diferencial em ágar bismuto sulfito (BS), ágar entérico de Hectoen (HE) e ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) e para confirmação das colônias típicas realizaram-se provas bioquímicas. A contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* nas amostras foi realizada pelo método de contagem direta em placas contendo o ágar Baird-Parker (BP), em diluições seriadas. A confirmação das colônias típicas e atípicas foi realizada com o teste de coagulase em tubo. A contagem de *Bacillus cereus* nas amostras foi feita pelo método de plaqueamento direto em ágar manitol gema de ovo polimixina (MYP). A confirmação das colônias típicas foi feita mediante provas bioquímicas. A contagem de coliformes a 45 °C nas amostras foi feita pelo método do número mais provável (NMP) realizado em 2 etapas: teste presuntivo em caldo lauril sulfato triptose (LST) e teste confirmativo em caldo *Escherichia coli* (EC). O resultado obtido foi verificado na tabela de número mais provável (NMP) do Bacteriological Analytical Manual (BAM, 2003).

3.8 QUALIDADE NUTRICIONAL

Após tratamento com irradiação gama em doses variáveis (entre 0 e 10 kGy) as amostras não-irradiadas e irradiadas foram levadas ao Laboratório de Bromatologia da FUNED para a determinação da composição centesimal com base nos métodos preconizados pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005). As análises foram feitas em duplicata.

- Umidade: método de secagem em estufa a 105 °C.
- Cinzas: foram determinadas por incineração do produto em mufla à temperatura de 550 °C com destruição da matéria orgânica, sem apreciável decomposição dos constituintes do resíduo mineral.
- Proteínas: método de Kjeldahl, usando o fator 6,25 para conversão do teor de nitrogênio em proteínas.
- Lipídios: método de Soxhlet, usando éter de petróleo como solvente.
- Carboidratos: O carboidrato foi obtido por diferença (soma da umidade, cinzas, lipídios, proteínas e diminuir o número obtido de 100).
- Valor Calórico Total (VCT): foi calculado multiplicando-se os valores de proteínas, lipídios e carboidratos em gramas pelos fatores de conversão 4, 9 e 4, respectivamente. O somatório corresponde ao valor calórico total (OSBORNE & VOOGT, 1978).

3.8.1 Irradiação por Ativação Neutrônica

A determinação dos minerais presentes nas amostras de multimistura foi realizada por ativação neutrônica (AN), técnica analítica que permite determinar a composição em elementos minerais de uma amostra por meio da indução de radioatividade artificial pela irradiação por nêutrons e posterior análise da radiação emitida. Para realizar a análise, as amostras, em duplicatas, com massas entre 250 e 350 g, foram irradiadas por 8 horas no Reator Triga do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN) com fluxo térmico (ncm-2 s^{-1}) de 6.4×10^{11} e potência 100 kW. A vantagem desta técnica é poder analisar vários elementos simultaneamente sem qualquer procedimento químico e preparo prévio das amostras (LEAL et al., 2006).

3.9 RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA

Após a irradiação, as amostras foram introduzidas em tubos de vidro de 0,2 x 10 cm e analisadas pela RPE no Departamento de Física da UFMG. Os espectros de RPE foram gravados à temperatura ambiente em um espectrômetro equipado com uma cavidade cilíndrica, que opera na faixa de frequência de microondas de 9,4 GHz (Varian) e modulação do campo magnético em 100 kHz. As análises foram realizadas em duplicatas.

Para a análise por RPE, a amostra é exposta a microondas de frequência constante e, ao mesmo tempo, um campo magnético é aplicado provocando a ressonância do elétron entre os dois estados; a energia absorvida é monitorada e convertida num espectro de RPE. O espectro formado tem a intensidade do campo magnético (eixo x) x intensidade do sinal resultante (eixo y). A transição dos spins dos elétrons desemparelhados é induzida a certa frequência (frequência de ressonância) absorvendo certa quantidade de energia de microondas. A intensidade da absorção é proporcional à concentração dos radicais, ou seja, quanto maior o número de radicais maior será a absorção de energia e maior será a intensidade do sinal de RPE. A condição de ressonância é específica para o tipo de radical formado; este fator determina a extensão em que um radical particular pode ser diferenciado de outros (SCHREIBER et al., 1993; DESROSIERS, 1996).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE ÁCIDO FÍTICO E OXÁLICO NAS AMOSTRAS DE MULTIMISTURAS

4.1.1 Determinação do ácido fítico e seus derivados

A comparação entre os perfis cromatográficos do branco do reagente (FIG. 7) do padrão do ácido fítico não-extraído (FIG. 8), do padrão do ácido fítico extraído (FIG. 9), da amostra não-irradiada (controle) extraída (FIG. 10) e da amostra não-irradiada (controle) adicionada e extraída (FIG. 11) mostrou a ausência de picos interferentes na região dos picos do IP₄, IP₅ e IP₆. Os picos apresentaram-se simétricos e com concordância nos tempos de retenção. Pelo perfil cromatográfico das FIG. 9 e 10 observou-se que o hexafosfato de inositol (IP₆) apresenta o maior pico, seguido do pentafofosfato de inositol (IP₅) e do tetrafosfato de inositol (IP₄). A avaliação do modelo de regressão linear foi realizada pela análise de variância (ANOVA). O coeficiente de regressão linear (R^2) da curva de calibração do ácido fítico foi de 0,999, evidenciando sua linearidade (FIG. 24, APÊNDICE A).

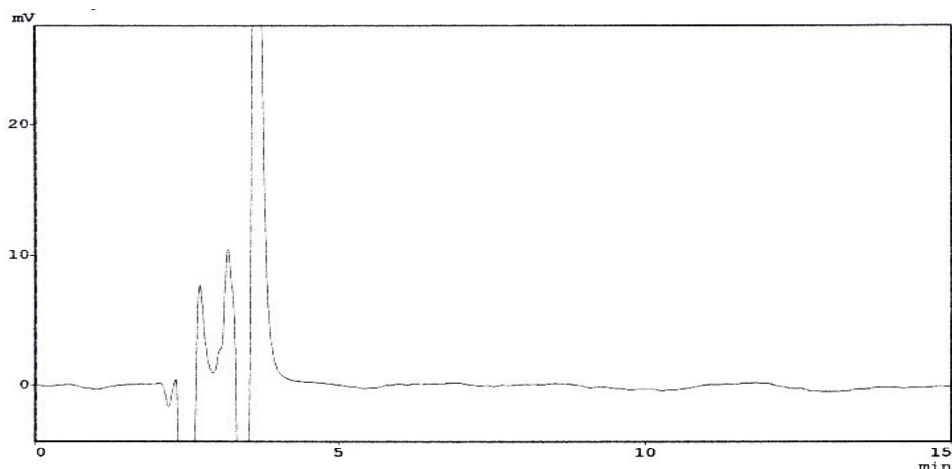


FIGURA 7 - Perfil cromatográfico do branco do reagente extraído.

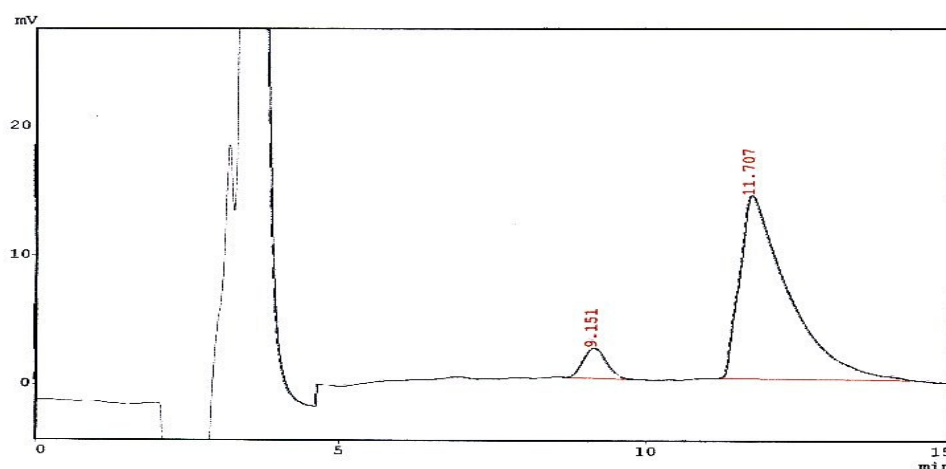


FIGURA 8 - Perfil cromatográfico do padrão de ácido fólico não-extraído.

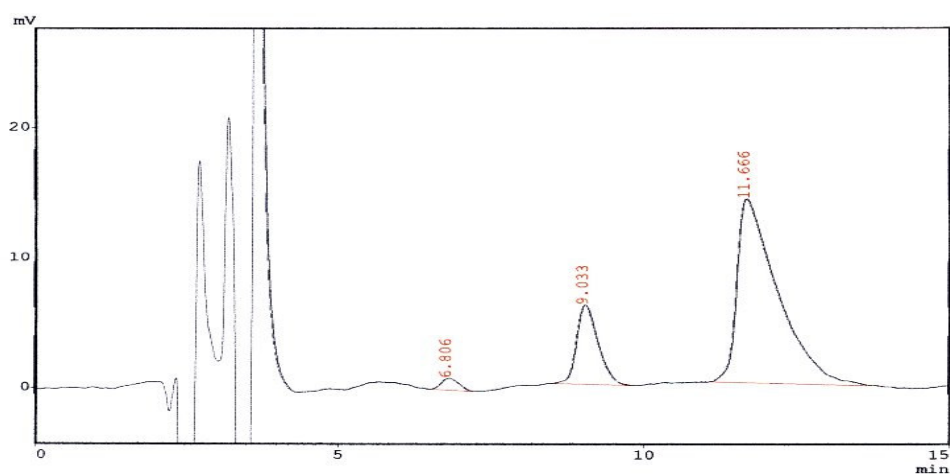


FIGURA 9 - Perfil cromatográfico do padrão de ácido fólico extraído.

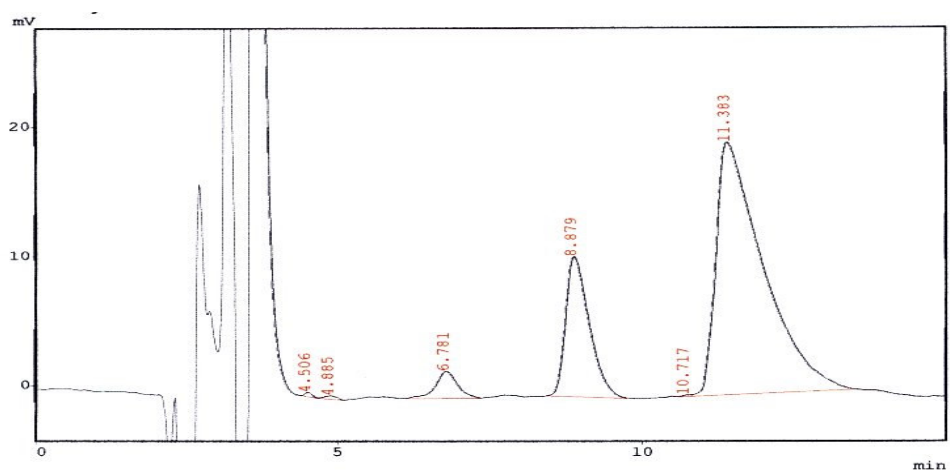


FIGURA 10 - Perfil cromatográfico de amostra não-irradiada extraída.

A presença do ácido fítico (FIG. 11) foi confirmada pela comparação entre os cromatogramas de uma amostra de multimistura adicionada e extraída e da mesma não adicionada e extraída, pois ocorreu aumento das áreas dos picos do IP₆, IP₅ e IP₄.

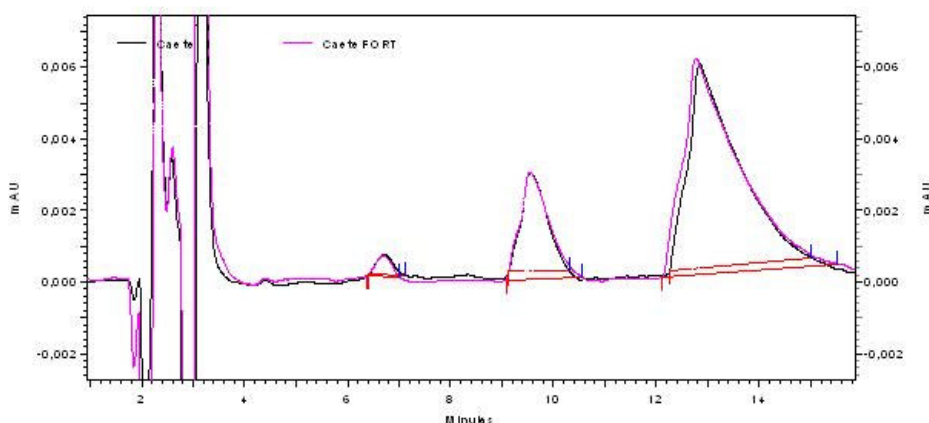


FIGURA 11 - Cromatograma de amostra de multimistura adicionada e não adicionada.

Nas TAB. 3, 4 e 5 estão registrados os teores dos inositóis hexa-, penta- e tetrafosfatos contidos nas amostras de multimisturas. O mais abundante mio-inositol fosfato foi o IP₆, seguido do IP₅ e IP₄. Segundo VELHO & VELHO (2002) e NAPPI (2006), estas três formas têm maior poder complexante, referindo-se ao ácido fítico, em seus estudos, como a soma de IP₆, IP₅ e IP₄; por isto, no presente estudo também se considerou o ácido fítico como representando a soma das três formas.

TABELA 3 - Média dos teores de hexafosfato de mioinositol nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.

Dose (kGy)	Hexafosfato de mio-inositol (mg/100 g amostra seca)					
	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	1,09±0,00	1,42±0,05	1,31±0,12	1,26±0,02	1,27±0,05	1,30±0,11
Multimistura 2	1,20±0,04	1,34±0,02	1,44±0,02	1,24±0,19	1,31±0,08	1,25±0,23
Multimistura 3	1,20±0,07	1,06±0,01	1,18±0,02	1,15±0,06	1,23±0,06	1,20±0,09
Multimistura 4	2,19±0,00	2,14±0,34	1,95±0,35	2,21±0,06	2,29±0,04	2,27±0,02
Multimistura 5	1,03±0,25	1,45±0,52	1,45±0,20	1,60±0,10	1,72±0,09	1,82±0,11

* Multimistura industrial. Os valores correspondem à média de duas repetições ± DP.

TABELA 4 - Média dos teores de pentafofato de mioinositol nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.

Pentafofato de mio-inositol (mg/100 g amostra seca)						
Dose (kGy)	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	0,31±0,01	0,35±0,01	0,34±0,00	0,42±0,01	0,37±0,04	0,37±0,05
Multimistura 2	0,36±0,00	0,44±0,06	0,42±0,01	0,36±0,03	0,39±0,02	0,36±0,08
Multimistura 3	0,43±0,00	0,41±0,03	0,53±0,01	0,43±0,01	0,48±0,02	0,51±0,03
Multimistura 4	0,56±0,00	0,60±0,01	0,47±0,02	0,56±0,00	0,54±0,02	0,59±0,01
Multimistura 5	0,34±0,01	0,46±0,12	0,45±0,04	0,50±0,00	0,54±0,01	0,47±0,01

* Multimistura industrial. Os valores correspondem à média de duas repetições ± DP.

TABELA 5 - Média dos teores de tetrafofato de mioinositol nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.

Tetrafofato de mio-inositol (mg/100 g amostra seca)						
Dose (kGy)	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	0,11±0,01	0,11±0,00	0,11±0,00	0,13±0,14	0,11±0,00	0,11±0,00
Multimistura 2	0,11±0,00	0,13±0,02	0,12±0,00	0,11±0,01	0,13±0,00	0,11±0,01
Multimistura 3	0,17±0,00	0,15±0,00	0,18±0,00	0,14±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01
Multimistura 4	0,12±0,00	0,15±0,00	0,12±0,00	0,14±0,00	0,14±0,01	0,14±0,00
Multimistura 5	0,11±0,00	0,12±0,01	0,15±0,01	0,13±0,01	0,14±0,00	0,14±0,00

* Multimistura industrial. Os valores correspondem à média de duas repetições ± DP.

Na TAB. 6 apresentam-se os teores de ácido fítico, considerando-se a soma de fitato total (g/100 g na amostra seca) encontrados nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.

De acordo com os resultados obtidos os teores médios de ácido fítico nas amostras secas de multimistura variaram de 1,37 g/100 g a 2,89 g/100 g. Porém, levando em consideração a umidade das amostras, os teores médios variaram entre 1,27 g/100 g a 2,69 g/100 g. Pôde-se perceber que os maiores teores de fitato total foram encontrados na amostra de multimistura 4.

TABELA 6 - Média dos teores de fitato total encontrados nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.

Dose (kGy)	Fitato Total (g/100 g matéria seca)					
	Não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	1,41±0,01 ^a	1,77±0,04 ^a	1,64±0,13 ^a	1,67±0,09 ^a	1,63±0,09 ^a	1,68±0,16 ^a
Multimistura 2	1,55±0,05 ^a	1,79±0,05 ^a	1,87±0,00 ^a	1,60±0,23 ^a	1,71±0,10 ^a	1,62±0,32 ^a
Multimistura 3	1,69±0,07 ^{ab}	1,51±0,04 ^b	1,78±0,01 ^a	1,62±0,06 ^{ab}	1,76±0,09 ^a	1,76±0,05 ^a
Multimistura 4	2,76±0,00 ^a	2,77±0,33 ^a	2,42±0,37 ^a	2,80±0,06 ^a	2,85±0,02 ^a	2,89±0,01 ^a
Multimistura 5	1,37±0,24 ^a	1,92±0,65 ^a	1,94±0,25 ^a	2,13±0,11 ^a	2,28±0,10 ^a	2,32±0,12 ^a

* Multimistura industrial. Os valores correspondem à média de duas repetições ± DP; letras minúsculas iguais em uma mesma linha significam que não houve diferença estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

Pela análise estatística, observou-se que a irradiação não modificou os níveis de ácido fítico nas multimisturas. Isto pôde ser confirmado quando se comparou o perfil cromatográfico da amostra extraída não-irradiada com a amostra irradiada (FIG. 12).

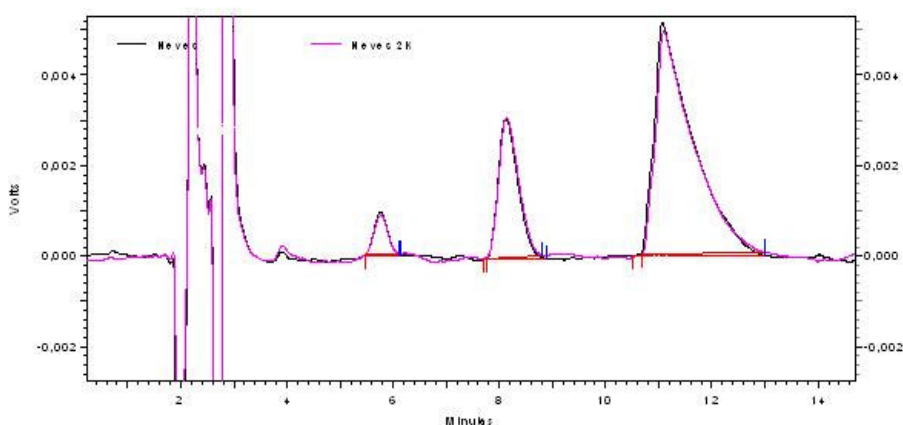


FIGURA 12 - Perfil cromatográfico de amostra de multimistura não-irradiada extraída e irradiada.

Poucos são os estudos realizados para determinar o teor de ácido fítico na multimistura e em seus componentes isoladamente. ALMEIDA et al. (1992) quantificaram o teor deste no farelo de arroz utilizado como ingrediente da multimistura e encontraram entre 5 e 6 g/100 g.

Resultados semelhantes foram obtidos por DOMENE (1996) entre 6,39 e 6,74 g/100 g e CÚNEO et al. (2000) 6,8 g/100 g. SANT'ANA et al. (2000) determinaram o teor de ácido fítico no farelo de trigo encontrando 4,04 g/100 g. Concluíram, ainda, que a quantidade de ácido fítico encontrada poderia ser considerada elevada, podendo interferir na biodisponibilidade dos minerais.

Foram encontrados somente dois estudos na literatura que avaliaram o conteúdo de ácido fítico na multimistura pronta. CÂMARA & MADRUGA (2001) quantificaram os teores de ácido fítico na multimistura e no farelo de trigo consumidos em Natal/RN, encontraram valores de 1,04 g/100 g e 1,28 g/100 g respectivamente, e os consideraram muito baixos. NAPPI (2004) determinou o teor de ácido fítico nas amostras de multimisturas distribuídas em Belo Horizonte/MG e encontrou valores que variaram entre 1,61 e 2,25 g/100 g. Estas concentrações foram consideradas altas ao serem comparadas com o limite máximo permitido (0,1 g/100 g) pelo Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelos de Cereais (BRASIL, 2000), em vigor na época da pesquisa. De acordo com a ingestão diária de multimistura (5 g) recomendada por BRANDÃO & BRANDÃO (1996), os teores médios de ácido fítico variaram entre 0,07 e 0,14 gramas. Já em relação à média das quantidades estabelecidas pelos rótulos (22,5g), o conteúdo de ácido fítico correspondente variou de 0,31 a 0,65 gramas. Conseqüentemente, existe um elevado teor de ácido fítico nas amostras analisadas, encontrando-se acima dos limites estabelecidos pela Resolução nº 53 (Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelos de Cereais), cujo limite máximo permitido para o ácido fítico era de 0,1 g/100 g (BRASIL, 2000). Entretanto, apesar de alguns autores citarem esta Resolução como referência, ela foi revogada pela Resolução nº 263 de 22 de setembro de 2005, Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos, no qual não mais se estabelece limites para o ácido fítico, alegando que o mesmo é um constituinte normal de cereais, raízes, tubérculos e leguminosas. Portanto, atualmente todas as amostras estão de acordo com a nova legislação (BRASIL, 2005).

Altas concentrações de ácido fítico usualmente encontradas nos farelos acarretam um efeito negativo na absorção de minerais, considerando que pode agir como agente quelante a íons como zinco, cálcio, magnésio e ferro, reduzindo a absorção dos mesmos durante o processo de digestão (CHERYAN, 1980; FORBES, 1984; HALLBERG et al., 1987; SGARBIERI, 1987; SAHA et al., 1994; ZHOU & ERDMAN, 1995; SILVA & SILVA, 1999

PAYÁ et al., 2002). Desse modo, levando em consideração o efeito inibidor do ácido fítico, seria importante a existência de algum regulamento com limites para este fator antinutricional, principalmente em produtos como a multimistura que são destinados, em sua maioria, às crianças desnutridas cuja ingesta alimentar é baixa e, normalmente, já apresentam deficiência marginal de minerais e proteínas. Neste caso, por menor que seja a quantidade de ácido fítico ingerida, irá prejudicar a absorção dos minerais e proteínas.

De acordo com resultados do tratamento das multimisturas em estudo por irradiação gama, a mesma não exerceu efeito sobre os teores de ácido fítico. Resultado diferente foi obtido por BRIGIDE (2002) que ao estudar a disponibilidade de ferro no feijão comum observou que a irradiação na dose de 6 kGy reduziu os níveis de ácido fítico no feijão cozido. Outros autores observaram sua redução com aumento da dose de radiação até 8 kGy para os feijões crus (MECHI et al., 2005). Entretanto, VILLAVINCENCIO et al. (2000) observaram que a irradiação não afetou a concentração do ácido fítico e seus derivados em ambas variedades de feijões crus e cozidos. Portanto, é importante mencionar que são alimentos diferentes, podendo obter resultados diferentes.

4.1.2 Determinação do ácido oxálico

Na análise dos perfis cromatográficos do branco do reagente (FIG. 13) com o padrão do ácido oxálico (FIG. 14) e com a amostra não-irradiada (FIG. 15) constatou-se a ausência de picos interferentes na região do pico do ácido oxálico. Os picos são simétricos, com concordância dos tempos de retenção e a linha de base foi regular, como já observado por NAPPI (2004), demonstrando que as condições de análise foram satisfatórias. Os perfis cromatográficos das FIG. 14 e 15 apresentam o padrão do ácido oxálico (pico maior) e a amostra não-irradiada (pico menor), respectivamente.

Na FIG.16 pôde-se visualizar que a irradiação não alterou os teores de ácido oxálico, já que entre a amostra não-irradiada e a irradiada não houve diferença significativa para $p < 0,05$ entre as áreas dos picos. Os valores dos coeficientes de regressão linear (R^2) da curva de calibração do ácido fítico foi de 0,999 evidenciando a sua linearidade (FIG. 24 APÊNDICE A).

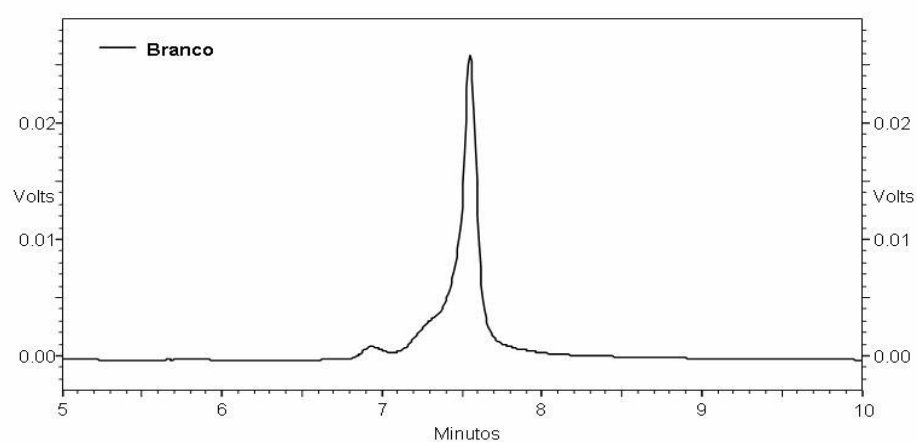


FIGURA 13 - Perfil cromatográfico do branco do reagente.

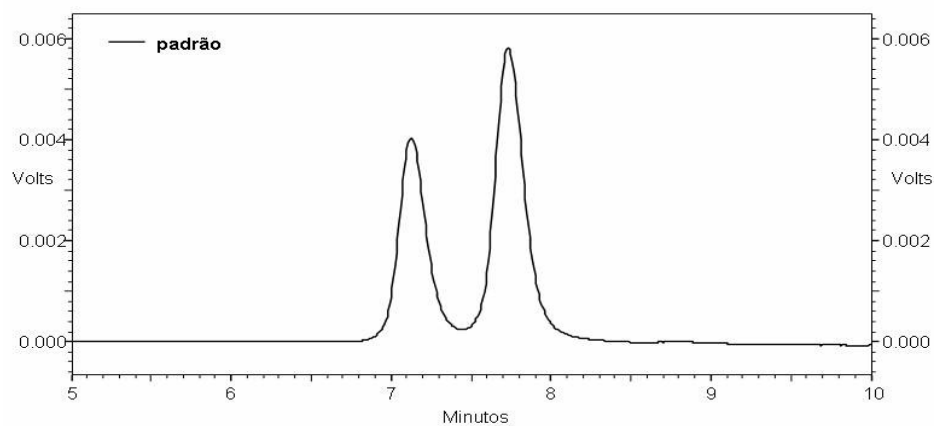


FIGURA 14 - Perfil cromatográfico do padrão do ácido oxálico.

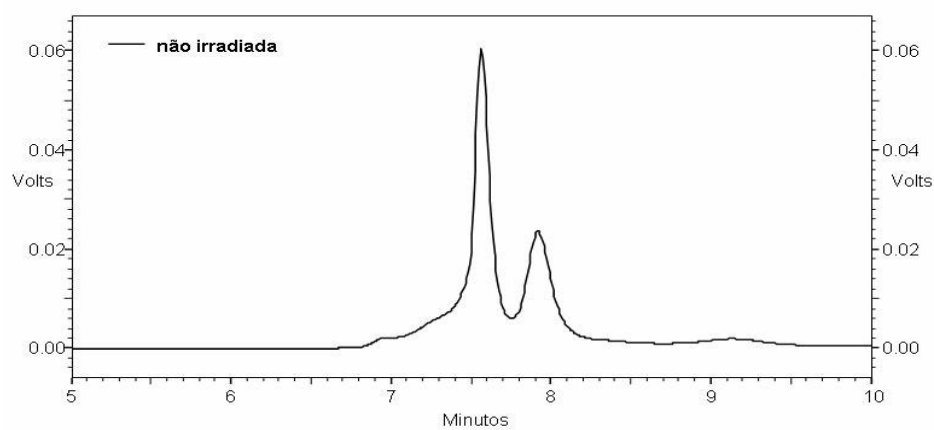


FIGURA 15 - Perfil cromatográfico da amostra não-irradiada.

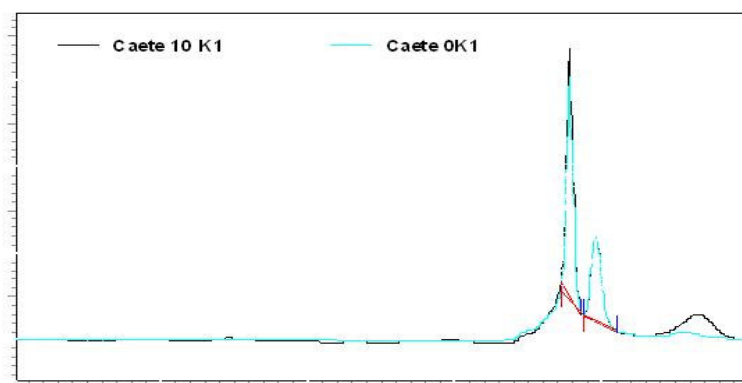


FIGURA 16 - Comparação dos perfis cromatográficos das amostras não- irradiada e irradiada.

A presença do ácido oxálico (FIG. 17) foi confirmada pela comparação entre os cromatogramas de uma amostra de multimistura adicionada e extraída e da mesma não adicionada e extraída, pois ocorreu aumento da área do pico do ácido oxálico (pico menor).

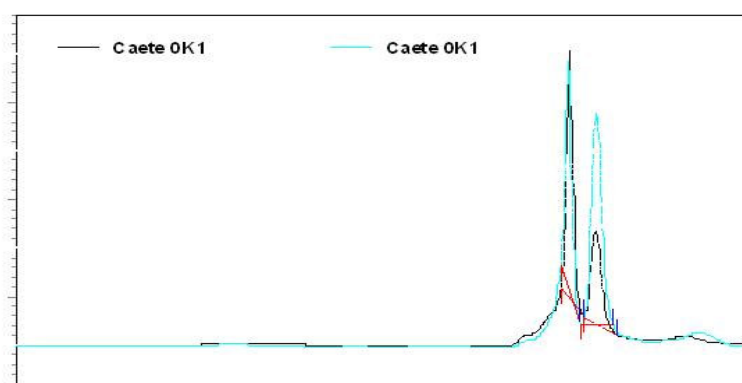


FIGURA 17 - Comparação dos perfis cromatográficos da amostra de multimistura não- irradiada adicionada e não adicionada.

Na TAB. 7 estão registrados os teores de ácido oxálico (g/100 g na amostra seca) encontrados nas amostras de multimistura não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.

Pela análise estatística, não houve diferença significativa a 5% de probabilidade entre os teores de ácido oxálico nas amostras não-irradiadas e irradiadas, o que pode ser confirmado pela FIG. 16.

TABELA 7 - Média dos teores de ácido oxálico encontrados nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.

Dose (kGy)	Ácido oxálico (g/100 g matéria seca)					
	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	0,05±0,00 ^b	0,05±0,00 ^b	0,05±0,01 ^a	0,05±0,00 ^{ab}	0,05±0,00 ^{ab}	0,05±0,00 ^a
Multimistura 2	0,04±0,00 ^a	0,04±0,00 ^a	0,04±0,00 ^a	0,04±1,74 ^a	0,04±0,00 ^a	0,04±0,00 ^a
Multimistura 3	0,05±0,00 ^a	0,05±0,00 ^a	0,05±0,00 ^a	0,05±0,00 ^a	0,05±0,00 ^a	0,05±0,00 ^a
Multimistura 4	0,07±0,00 ^a	0,07±0,00 ^a	0,07±0,01 ^a	0,07±0,00 ^a	0,07±0,00 ^a	0,07±0,01 ^a
Multimistura 5	0,06±0,00 ^a	0,06±0,00 ^a	0,07±0,00 ^a	0,06±0,00 ^a	0,07±0,00 ^a	0,07±0,00 ^a

* Multimistura industrial. Os teores correspondem à média de duas repetições \pm DP; letras minúsculas iguais em uma mesma linha significam que não houve diferença estatística pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

De acordo com a TAB. 7 os teores de ácido oxálico variaram entre 0,04 e 0,07 g/100 g da amostra seca. Porém, levando em consideração a umidade das amostras, os teores variaram entre 0,03 e 0,06 g/100g. Comparando os resultados obtidos neste estudo com os de NAPPI (2004) 0,04 a 0,06 g/100 g, pôde-se perceber que os valores encontrados são semelhantes. Segundo NAPPI (2004), nas quantidades diárias recomendadas para estes alimentos (5 g para crianças e 20 g para adultos) não resultam em risco de intoxicação por este fator antinutricional para os consumidores. Considerando a quantidade de ingestão diária preconizada por BRANDÃO & BRANDÃO (1996), de 5 g, os teores de ácido oxálico variaram entre 0,002 e 0,003 g. Porém, ao levar em consideração a média das quantidades de multimisturas estabelecidas nos rótulos das embalagens (22,5 g/dia), a ingestão de ácido oxálico passaria a variar entre 0,009 e 0,016 g. A ingesta entre 2 e 30 gramas de ácido oxálico pode ser letal a um indivíduo, dependendo da sua idade, peso e doenças renais ou cardíaca pré-existent (HODGKINSON, 1977). Assim, considerando-se os teores de ácido oxálico encontrados nas amostras de multimisturas, não são um risco de intoxicação.

Porém, é necessário um controle na ingesta de alimentos contendo ácido oxálico, pois, do ponto de vista nutricional, pode complexar-se com o cálcio, tornando-o indisponível. Como as crianças desnutridas, geralmente, apresentam deficiência marginal de minerais, a ingesta de alimentos contendo ácido oxálico irá prejudicar ainda mais a absorção do cálcio, o que pode contribuir para agravar o quadro da desnutrição.

4.2 DETERMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

Na TAB. 8 encontra-se registrada a contagem de bolores e leveduras (UFC/g) antes e após o tratamento com diferentes doses de radiação nas amostras controle e irradiadas, respectivamente. Pôde-se observar que a contaminação inicial de bolores e leveduras variou de $< 10^2$ a $1,2 \times 10^3$ UFC/g. Estes resultados estão dentro da faixa relatada por ANDRADE & CARDONHA (1998), que encontraram valores variando entre $0,7 \times 10^1$ a $7,4 \times 10^3$ UFC/g para este alimento. Entretanto, GOMES (1999) detectou elevada contagem fúngica em amostras de multimistura, variando entre $2,5 \times 10^6$ e $5,0 \times 10^6$ UFC/g.

TABELA 8 - Contagem de bolores e leveduras em amostras de multimisturas não irradiadas e irradiadas.

Dose (kGy)	Bolores e leveduras (UFC/g)					
	Não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	$5,0 \times 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
Multimistura 2	$7,0 \times 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
Multimistura 3	$3,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
Multimistura 4	$1,2 \times 10^3$	$4,0 \times 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$
Multimistura 5	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$

* Multimistura industrial.

Como não existe legislação para os bolores e leveduras na RDC nº 12 de 2001 (BRASIL, 2001a) – atualmente utilizada para estabelecer limites de tolerância para microrganismos em alimentos – os resultados apresentados foram comparados com àqueles estabelecidos pela Portaria 451 de 1997 (BRASIL, 1997) que é de $1,0 \times 10^4$ UFC/g. Portanto, todas as amostras encontram-se abaixo do limite estabelecido. Porém, a presença destes microrganismos sugere negligência nas boas práticas de fabricação, pelo uso de matéria-prima de má qualidade e/ou precariedade higiênica nos locais de produção. A constatação de fungos em alimentos, além de ser indicativo de falhas higiênicas, representa um potencial risco à saúde humana, por causarem infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos e reações alérgicas em indivíduos saudáveis. Deve-se ainda levar em consideração que este complemento alimentar é destinado, muitas vezes, a crianças desnutridas e com sistema imunológico deprimido e a presença de fungos toxigênicos pode

ocasionar a produção de micotoxinas. Com base nos resultados da aplicação da irradiação verificou-se que a contaminação fúngica pode ser eficazmente reduzida, mesmo quando as amostras têm baixa contaminação inicial. Este resultado é semelhante ao relatado por MARTIN-NETO et al. (1996) e VIEIRA et al. (2007) que avaliaram o efeito da irradiação gama na destruição de microrganismos em amostras de pimenta do reino e verificaram que a irradiação foi eficaz no processo de descontaminação dos alimentos.

Foi realizada a identificação dos fungos filamentosos e, os mais encontrados nas amostras estão apresentados na FIG. 18. De acordo com a FIG. 18 na 1ª coluna; *Cladosporium cladosporioides*, *Rhodotorula glutinis*, *Aureobasidium pullulans*, *Fusarium verticillioides*, e na 2ª coluna; *Scopulariopsis candida*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium chrysogenum*. Alguns destes fungos, como por exemplo, *Penicillium* sp, são descritos na literatura como potencialmente produtores de micotoxinas (CAST, 2003). Dentre as leveduras foram isoladas, principalmente: *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorula mucilaginosa* e *Rhodotorula glutinis*.

Na TAB. 9 encontram-se as contagens de coliformes a 45°C, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella* nas amostras de multimistura não-irradiadas (controle).

TABELA 9 - Perfil microbiológico das amostras de multimisturas não-irradiadas.

	Coliformes a 45 °C (UFC/g)	<i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/g)	<i>Salmonella</i> /25 g (ausência/presença)
Multimistura 1*	<1	5 x 10 ²	< 10 ²	Ausente
Multimistura 2	1,1 x 10 ³	< 10 ²	< 10 ²	Ausente
Multimistura 3	<1	< 10 ²	< 10 ²	Ausente
Multimistura 4	<10 ²	< 10 ²	< 10 ²	Ausente
Multimistura 5	< 1	< 10 ²	< 10 ²	Ausente
Limite máximo **	5 x 10²	5 x 10³	10³	Ausente

* Multimistura industrial. **Legislação RDC nº12 de 2001 (BRASIL, 2001a).

Para avaliação dos resultados da TAB. 9 foi utilizada a RDC nº 12 de 2001 item 10 inciso n (BRASIL, 2001a) e os limites de tolerância.

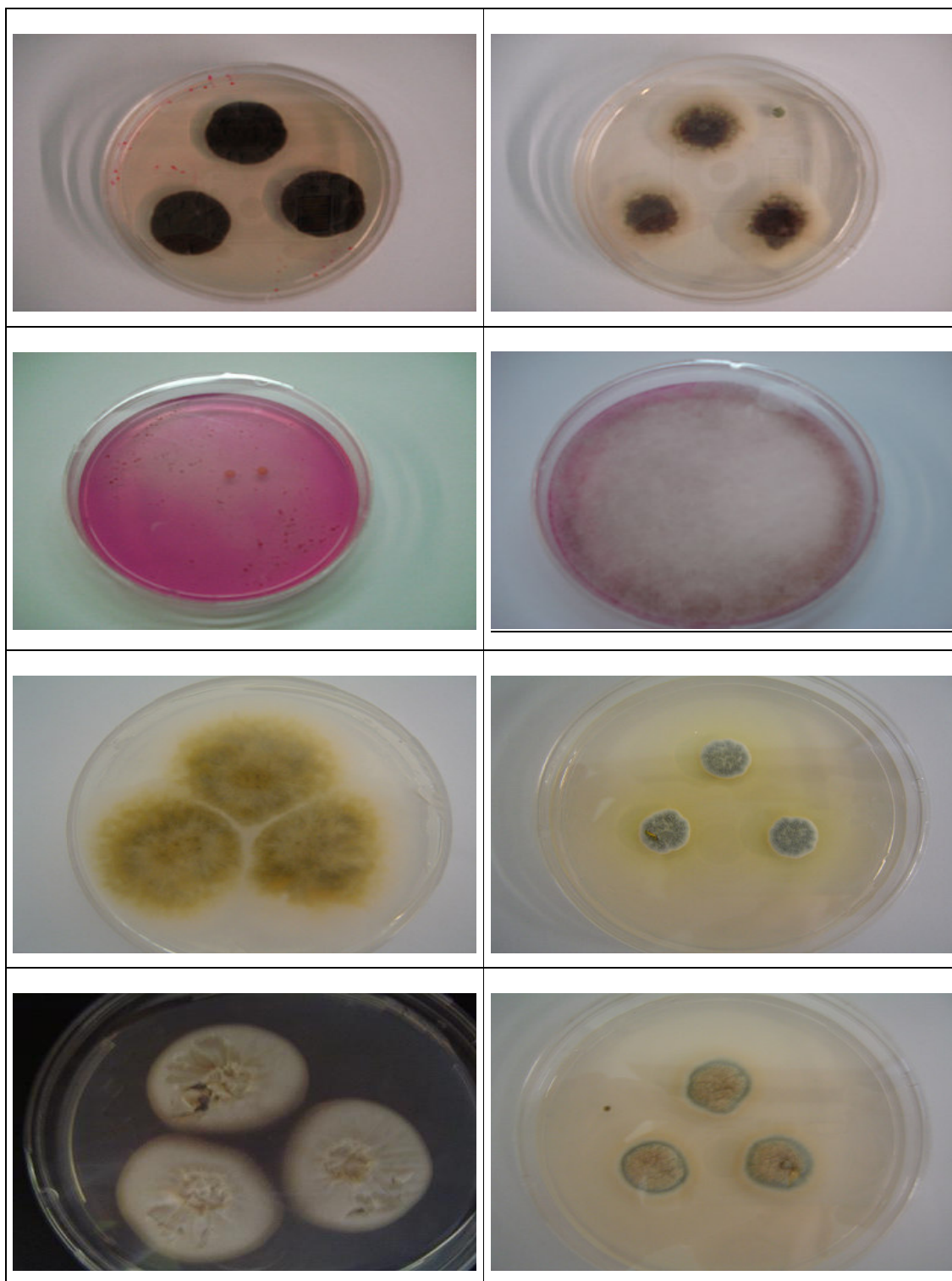


FIGURA 18 - Identificação dos fungos.

Pela TAB. 9 pôde-se perceber que apenas a multimistura 2 se encontrava em desacordo em relação aos coliformes fecais, sendo superior ao estabelecido, enquanto as

outras amostras de multimisturas estavam dentro dos limites estabelecidos tornando esta população mais propícia a apresentar problemas gastrointestinais. O valor obtido para coliformes nesta multimistura pode estar relacionado com elevada contaminação da matéria-prima ou situação higiênico-sanitária insatisfatória no processamento.

Após a irradiação das amostras de multimistura nas diferentes doses: 2, 4, 6, 8 e 10 kGy, observou-se que a multimistura 1, contaminada *Bacillus cereus* e multimistura 2, por coliformes a 45 °C, ao serem irradiadas com a dose de 2 kGy sofreram reduções significativa de 5×10^2 para $< 10^2$ e de $1,1 \times 10^3$ para $< 1\text{UFC/g}$, respectivamente. Este resultado confirma que o tratamento por irradiação gama foi eficaz na melhoria da qualidade higiênica da multimistura.

4.3 QUALIDADE NUTRICIONAL

Os resultados dos parâmetros relacionados à qualidade nutricional das amostras de multimisturas estão apresentados nas TAB. 10 a 19. Na TAB. 10 são apresentados os teores de umidade das amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.

TABELA 10 - Teores de umidade nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.

Dose (kGy)	Umidade (g/100 g)					
	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	7,22±0,04 ^a	5,74±0,10 ^d	5,84±0,02 ^d	6,14±0,08 ^c	6,15±0,08 ^c	6,62±0,00 ^b
Multimistura 2	7,27±0,02 ^a	5,43±0,02 ^d	5,79±0,09 ^c	6,27±0,06 ^b	6,37±0,12 ^b	6,53±0,08 ^b
Multimistura 3	6,75±0,01 ^a	5,25±0,08 ^e	5,39±0,07 ^e	5,92±0,02 ^c	5,73±0,01 ^d	6,56±0,02 ^b
Multimistura 4	7,43±0,08 ^a	6,08±0,15 ^c	6,06±0,03 ^c	6,56±0,03 ^b	6,23±0,01 ^c	6,82±0,08 ^b
Multimistura 5	7,20±0,01 ^a	6,13±0,03 ^{de}	6,02±0,01 ^c	6,36±0,04 ^c	6,23±0,07 ^{cd}	6,68±0,04 ^b

* Multimistura industrial. Os valores correspondem à média de duas repetições ± DP; letras minúsculas iguais em uma mesma linha significam que não houve diferença estatística pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

De acordo com a Resolução nº 53 de 15 de junho de 2000 (Regulamento Técnico para a Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais), 74% das amostras analisadas apresentaram teor de umidade superior ao máximo estabelecido de 6,0 g/100 g (BRASIL, 2000). Considerando que a umidade é um fator de sobrevivência para os

microrganismos, este resultado significa que estas amostras apresentam grande probabilidade de multiplicação microbiana, ou seja, quanto mais úmido estiver o alimento maior o crescimento microbiano. Entretanto, apesar de inúmeros trabalhos citarem esta Resolução como referência, é importante registrar que ela foi revogada pela Resolução nº 263 de 2005 (Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos), na qual o único parâmetro estipulado é o limite de 15% para umidade, portanto, todas as amostras estão de acordo com a nova legislação (BRASIL, 2005).

Na TAB. 11 apresentam-se os teores médios de cinzas encontrados nas amostras de multimisturas.

TABELA 11 - Teores médios de cinzas nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.

Dose (kGy)	Cinzas (g/100 g)					
	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	4,10±0,03 ^b	4,13±0,05 ^{ab}	4,15±0,00 ^{ab}	4,06±0,08 ^b	4,20±0,01 ^{ab}	4,32±0,08 ^a
Multimistura 2	2,11±0,02 ^a	2,02±0,04 ^a	1,38±0,16 ^b	2,08±0,00 ^a	2,17±0,05 ^a	2,22±0,04 ^a
Multimistura 3	2,12±0,00 ^a	2,10±0,01 ^a	2,14±0,22 ^a	2,00±0,07 ^a	2,21±0,06 ^a	2,46±0,34 ^a
Multimistura 4	3,25±0,01 ^{ac}	3,22±0,06 ^{ac}	2,93±0,14 ^c	3,13±0,07 ^{bc}	3,39±0,17 ^{ab}	3,58±0,05 ^a
Multimistura 5	3,63±0,00 ^{ab}	3,59±0,00 ^b	3,61±0,15 ^b	3,54±0,10 ^b	3,74±0,01 ^{ab}	3,92±0,03 ^a

* Multimistura industrial. Os valores correspondem à média de duas repetições \pm DP; letras minúsculas iguais em uma mesma linha significam que não houve diferença estatística pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

Os resultados encontrados para os teores de cinzas variaram de 1,38% a 4,32%, constatando-se que todas as amostras analisadas estão abaixo do valor mínimo (5,5%) preconizado no Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Misturas à base de Farelos de Cereais (BRASIL, 2000). Como as cinzas são indicativas de fonte de minerais, ou seja, quanto maior o teor de cinzas maior o conteúdo de minerais, as amostras analisadas provavelmente devem apresentar baixo teor de minerais em sua composição. Entretanto, como este Regulamento foi revogado e a nova Resolução (Resolução nº 263 de 2005) não estabelece limites para cinzas, as amostras estão em conformidade com esta Resolução (BRASIL, 2005). Quanto ao efeito da irradiação gama nos teores de cinzas, pôde-

se perceber que não houve alteração significativa entre as amostras não-irradiadas e as irradiadas até 10 kGy.

Na TAB. 12 registrou-se os teores de proteínas nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.

TABELA 12 - Teores de proteínas nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.

Dose (kGy)	Proteínas (g/100 g)					
	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	10,69±0,14 ^a	10,51±0,24 ^a	10,84±0,06 ^a	10,40±0,38 ^a	10,58±0,29 ^a	11,11±0,11 ^a
Multimistura 2	11,27±0,10 ^a	11,55±0,14 ^a	11,65±0,03 ^a	11,94±0,23 ^a	11,68±0,15 ^a	11,80±0,33 ^a
Multimistura 3	12,03±0,21 ^a	11,89±0,63 ^a	12,17±0,00 ^a	11,99±0,00 ^a	11,99±0,04 ^a	11,94±0,25 ^a
Multimistura 4	14,32±0,18 ^{ab}	14,59±0,08 ^{ab}	14,48±0,13 ^{ab}	14,06±0,19 ^b	14,61±0,11 ^{ab}	14,80±0,00 ^a
Multimistura 5	14,10±0,41 ^a	13,87±0,54 ^a	14,20±0,31 ^a	14,06±0,38 ^a	14,21±0,00 ^a	14,18±0,37 ^a

* Multimistura industrial. Os valores correspondem à média de duas repetições \pm DP; letras minúsculas iguais em uma mesma linha significam que não houve diferença estatística pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

De acordo com o Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteínas, vitaminas e minerais (BRASIL, 2005), recomenda-se 13 g e 19 g de proteínas para crianças de 1 a 3 anos e 4 a 6 anos, respectivamente. Levando em consideração a ingestão diária de multimistura recomendada por BRANDÃO & BRANDÃO (1996), 5 g/dia de multimistura irão fornecer entre 0,52 g e 0,74 g diárias de proteínas. Comparando com a média maior das recomendações de ingestão registradas nos rótulos (22,5 g/dia), o aporte protéico entre 2,33 g e 3,32 g diárias de proteínas deste alimento é muito baixo e não supre as necessidades de crianças de 1 a 6 anos, recomendadas pela IDR (BRASIL, 2005). Mas, como a multimistura é um complemento e não a única alimentação dessas crianças, as necessidades devem ser supridas com outros alimentos da dieta. Entretanto, como as crianças que consomem a multimistura geralmente são desnutridas, ou seja, têm deficiência energética e protéica, elas necessitam de outras fontes em dietas balanceadas.

É importante mencionar que, por ser um complemento, o gasto mensal com a multimistura se torna muito elevado. Por exemplo, se numa multimistura se recomenda 3 colheres de sopa/dia (35 g), no me gastam-se 4 pacotes, considerando que o preço do pacote

de 250 g varia entre R\$3,50 e R\$4,50 e no mês gasta-se em média 4 pacotes tem-se um gasto mensal de R\$18,00/criança.

Em relação ao efeito da irradiação sobre o teor de proteínas, não houve alteração significativa entre as amostras não-irradiadas e as amostras irradiadas em diferentes doses.

Na TAB. 13 estão registrados os teores de lipídeos nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses, que variaram entre 2,73 e 4,94 g/100 g.

TABELA 13 - Teores de lipídeos nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.

Dose (kGy)	Lipídeos (g/100 g)					
	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	4,83±0,07 ^a	4,84±0,21 ^a	4,77±0,13 ^a	4,80±0,27 ^a	4,75±0,01 ^a	4,94±0,02 ^a
Multimistura 2	2,81±0,01 ^a	3,30±0,11 ^a	2,73±0,05 ^a	2,74±0,02 ^a	2,89±0,46 ^a	3,03±0,05 ^a
Multimistura 3	3,15±0,05 ^a	3,33±0,00 ^a	3,47±0,49 ^a	3,07±0,15 ^a	3,49±0,10 ^a	3,19±0,03 ^a
Multimistura 4	3,89±0,30 ^a	4,14±0,45 ^a	3,78±0,10 ^a	3,85±0,13 ^a	4,24±0,05 ^a	3,98±0,21 ^a
Multimistura 5	3,37±0,13 ^a	3,40±0,27 ^a	2,97±0,12 ^a	3,34±0,06 ^a	3,60±0,27 ^a	3,52±0,24 ^a

* Multimistura industrial. Os valores correspondem à média de duas repetições ± DP; letras minúsculas iguais em uma mesma linha significam que não houve diferença estatística pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

Considerando a ingestão de 5 g diárias de multimistura recomendadas por BRANDÃO & BRANDÃO (1996), os teores de lipídeos variaram de 0,14 a 0,25 g, e na média das porções recomendadas nos rótulos das embalagens (22,5 g) variaram entre 0,61 g e 1,11 g, o que se torna um valor não significativo como aporte lipídico. Pôde-se observar que a irradiação gama também não alterou os teores de lipídeos nas amostras, como seria esperado.

Na TAB. 14 encontram-se os teores de carboidratos presentes nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses, que variaram entre 70,81 g e 78,45 g/100 g.

Nas porções de 5 g, o aporte seria entre 3,54 g e 3,92 g, enquanto na de 22,5 g, entre 15,90 g e 17,62 g/100 g, o que se torna um valor não significativo como aporte energético. Esses teores de carboidratos são, provavelmente, provenientes dos farelos de trigo e fubá que juntos são responsáveis pela maior porcentagem de carboidratos nas amostras de multimisturas.

TABELA 14 - Teores de carboidratos nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.

Dose (kGy)	Carboidratos (g/100 g)					
	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	73,15	74,77	74,41	74,60	74,32	73,00
Multimistura 2	76,53	77,70	78,45	76,96	76,89	76,42
Multimistura 3	75,95	77,42	76,83	77,01	76,57	75,86
Multimistura 4	71,11	71,97	72,75	72,40	71,53	70,81
Multimistura 5	71,69	73,01	73,20	72,70	72,22	71,70

* Multimistura industrial. Os teores de carboidratos foram obtidos por diferença entre 100 e a soma dos teores de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas.

Levando em consideração os macronutrientes (carboidratos, lipídeos e proteínas), foi possível perceber que a irradiação não alterou os níveis dos mesmos, o que já seria esperado de acordo com dados da literatura (DIEHL & JOSEPHSON, 1994; KILCAST, 1994; CRAWFORD & RUFF, 1996; NARVAIZ & LADOMERY, 1998). Portanto, já foram realizados estudos para comprovar o efeito da irradiação nos macronutrientes, mas não na multimistura.

Na TAB. 15 encontram-se o valor calórico total (VCT) das amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas em diferentes doses.

TABELA 15 - Valor calórico total nas amostras de multimisturas não-irradiadas e irradiadas.

Dose (kGy)	Valor calórico total (kcal/100 g)					
	não-irrad	2	4	6	8	10
Multimistura 1*	379	385	384	383	382	381
Multimistura 2	376	387	385	380	380	380
Multimistura 3	380	387	387	384	386	380
Multimistura 4	377	383	383	380	383	378
Multimistura 5	373	378	376	377	378	375

* Multimistura industrial.

O cálculo do valor calórico total está superestimado, pois a fibra alimentar não foi analisada separadamente, estando incluída no teor de carboidratos (obtidos por diferença), fazendo com que este valor seja superior ao real, visto que as fibras não apresentam valor calórico, ou seja, não são metabolizadas com geração de calorias (CABALLERO, 1988).

O valor calórico total variou entre 374 a 387 kcal/100 g de amostra. Porém, levando-se em conta o consumo diário preconizado de 5 g para crianças, tem-se um aporte de cerca de 19 kcal e, na porção de 22,5 g, variou entre 84 e 87 kcal. Estes valores, mesmo sendo complementados com a alimentação normal, são muito baixos levando em consideração as necessidades diárias de uma criança, e, além disso, deve-se levar em conta que a maioria destas crianças já tem uma ingesta baixa e estão desnutridas.

Na TAB. 16 comparam-se os teores de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos das amostras de multimisturas não-irradiadas.

TABELA 16 - Comparação da composição centesimal entre as amostras de multimistura não-irradiadas.

	Umidade	Cinzas	Proteínas	Lipídeos	Carboidratos
Multimistura 1*	7,22±0,04 ^b	4,10±0,03 ^a	10,69±0,14 ^c	4,83±0,07 ^a	73,15
Multimistura 2	7,27±0,02 ^{a,b}	2,11±0,02 ^d	11,27±0,10 ^{b,c}	2,81±0,01 ^c	76,53
Multimistura 3	6,75±0,01 ^c	2,12±0,00 ^d	12,03±0,21 ^b	3,15±0,05 ^c	75,95
Multimistura 4	7,43±0,08 ^a	3,25±0,01 ^c	14,32±0,18 ^a	3,89±0,30 ^b	71,11
Multimistura 5	7,20±0,01 ^b	3,63±0,00 ^b	14,10±0,41 ^a	3,37±0,13 ^{b,c}	71,69

* Multimistura industrial. Os valores correspondem à média de duas repetições ± DP; letras minúsculas iguais em uma mesma coluna significam que não houve diferença estatística pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

Os teores de cinzas variaram entre as amostras de multimisturas, sendo que a multimistura 1 seguida da multimistura 5 foram as que apresentaram maior valor. Isto é devido a adição do pó da casca de ovo rico em cálcio, já que as cinzas são indicativas da presença de minerais. Quanto aos maiores teores de proteínas encontrados nas amostras de multimisturas 2, 3, 4 e 5 se deve à maior concentração de farelo de trigo presente nas mesmas. A multimistura 1 apresenta baixo conteúdo de farelo de trigo, daí o baixo teor de proteína. Quanto ao teor de lipídeo, a multimistura 1 apresentou maior quantidade, isto porque apresenta maior concentração de fubá em sua composição. Para os carboidratos, não houve

grandes alterações entre as amostras, já que estes são provenientes em grande parte do farelo de trigo e fubá (PHILIPPI, 2002), e as amostras são ricas nestes ingredientes.

4.3.1 Composição mineral

Na TAB. 17 estão registrados os teores médios dos minerais encontrados nas amostras de multimisturas não-irradiadas.

TABELA 17 - Composição mineral das amostras de multimisturas não-irradiadas.

Minerais (mg/100g*)					
Mineral	Multimist. 1	Multimist. 2	Multimist. 3	Multimist. 4	Multimist. 5
K	602,9 ± 22,1	556,1 ± 31,3	550,8 ± 19,4	871,3 ± 3,1	729,0 ± 13,1
Mg	176,9 ± 7,9	168,8 ± 6,7	169,5 ± 6,8	267,6 ± 11,0	202,4 ± 4,2
Mn	5,5 ± 0,2	5,8 ± 0,2	5,6 ± 0,2	9,8 ± 0,3	7,3 ± 0,3
Na	8,6 ± 0,3	5,8 ± 0,5	5,8 ± 0,2	9,1 ± 0,3	9,2 ± 0,3
Zn	5,6 ± 2,3	4,8 ± 0,2	4,8 ± 0,3	7,8 ± 0,5	6,8 ± 0,5
Fe	44,3 ± 91,9	41,6 ± 3,3	-	47,9 ± 4,2	-
Ca	650,7 ± 0,1	40,9 ± 0,2	14,4 ± 0,2	63,8 ± 0,2	355,0 ± 0,2

* Os valores correspondem à média de duas repetições ± DP.

Em relação aos resultados apresentados, os teores de minerais, exceto o cálcio (multimistura 2 e 3) e o ferro, estão dentro dos obtidos por outros autores (460,37 a 1404,08 mg de potássio, 130,67 a 449,97 mg de magnésio, 4,0 a 12,19 mg de manganês, 6,6 a 7,91 mg de sódio, 2,6 a 7,70 mg de zinco, 3,78 a 13,69 mg de ferro e 51 a 1419 mg de cálcio – ITA, 1995; CHIAPPINI et al., 1996; SANT'ANA et al., 1996; CARVALHO et al., 1998; MADRUGA & CÂMARA, 2000; MADRUGA et al., 2004; SANTOS et al., 2004; VIZEU et al., 2005, BARBOSA et al. 2006). O baixo teor de cálcio das multimisturas 2 e 3, comparado ao obtido pelos autores, provavelmente se deve ao fato de não terem pó de casca de ovo em sua composição, pois este ingrediente contribui para um maior aporte de cálcio. O teor de ferro encontrado neste estudo apresenta-se superior ao obtido pelos outros autores, o que pode ser devido ao maior conteúdo de farelo de trigo. Entretanto, não se deve comparar a composição mineral das amostras, visto que são de diferentes regiões, com proporções e ingredientes variados.

Ao analisar a TAB. 17, pôde-se perceber o alto teor de cálcio nas amostras 1 e 5, o que se deve ao pó de casca de ovo acrescentado nas mesmas. As demais amostras, multimisturas 2, 3 e 4 não apresentam pó da casca de ovo em sua composição. Porém, a presença dos fatores antinutricionais e de outros minerais, podem reduzir sua biodisponibilidade.

Nas TAB. 18 e 19 (APÊNDICE B) estão apresentados os níveis de minerais nas amostras de multimisturas não-irradiadas nas porções de 5 g e 22,5 g, respectivamente e a comparação com a ingestão diária recomendada, segundo as faixas etárias de 1 a 3 e 4 a 6 anos (BRASIL, 2005).

De acordo com os resultados encontrados nas porções preconizadas (5 g e 22,5 g), a concentração da maioria dos minerais está abaixo do recomendado pela IDR. Porém, é importante mencionar que a multimistura é apenas um complemento nutricional e não a única alimentação das crianças que a consomem. Por isso, a dieta proveniente de outras fontes deve ser balanceada a fim de suprir as necessidades diárias recomendadas, principalmente, devido ao fato que as crianças que consomem a multimistura geralmente são desnutridas, ou seja, tem deficiência energética e proteica. De acordo com o percentual da IDR, grande parte dos minerais, não atingiram o mínimo necessário de 25% do valor diário (ver percentual de IDR) recomendado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 1998), para serem considerados complemento nutricional.

O fato da multimistura não ter uma composição uniforme de seus ingredientes tem gerado dificuldades em relação ao estudo e sua eficiência como complemento nutricional, já que são utilizados os recursos disponíveis localmente. Por esse motivo, há várias preparações de multimistura e isto, certamente, contribui para obtenção de resultados conflitantes. Talvez, amostras provenientes de outras regiões contenham valores diferentes e maiores de minerais.

Levando-se em consideração o efeito inibidor dos fatores antinutricionais sobre os minerais, a quantidade absorvida provavelmente será muito inferior às necessidades das crianças destas faixas etárias. Vale ressaltar que uma criança em desenvolvimento tem necessidades aumentadas de minerais para seu crescimento, e, portanto, terá uma capacidade de absorção e utilização aumentada (COZZOLINO, 1997).

Segundo VELHO & VELHO (2002), a multimistura deve preencher vários requisitos: variedade de alimentos em cada refeição, todas as partes possíveis de alimentos devem ser

aproveitadas, deve-se dar preferência aos alimentos disponíveis na região, ser de baixo custo e deve ter um elevado conteúdo de micronutrientes. No entanto, observou-se que as amostras de multimisturas estudadas não estão de acordo com o requisito reativo aos micronutrientes (minerais), apontado como importante por aqueles autores.

4.4 RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA

Quando um alimento é tratado por radiação ionizante pode ocorrer a formação de radicais livres, deste modo a RPE poderia ser aplicada para detecção da radiação. A avaliação da intensidade do sinal da RPE permite verificar se a amostra foi ou não irradiada e que dose recebeu. Entretanto, em alguns casos, é necessário que a medida da RPE seja feita em uma amostra controle, não-irradiada, pois o sinal da RPE detectado não é produzido somente pela irradiação, já que outros processos de conservação de alimentos (congelamento, aquecimento, pasteurização) podem levar à formação de radicais livres (SCHREIBER et al., 1993; DESROSIERS, 1996). Na FIG. 19 apresentam-se os espectros de RPE da Multimistura 1.

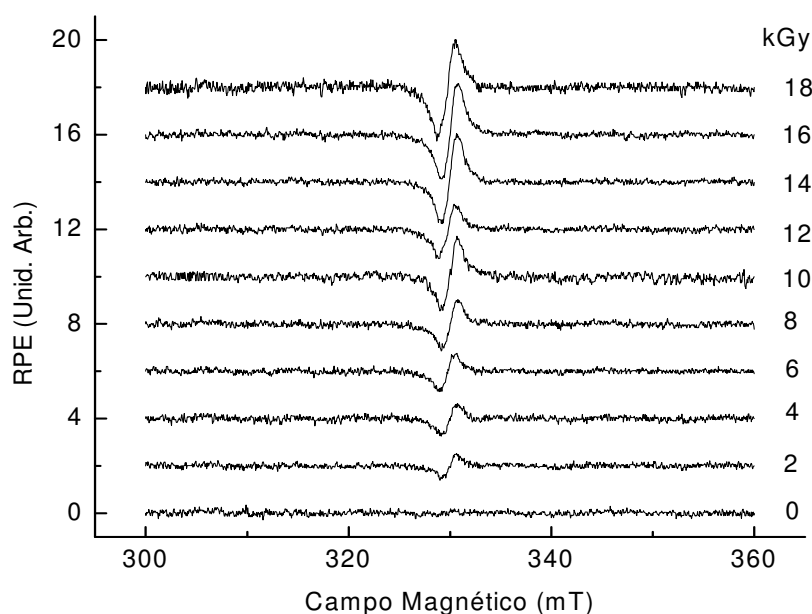


FIGURA 19 - Espectros da RPE da multimistura 1.

Pela análise de figura, pôde-se perceber que a amostra não-irradiada não apresentou a presença de radicais livres, e à medida que a dose de radiação aumentou, o sinal do RPE, obtido pela concentração de radicais livres, aumentou proporcionalmente, concordando com

os resultados obtidos por LEAL et al. (2004) que mostraram a possibilidade de detectar amostras irradiadas em especiarias (alecrim e coentro), mediante a RPE.

Pelas FIG. 20 e 21 pôde-se perceber que o sinal da RPE, obtido pela concentração de radicais livres, aumenta à medida que se incrementa a dose de radiação de maneira aproximadamente linear e abrange a saturação em torno de 20 kGy, ou seja, a partir desta dose a amostra pode continuar recebendo a radiação, porém, os radicais livres não irão aumentar.

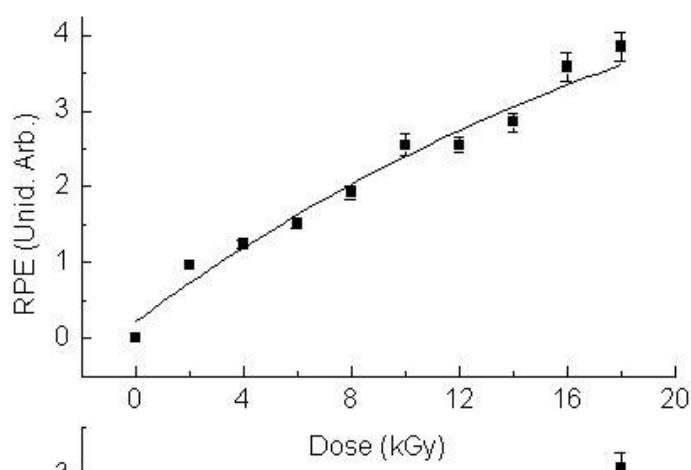


FIGURA 20 - Variação do sinal de RPE com a dose na multimistura 1.

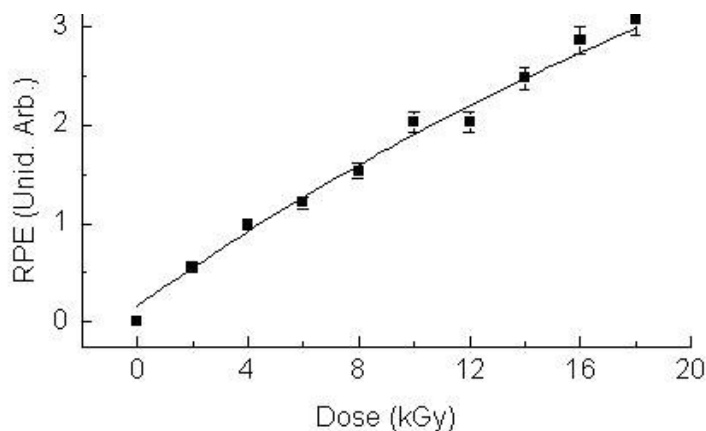


FIGURA 21 - Variação do sinal de RPE com a dose na multimistura 4.

Na FIG. 22 pôde-se acompanhar o decaimento do sinal da RPE da multimistura 1 – ou seja, a redução dos radicais livres – em função do tempo.

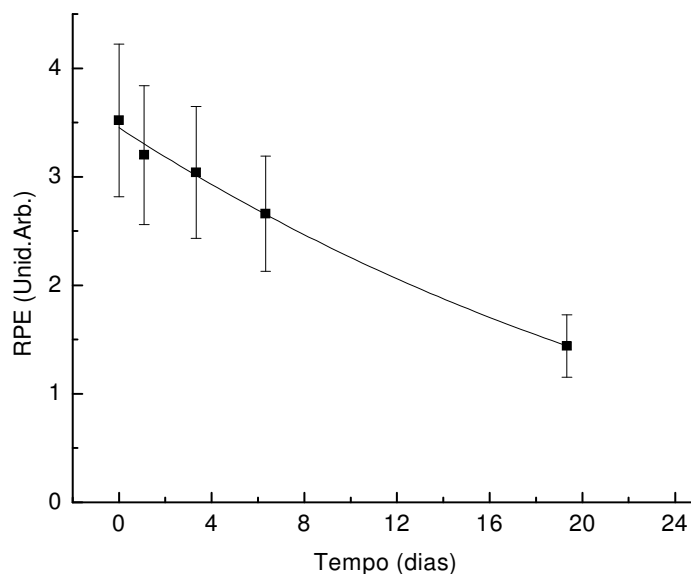


FIGURA 22 - Decaimento do sinal da RPE com o tempo.

Pela análise dos resultados, a irradiação acarretou a formação de radicais livres, e estes puderam ser detectados pelo método da RPE. O sinal de RPE (concentração de radicais livres) aumenta linearmente com a dose até atingir saturação. Porém, os radicais livres decaem com o tempo, cerca de cerca de 50% em 20 dias. Isto permitiria detectar o tratamento de irradiação neste prazo. .

Os radicais livres podem se formar durante o processo de irradiação, assim como mediante vários outros tratamentos convencionais de alimentos, como a torrefação e fervura por exemplo. Esses radicais formados são em quantidades mínimas, não sendo nocivos ou perigosos (IAEA, 1998).

A irradiação, apesar das suas vantagens, encontra dificuldades de compreensão e aceitação pelo mercado consumidor. Alguns trabalhos confirmam a falta de informação dos consumidores em relação a alimentos irradiados (LEAL et al., 2006; ORNELAS et al., 2006). Para a maior comercialização de produtos irradiados é necessário disseminar informações para o público, ressaltando as vantagens da irradiação e desmistificando o termo. Somente

informado o consumidor terá condições de fazer opções conscientes e decidir por ele mesmo se fará ou não uso dos alimentos irradiados e talvez assim as indústrias optem mais pela conservação através da irradiação.

5 CONCLUSÕES

Os resultados da concentração de ácido fítico e seus derivados encontrados nas amostras de multimisturas não permitem concluir sobre sua adequação ou não ao consumo pois não há mais legislação vigente. Porém, considerando a antiga legislação, as amostras apresentam concentrações acima do limite. Levando em consideração o efeito inibidor (quelante) do ácido fítico junto aos minerais e proteínas, reduzindo a absorção dos mesmos, seria importante a existência de limites para este fator antinutricional. Em relação ao ácido oxálico, para as quantidades recomendadas, a concentração foi relativamente baixa, entretanto, é necessário um controle na ingestão de alimentos contendo este fator antinutricional devido ao seu poder complexante com o cálcio. Quanto ao efeito da irradiação gama sobre os ácidos fítico e oxálico nas amostras de multimisturas, pôde-se perceber que não houve alteração significativa na concentração dos mesmos.

Quanto à qualidade microbiológica das amostras de multimisturas, a concentração de bolores e leveduras está baixa, porém, através da identificação dos fungos, observou-se a presença daqueles produtores de micotoxinas, indicativo de falhas higiênicas. Deve-se ainda levar em consideração que este complemento alimentar é destinado muitas vezes a crianças desnutridas, com sistema imunológico deprimido e a presença de fungos toxigênicos pode ocasionar a produção de micotoxinas. Quanto às contagens de coliformes a 45 °C, exceto em uma, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella* sp nas amostras, estão de acordo com a legislação. A maior concentração de coliformes fecais na multimistura pode ser atribuída à maior contaminação da matéria-prima ou situação higiênico-sanitária insatisfatória. A aplicação da irradiação gama foi eficaz na destruição dos microrganismos, confirmando seu efeito no processo de descontaminação dos alimentos.

Na avaliação da composição centesimal das amostras, os teores de umidade e cinzas estão de acordo com a legislação. Porém, para os macronutrientes (carboidratos, lipídeos e proteínas), o conteúdo fornecido, nas quantidades recomendadas, é muito baixo. Levando em consideração o efeito da irradiação gama sobre os macronutrientes, foi possível perceber que não houve alteração nos teores dos mesmos, o que já seria esperado de acordo com dados da literatura. Portanto, como ainda não foram realizados estudos do efeito da irradiação gama nos macronutrientes da multimistura, é importante analisar seus efeitos e confirmar o que já seria

esperado. A concentração da maioria dos minerais está abaixo do recomendado para a faixa etária, na porção usualmente empregada. Como ressaltado, é necessário, portanto, que se tenha uma dieta complementar balanceada para supri-los.

A Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) foi eficaz na detecção de amostras irradiadas. Os radicais livres formados durante a irradiação, em quantidades mínimas, não são nocivos e, além disso, a irradiação não é o único tratamento que produz esses radicais, já que também são formados em outros processos de conservação.

Pelos resultados obtidos nesta pesquisa, sugerem-se estudos adicionais sobre a multimistura de modo que sua utilização possa ser indicada, e para isso alguns trabalhos futuros são apresentados.

5.1 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Analisar amostras de diferentes regiões brasileiras a fim de verificar a qualidade nutricional de cada uma e estabelecer uma receita média única com abrangência nacional.
- Analisar a biodisponibilidade dos minerais.
- Analisar os teores de vitaminas e fibras.
- Dosar o cianeto na folha de mandioca.
- Realizar análise sensorial das amostras.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, N. R.; OLIVEIRA, I. C.; TAVARES, M. F. A.; SANTOS, G. M. S.; MONTAL, M. C. C.; OLIVEIRA, L. M. F. Avaliação da qualidade microbiológica e microscópica do farelo de trigo destinado à alimentação. **Revista Baiana de Saúde Pública**, Salvador, v. 19, n. 14, p. 9-18, 1992.

ANDRADE, A.S.; CARDONHA, A.M.S. Análise microbiológica da multimistura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16., 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCTA, 1998. v. 2, p.789-791.

ANGELIS, R.C.; ROGANO, R.N.; GUILLE, G.G. **Colesterol plasmático e zinco do farelo de trigo**. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. Curitiba, v. 6, n. 2, p. 54-55, 1988.

ARTUS, F.; RAMOS, M. É possível a utilização da multimistura no combate à desnutrição no Brasil? **Higiene Alimentar**. São Paulo, SP, v. 21, n. 151, p. 59-63, 2007.

ASSIS, A.M.O.; PRADO, A. M. S.; FRANCO, V.B.; CONCEIÇÃO, L.H.; MARTYNEZ Y.; MARTYNES, L.; OLIVEIRA, A.G. Suplementação da dieta com farelo de trigo e o estado nutricional de crianças de 1 a 7 anos de idade. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 9; n.1; p. 92-107, 1996.

AZIZ, N.H.; MAHROUS, S.R. Effects of gama irradiation and chemical composition of some crop seeds on aflatoxin B1 production by *Asperrgillus flavus*. **Journal of Agricultural Sciences**. Cairo, v. 28, n.1, p. 649-661, 2003.

BAM – BACTERIOLOGICAL ANALYTICAL MANUAL, 6 ed. Estados Unidos: **Food and Drug Administration**, 2003.

BARBOSA, C.O.; LOPES, I.B.M.; MORGANO, M.A.; ARAÚJO, M.A.M.; MOREIRA-ARAÚJO, R.S.R. Conteúdo de minerais dos ingredientes e da multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26; n. 4; p. 916-920, 2006.

BEAUSSET, I. **Estúdio de las bases científicas para el uso de alimentos alternativos em la nutrición humana**.[s.1].: Inan/Unicef. (mimeo), 56p, 1992.

BITTENCOURT, S. A. Uma alternativa para a política nutricional brasileira? **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p. 1-7, 1998.

BICUDO, M. H.; MAFFEI, H. V. L.; CASSETARI, M. L. Ganho ponderal de ratos desnutridos recebendo “Multimistura”, com diferentes proporções de farelos de cereais. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO, 4., 1996, São Paulo. **Resumos...**São Paulo: SBAN, 1996. NE20.

BION, F. M.; PESSOA, D. C. N. P.; LAPA, M. A. G.; CARVALHO, M. J. Uso de uma multimistura como suplementação alimentar: estudo em ratos. **Archivos Latino Americanos de Nutrición**, Caracas, v. 47, n. 3, p. 242-247, 1997.

BOAVENTURA, G. T.; CHIAPPINI, C. C. J.; FERNANDES, N. R. A.; OLIVEIRA, E. M. Avaliação da qualidade protéica de uma dieta estabelecida em Quissamã, Rio de Janeiro, adicionada ou não de multimistura e de pó de folha de mandioca. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 201-209, 2000.

BÖGL, K.W. Identification of irradiated foods – methods, development and concepts. **Applied Radiation Isotopes**, v. 40, n. 10-12, p. 1203-1210, 1989.

BRANDÃO, C.T.T. **Alternativas alimentares**. Brasília: Ministério da Saúde, 1989.

BRANDÃO, C. T. T. **Alternativas alimentares**. Goiânia: CNBB / Pastoral da Criança, 1988.

BRANDÃO, C.T.; BRANDÃO, R.F. **Alimentação alternativa**. Brasília: Centro de Pastoral Popular, 1996.

BRANDÃO, C.T.; BRANDÃO, R.F. **Alimentação alternativa**. Brasília: Ministério da Saúde, 2. ed., 1997.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 53, de 15 de junho de 2000. Dispõe sobre o **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais**. **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 jun. 2000. p.1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997. **Regulamento técnico, Princípios Gerais para o**

Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus anexos I, II e III. Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria nº 01 de 28 de janeiro de 1987, Brasília, 1987.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico Referente à Informação Nutricional Complementar**. Portaria nº 27 de 13 de janeiro de 1998. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1998. 4 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais**. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2005.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF. **Diário Oficial da União**, 10 jan. 2001a.

BRASIL. Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF. **Diário Oficial da União**, 29 jan. 2001b.

BRIGIDE, P. **Disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiados**. Piracicaba, 2002. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, 2002.

BURBANO, C; MUZQUIZ, M; OSAGIE, A; AYET, G; CUADRADO, C. Determination of phytates and lower inositol phosphates, in Spanish legumes by HPLC methodology. **Food Chemistry**, Baking, v. 52, n. 3, p. 321-325, 1995.

CABALLERO, B. Interacciones entre los componentes de la dieta. **Archivos Latino Americanos Nutrición**, Caracas, v. 38, n.3, p. 656-684, 1988.

CÂMARA, S.F. **Multimistura: composição química, fatores tóxicos e/ou antinutricionais**. Dissertação de Mestrado, 1996. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 1996, 64p.

CÂMARA, F. S; MADRUGA, M. S. Conteúdos de ácido cianídrico, ácido fítico, tanino total e aflatoxina em uma preparação brasileira (Natal) de multimistura. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 33-36, 2001.

CARLI, L.; ROSSO, N.D.; SCHNITZLER, E.; CARNEIRO, P.I.B. Estudo da estabilidade do complexo ácido fítico e o íon Ni (II). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 19-26, 2006.

CARVALHO, R.D.S.; SANTANA, L.R.R.; LIMA, M.G.C.; LIMA, M.A.P.; BORGES, N.O.L.; LEITE, C.C.; SANTANNA, M.E.B.; SANTOS, C.S.; CONCEIÇÃO, M.F.B.; Caracterização e estudo de estabilidade da multimistura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16., 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCTA, p. 573-576.

CAST – COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY. Mycotoxins: economics and health risks. Ames, Iowa: **Council for Agricultural Science and Tecnology**. 2003 (Task Force Report 139).

CFN – CONSELHO FEDERAL DE NUTRICIONISTAS. Multimistura: a posição do CFN. **Revista do CFN**, Brasília, ano 3, n. 6, p. 9, 2002. (Relatório, mimeografado).

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in foods systems. CRC Critical Reviews in **Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 13, n. 4, p. 297-335, 1980.

CHIAPPINI, S.; ABREU, A.V.D. Composição química da multimistura e de seus ingredientes. I - Composição centesimal, resultados parciais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 15., 1996, Poços de Caldas/MG. Livro de **Resumos...**Viçosa/MG: SBCTA, 1996.

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

COSTA, P. V., CHIAPPINI, C. C. J., BOAVENTURA, G. T. Variação de peso em ratos e digestibilidade da multimistura básica utilizada no município de Quissamã, RJ. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO, 14., 1996, São Paulo. **Anais...**São Paulo: SBAN, 1996. NE35.

COSTA, S.M.G.J. Avaliação da qualidade de multimisturas utilizadas como suplemento alimentar na alimentação humana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16., 1998, Rio de Janeiro. **Anais...**Rio de Janeiro: SBCTA, 1998.

COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 10 n. 2, p. 87-98, 1997.

CRAWFORD, L.M.; RUFF, E.H. A review of the safety of cold pasteurization through irradiation. **Food Control**, v. 7, p. 87-97, 1996.

CÚNEO, F.; FARFAN, J.F.; CARRARO, F. Distribuição dos fitatos em farelo de arroz estabilizado e tratado com fitase exógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 94-98, 2000.

DEBESSAUTET, I. **Estudio de las bases científicas para el uso de alimentos alternativos en la nutrición humana**. Brasília: INAN, 1992 (Mimeografado).

DEL MASTRO, N.L. Development of food irradiation in Brazil. **Progress in Nuclear Energy**, v. 35, n. 3-4, p. 229-248, 1999.

DESROSIERS, M. Current status of the EPR method to detect irradiated food. **Applied Radiation Isotopes**, v. 47, n. 11-12, p. 1621-1628, 1996.

DIEHL, J.F.; JOSEPHSON, E.S. Assessment of wholesomeness of irradiated foods. **Acta Alimentaria**, Dudapeste, v. 23, n. 2, p. 195-214, 1994.

DOMENE, M. S. A. **Estudo do valor nutritivo do farelo de arroz. Utilização do zinco, ferro, cobre e cálcio pelo rato em crescimento**. 1996. 104 p. Tese (Doutorado em Ciências da Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1996.

DOMINGUEZ, B.M.; GÓMEZ, M.V.I.; LEÓN, F.R. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Archivos Latino Americanos de Nutrición**, Caracas, v. 52, n. 3, p. 219-231, 2002.

DOWNES, P.F.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of Foods**. 4. ed. Washington DC: American Public Health Association; caps. 8, 35, 37, 39, 2001.

ERDMAN, J.W. Oilseed phytates; nutritional implications. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 56, n. 8, p. 736-741, 1979.

FARFAN, J. A. Alimentação alternativa: análise crítica de uma proposta de intervenção nutricional. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 205-212, 1998.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food – a review. **International Journal of Food Microbiologists**, v. 44, p. 190-204, 1998.

FASSET, D.W. Oxalates. In: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Toxicants occurring naturally in foods**. 2. ed. Washington, 1973. p. 346-362.

FERREIRA, H. S.; ASSUNÇÃO, M. L.; FRANÇA, A. O. S.; CARDOSO, E. P. C.; MOURA, F. A. Efetividade da “multimistura” como suplemento de dietas deficientes em vitaminas e/ou minerais na recuperação ponderal de ratos submetidos à desnutrição pós-natal. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n.1, p. 63-74, 2005.

FIGUEIREDO, F. Irradiação de alimentos. **Alimentos & Tecnologia**, v. 6, n. 30, p. 96-98, 1990.

FOLEY, D.M.; DUFOUR, A.; RODRIGUEZ, L.; CAPORASO, F.; PRAKASH, A. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 in shredded iceberg lettuce by chlorination and gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, London, v. 63, n. 3-6, p. 391-396, 2002.

FORBES, R.M.; PARKER, H.M.; ERDMAN, J.W. Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 114, n. 7 p. 1421-1425, 1984.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FURTADO, D.M.N. Fitatos na alimentação humana: uma visão abrangente. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 17, n. 107, p.16-20, 2003.

FURTUNATO, D.M.N. **Multimistura: sua relação químico-nutricional**. 2003. Tese de Doutorado em Química na Universidade Federal da Bahia. Salvador /BA, 2003.

GIROUX, M.; LACROIX, M. Nutritional adequacy of irradiated meat a review. **Food Research International**, Amsterdam, v. 31, p. 257-264, 1998.

GOMES, V. A. L. **Fungos filamentosos em um composto em forma de pó (Multimistura) produzido num Hospital Universitário na cidade de João Pessoa/PB**. 1999. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Paraíba, 1999.

GRAF, E. Applications of phytic acid. **Journal of the American Oil Chemist's Society, Champaign**, v. 60, n. 11, p. 1861-1866, 1983.

HALLBERG, L.; ROSSANDER, L.; SKANBERG, A.B. Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 45, p. 988, 1987.

HEANEY, R.P.; WEAVER, C.M.; FITZSIMMONS, M.L. Soybean phytate content: effect on calcium absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 53, n. 3-4, p. 745-747, 1991.

HIRA, C.K.; KAUR, A.P. Phytate/zinc and phytate x calcium/zinc ratios of common cereals, legumes and their combinations. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 30, n. 3, p. 213-215, 1993.

HODGKINSON, A. **Oxalic acid in biology and medicine**. London: Academic Press, 1977.

HUNT, J.R.; JOHNSON, P.E.; SWAN, P.B. Dietary conditions influencing relative zinc availability from foods to the rat and correlations with in vitro measurements. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 117, n. 11, p. 1913-1923, 1987.

HUNTER, C. Changing attitudes to irradiation throughout the food chain. **Radiation Physics and Chemistry**, London, v. 57, p. 239-243, 2000.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ – **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz; métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo, 2005.

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Avaliação química e nutricional de farinha composta**. Campinas, 1995.

IAEA - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Facts about food irradiation**. Vienna, 1991. 38 p. (IAEA/ PI/ A33E).

IAEA - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Report of the joint AAEA/FAO/IAEA**. Regional Workshop on Present Status and Guidelines for Preparing Harmonizing Legislation on Food Irradiation. Tunis, Tunisia, 1998. IAEA.

JONG, E. V.; STEINMUELLER, A.; LEAL, S. Resposta da suplementação de dieta com multimistura na recuperação de ratos desnutridos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 26, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCTA, 1998.

KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. **Food Chemistry**, Oxford, v. 49, n. 2, p. 157-164, 1994.

LEAL, A.S.; FAÊDA, K.C.M.; WEILLER, L.A.; DOMINGOS, S.F. The public knowledge about the concept of radiation: the cases of mobile phones and irradiated food. In: INTERNATIONAL YOUTH NUCLEAR CONGRESS. Olkiluoto, Finland, 2006. **Proccedings...**Stockholm, Sweeden, IYNC. Paper no. 112.

LEAL, A.S.; KRAMBROCK, K.; GUEDES, K.; RODRIGUES, R.R. Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) aplicada à análise de especiarias irradiadas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, p. 427-430, 2004.

LEAL, A.S.; MENEZES, M.A.B.C.; VERMAERCKE, P.; SNEYERS, L.; JENSEN, C.E.M. Investigation of chemical impurities in formulations, phytotherapics and polyvitaminic medicines by k0-instrumental neutron activation analysis. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research**, v. 564, p. 729–732, 2006.

LEITE, M. S.; AZEREDO, V. B.; CARMO, M. G. T.; BOAVENTURA, G. T. Utilização da multimistura durante a lactação e seus efeitos na produção e composição do leite materno de ratas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 211-221, 2002.

LONNERDAHL, B.; SANDBERG, A.S.; SANDSTROM, B.; CLEMENS, K. Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 119, p. 211-214, 1989.

MADRUGA, M.S.; CÂMARA, F.S. The chemical composition of “Multimistura” as a food supplement. **Food Chemistry**, Baking, v. 68, p. 41-44, 2000.

MADRUGA, M. S.; SANTOS, H. B.; BION, F. M.; ANTUNES, N. L. M. Avaliação nutricional de uma dieta suplementada com multimistura: Estudo em ratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 129-133, 2004.

MAGA, J.A. Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Bethesda, v. 30, n. 1, p. 1-9, 1982.

MARTIN-NETO, L.M.; RODRIGUES, H.R.; TRAGHETTA, D.G. **Uso de radiação ionizante para esterilizar alimentos e detecção de formação de radicais livres por EPR**. São Paulo, EMBRAPA, 1996.

MASSEY, L.K.; ROMAN-SMITH, H.; SUTTON, R.A.L. Effect of dietary oxalate and calcium on urinary oxalate and risk of formation of calcium oxalate kidney stones. **Journal of the American Dietetic Association**, St. Paul, v. 93, n. 8, p. 901-906, 1993.

MATSUDA, A.M. **Aplicação da técnica de irradiação gama para preservação de própolis**. 2002. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciência na área de Tecnologia Nuclear), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

MECHI, R; CANIATTI-BRAZACA, S.G; ARTHUR, V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 109-114, 2005.

MERCK Index. 12. ed. New Jersey: Rahway, 1996.

MIDIO, A.F.; MARTINS, S.I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Epidemiologia-desnutrição. Disponível em: <http://www.saude.gov.br> > 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Situação de saúde da criança brasileira. Disponível em: www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/scrianca/cianca/situacao.htm >, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS. **Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil**, 1999 – 2004. SVS – Secretaria de Vigilância da Saúde, Boletim eletrônico epidemiológico, a 5, nº 06, 28/12/2005. Disponível em : www.saude.gov.br/svs. Acesso em 28/12/2005.

MOLINS, R. **Food irradiation: principles and applications**. New York: John Wiley, 2001. p. 1-14.

NAPPI, G.U; RIBEIRO-CUNHA, M.R; COELHO, J.V; JOKL, L. Validação de métodos para determinação dos ácidos fítico e oxálico em multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas**, v. 26, n. 4, p. 811-820, 2006.

NAPPI, G.U. **Validação de métodos analíticos para os ácidos fítico e oxálico em multimisturas**. Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

NARVAIZ, P.; LADOMERY, L.G. Estimation of the effect of food irradiation on total dietary vitamin availability as compared with dietary allowances: study for Argentina. **Journal of the Science of Food Agriculture**, London, v. 76, p. 250-256, 1998.

NAVES, M.M.V.; FERNANDES, D.C.; PRADO, C.M.M.; TEIXEIRA, L.S.M. Fortificação de alimentos com pó da casca de ovo como fonte de cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n.1, p. 99-103, 2007.

NEUMANN, N.A; VICTORA, C.G; HALPERN, R; GUIMARÃES, P.R.V; CESAR, J.A. Desempenho da Pastoral da Criança na promoção de ações de sobrevivência infantil e na educação em saúde em Criciúma, uma cidade do sul do Brasil. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, Washington, v. 5, n. 6, 1999.

NOGARA, C. D.; CAT, I.; SANDRINI NETO, R.; LACERDA FILHO, L.; WILLRICH, N.; GABARDOO, J.; FERNANDES, S. C.; UNDERWOOD, L. E; BRANDÃO NETO, J. **Farelo de arroz como suplemento alimentar: avaliação da ação sobre insulin-like growth factor-1 e oligoelementos** (mimeografado). Relatório apresentado ao Plano das Nações Unidas para o Desenvolvimento. Curitiba: 1994.

OBERLEAS, D. **Phytates**. In: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Toxicants occurring naturally in foods** 2.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1973.

O'DELL, B. L. **Effect of soy protein on trace mineral bioavailability**. In: WILCKE, H. L.; HOPKINS, D. T.; WAGGLE, D. H. (Ed.) **Soy protein and human nutrition**. New York: Academic Press, 1979.

OKE, O.L. **Oxalic acid in plants and in nutrition**. *World Review in of Nutrition and Dietetics*, London, v. 10, p. 262-303, 1980.

OLIVEIRA, A.C.; REIS, S.M.P.M.; CARVALHO, E.M.; PIMENTA, F.M.V.; RIOS, K.R.; PAIVA, K.C.; SOUSA, L.M.; ALMEIDA, M.; ARRUDA, S.F. Adições crescentes de ácido fólico à dieta não interferiram na digestibilidade da caseína e no ganho de peso em ratos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.16, n. 2, 2003.

OLIVEIRA, A.F. **Monitoramento da qualidade e orientação sobre o produto multimistura**. 1997. Dissertação Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1997.

OLIVEIRA, S. M. S.; COSTA, M. J. C.; RIVERA, M. A. A.; SANTOS, L. M. P.; RIBEIRO, M. L. C.; SOARES, G. S. F.; ASCIUTTI, L. S.; COSTA, S. F. G. Impacto da multimistura no estado nutricional de pré-escolares matriculados em creches. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 169-176, 2006.

ORNELLAS, C.B.D.; GONÇALVES, M.P.J.; SILVA, P.R.; MARTINS, R.T. Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 211-213, 2006.

OSBORNE, D.R.; VOOGT, P. **The analysis of nutrientes in foods**. London: Academic Press, 1978. p. 156-158.

PAYÁ, J.B.; MONTORO, A.V.; PAYÁ, A.B. **Los enzimas en nutrición porcina (II)**. Disponível em: <<http://www.revista-anaporc.com/enzimar2.htm>>. Acesso em: 05/12/2002.

PASTORAL DA CRIANÇA. Disponível em: <http://www.pastoraldacrianca.org.br>, 2005.

PERSON, H; TÛRK, M; NYMAN, M. Binding of Cu, Zn. And Cd to inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates. **Journal Agricultural Chemistry**, Washington, v. 46, p. 3.194-3.200, 1998.

PHILIPPI, S.T. **Tabela de composição centesimal de alimentos**. Suporte para decisão nutricional. 2 ed. São Paulo: Coronário, 2002. 135p.

PHILLIPPY, B.Q.; JOHNSTON, M.R.; TAO, S.-H.; FOX, M.R.S. Inositol phosphates in processed foods. **Journal Food of Science**, Chicago, v. 53, p. 496-499, 1988.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 13ª edição, Piracicaba: 1990.

PINTO, N.A.V.D.; CARVALHO, V.D.; CORRÊA, A.D.; RIOS, A.O. **Avaliação de fatores antinutricionais das folhas de taioba** (*Xanthosoma sagittifolium* SCHOOT). *Ciência e Agrotecnologia*. Lavras, v. 25, n. 3, p.601-604, 2001.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Methods for isolation, enumeration and identification**. In: *Fungi and food spoilage*. 2. ed. Maryland: Aspen, 1999.

PLAAMI, S.; KUMPULAINEN, J. Determination of phytic acids in cereals using ICP-AES to determine phosphorus. **Journal of the Association of the Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 74, n. 1, p. 32-36, 1991.

PLAAMI, S. **Myoinositol phosphates: analysis, content in foods and effects in nutrition**. Review Article. Academic Press, 1997. p. 633-647.

POINTILLART, A.; GUÉGUEN, L. Influence des fibres alimentaires sur la biodisponibilité des minéraux. **Cahiers de l'ens. Bana**. v. 8, p. 157-182, 1992.

PREFEITURA MUNICIPAL DE BELO HORIZONTE. Secretaria Municipal de Saúde. **Programa de Prevenção e Combate à Desnutrição (PPCD)** (mimeografado) Relatório de avaliação - Belo Horizonte, 1997.

RAUPP, D.S.; MARQUES, S.H.P.; ROSA, D.A.; CALDI, C.M.; CREMASCO, A.C.V.; BANZATTO, D.A. Arraste via fecal de nutrientes da ingestão produzido por bagaço de mandioca hidrolisado. **Scientia Agricola**, São Paulo, v. 59, n. 2, p. 235-242, 2002.

RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; SIVALOGAN, S. Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. **Food Chemistry**, Oxford, v. 50, p. 133-136, 1994.

REDDY, N. R.; SATHE, S. K.; SALUNKE, D. K. Phytates in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, v. 28, p. 1-92, 1982.

SAHA, P. R.; WEAVER, C. M.; MASON, A. C. Mineral bioavailability in rats from intrinsically labeled whole wheat flour of various phytate levels. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 41, p. 2531-2535, 1994.

SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C. **Introduction to food and airborne fungi**, 7 ed. CBS, 2004.389 p.

SANDBERG, A. S.; CARLSSON, N. G.; SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta- and hexaphosphates on *in vitro* estimation of iron availability. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, n. 1, p. 159-161, 1989.

SANT'ANA, L. F. R.; COSTA, N. M. B.; FERREIRA, G.; DINIZ, M. F. F.; LAPA, M. A. G. Valor nutritivo de "Multimisturas" utilizadas como alternativa alimentar. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO, 4, 1996, São Paulo. **Anais...** São Paulo: SBAN, 1996.

SANT'ANA, L. F. R.; COSTA, N. M. B.; FERREIRA, G.; OLIVEIRA, M. G. A.; MONTEIRO, J. B. R. Valor nutritivo e fatores antinutricionais de multimisturas utilizadas como alternativa alimentar. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 3, p. 129-135, 2000.

SANT'ANA, L. F. R.; CRUZ, A. C. R. F.; FRANCESCHINI, S. C. C.; COSTA, N. M. B. Efeito de uma multimistura alimentar no estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 445-454, 2006.

SANTOS, H. B.; MADRUGA, M. S.; BION, F. M.; ANTUNES, N. L. M.; MENDES, K.; ÁGUIDA, R. Estudos bioquímicos e hematológicos em ratos sobre biodisponibilidade de minerais numa dieta enriquecida com multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 613-618, 2004.

SANTOS, H. B.; SOUZA, S.; LIMA, A. W. O. Caracterização microbiana de multimisturas usadas como suplemento alimentar num Hospital Universitário. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISES CLÍNICAS, 1999, Goiânia. **Anais...**Goiânia: 1999.

SANTOS, H. B.; SOUZA, S.; PONTES, Z.B. Identificação de bolores e leveduras isolados em multimistura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...**Rio de Janeiro: 1998.

SANTOS, L. A. S. **Saúde e nutrição no Município de Valente**: 1996b. (Relatório Técnico apresentado a APAE).

SANTOS, L. A. S. **Representações e práticas da alimentação alternativa**. 1996a. 13p. Proposta de trabalho para dissertação de Mestrado em Saúde Pública apresentado à Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro. (mimeografado).

SANTOS, L. A.S.; LIMA, A. M. P.; PASSOS, I. V.; SANTOS, L. M. P.; SOARES, M. D.; SANTOS, S. M. C. Uso e percepções da alimentação alternativa no Estado da Bahia: um estudo preliminar. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, p. 35-40, 2001.

SCHREIBER, G.A.; HELLE, N.; BÖGL, K.W. Detection of irradiated food-methods and routine applications. **International Journal Radiation and Biology**, v. 6, n. 1, p. 105-130, 1993.

SGARBIERI, V.C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento**. São Paulo: Almed, 1987.

SHILLS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M; ROSS, A.C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9 ed. 2003, v.2.

SILVA, M.R.; SILVA, M.A.A.P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, p.5-19, 1999.

SIQUEIRA, E.M.A.; AZEVEDO, I. T.; ARRUDA, S.F.; LIMA, S. M. D.; GONÇALVES, C. A.; SOUZA, E.M.T. Regional low-cost diet supplement improves the nutritional status of school children in a semi-arid region of Brazil. **Nutr Res**. v. 23, n. 6, p. 703-12, 2003.

SOUZA, J.C.; MAURO, A.K.; CARVALHO, H.A.; MONTEIRO, M.R.P.; MARTINO, H.S.D. Qualidade protéica de multimisturas distribuídas em Alfenas, Minas Gerais/Brasil. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 6, 2006.

SPOTO, M.H.F. **Radiação gama na conservação de sucos concentrados de laranja: características físicas, químicas e sensoriais**. Piracicaba, 1998. 91 p. Mestrado em ESALQ/USP, 1998.

TORIN, H.R.; DOMENE, S.M.A.; AMAYA-FARFAN, J. El efecto de suplementar el salvador de arroz industrial com cálcio y zinco. **Revista Chilena de Nutrición**, v.22, n.1, p.52, 1994.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A. R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 1, n. 1, p.1-22, 1991.

TSAO, G.T.; ZHENG, Y.; LU, J. Adsorption of heavy metal ions by immobilized phytic acid. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 63-65, p. 731-740, 1997.

VELHO, L.; VELHO, P. A controvérsia sobre o uso de alimentação ‘alternativa’ no combate à subnutrição no Brasil. **História, Ciências e Saúde**, Manguinhos, Rio de Janeiro, v. 9, n.1, p. 125-157, 2002.

VIEIRA, I.F.R.; TAMBOURGI, E.B.; GONÇALVES, C.G.; LEAL, A.S.; MACHADO, E. V.; KRAMBROCK, K. Efeito da radiação gama sobre a qualidade da pimenta do reino. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 156, p. 36-40, 2007.

VILLAVINCENCIO, A.L.C.H.; MARCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; GREINER, R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 57, p. 289-293, 2000.

VIZEU, V.E.; FEIJÓ, M.B.S.; CAMPOS, R.C. Determinação da Composição Mineral de Diferentes Formulações de Multimistura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 254-258, 2005.

WEAVER, C.M.; MARTIN, B.R.; EBNER, J.S. Oxalic acid decreases calcium absorption in rats. **Journal Nutrition**, Bethesda, v.117, p. 1903-1906, 1987.

ZHOU, J.R.; ERDMAN, J.W. Phytic acid in health and disease. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 35, n. 6, p. 495-508, 1995.

ZINDLER, F.E. Oxalate biosynthesis in relation to photosynthetic pathway and plant productivity – a survey. **Zeitschrift der Pflanzenphysiologie**, v.80, p. 1-13, 1976.

APÊNDICE A - CURVA DE CALIBRAÇÃO DOS ÁCIDOS FÍTICO E OXÁLICO

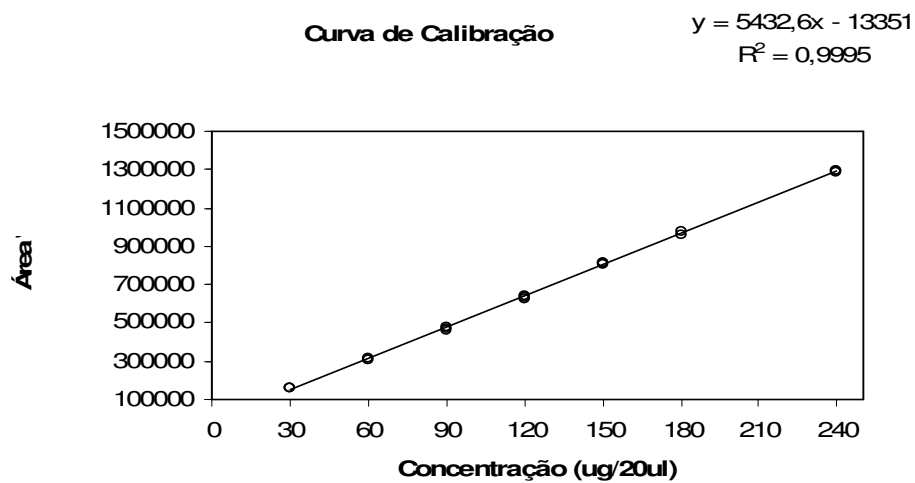


FIGURA 23 - Curva de calibração do padrão de ácido fítico.

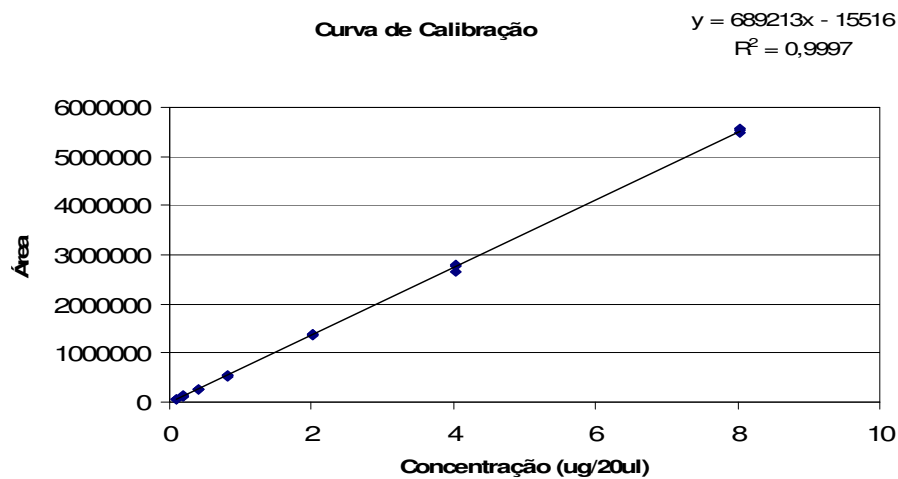


FIGURA 24 - Curva de calibração do ácido oxálico.

APÊNDICE B – TEORES DE MINERAIS E ADEQUAÇÃO COM A IDR

TABELA 18 - Teor de minerais nas amostras de multimisturas não-irradiadas e adequação com a Ingestão Diária Recomendada, segundo a faixa etária.

	Multimistura 1			Multimistura 2			Multimistura 3			Multimistura 4			Multimistura 5			IDR(mg)	
	% IDR			% IDR			% IDR			% IDR			% IDR			idade	
	mg/ 5 g*	idade (anos)		mg/ 5 g*	idade (anos)		mg/ 5 g*	idade (anos)		mg/ 5 g*	idade (anos)		mg/ 5 g*	idade (anos)		idade (anos)	
	1-3	4-6		1-3	4-6		1-3	4-6		1-3	4-6		1-3	4-6		1-3	4-6
K	30,2	-	-	27,8	-	-	27,5	-	-	43,6	-	-	36,5	-	-	-	-
Mg	8,8	14,7	12,1	8,4	14,1	11,6	8,5	14,1	11,6	13,4	22,3	18,3	10,1	16,9	13,9	60	73
Mn	0,3	22,5	18,0	0,3	24,2	19,3	0,3	23,3	18,7	0,5	40,8	32,7	0,4	30,0	24,0	1,2	1,5
Na	0,4	-	-	0,3	-	-	0,3	-	-	0,5	-	-	0,5	-	-	-	-
Zn	0,3	6,8	18,0	0,2	5,9	4,7	0,2	5,9	4,7	0,4	9,5	7,7	0,3	8,3	6,7	4,1	5,1
Fe	2,2	36,8	36,8	2,1	34,7	34,7	-	-	-	2,4	40,0	40,0	-	-	-	6	6
Ca	32,5	6,5	5,4	2,0	0,4	0,3	0,7	0,1	0,1	3,2	-	0,5	17,8	3,6	3,0	500	600

*Porção recomendada por BRANDÃO & BRANDÃO para crianças até cinco anos de idade. ** IDR = Ingestão Diária Recomendada para crianças de 1-3 e de 4-6 anos (BRASIL, 2005). % IDR = percentual de adequação do conteúdo de minerais presentes na porção da multimistura com a IDR recomendada segundo a faixa etária.

TABELA 19 - Teor de minerais nas amostras de multimisturas não-irradiadas e adequação com a Ingestão Diária Recomendada, segundo a faixa etária.

	Multimistura 1			Multimistura 2			Multimistura 3			Multimistura 4			Multimistura 5			IDR(mg)	
	% IDR			% IDR			% IDR			% IDR			% IDR			Idade	
	mg/ 22,5g*	Idade (anos)		mg/ 22,5g*	idade (anos)		mg/ 22,5g*	idade (anos)		mg / 22,5g*	idade (anos)		mg/ 22,5g*	idade (anos)		Idade (anos)	
	1-3	4-6		1-3	4-6		1-3	4-6		1-3	4-6		1-3	4-6		1-3	4-6
K	135,4	-	-	124,9	-	-	123,7	-	-	195,7	-	-	163,7	-	-	-	-
Mg	39,7	66,2	54,4	37,9	63,2	51,9	38,1	63,4	52,1	60,1	100	82,3	45,5	75,8	62,3	60	73
Mn	1,2	103,3	82,7	1,3	107,5	86	1,3	105	84	2,2	182,5	146	1,6	135,8	108,7	1,2	1,5
Na	1,9	-	-	1,3	-	-	1,3	-	-	2,0	-	-	2,1	-	-	-	-
Zn	1,3	31,0	25,0	1,1	26,1	21,0	1,1	26,3	21,2	1,8	42,9	34,5	1,5	37,1	29,8	4,1	5,1
Fe	9,9	165,7	165,7	9,3	155,7	155,7	-	-	-	10,8	179,5	179,5	-	-	-	6	6
Ca	146,1	29,2	24,3	9,2	1,8	1,5	3,2	0,6	0,5	14,3	2,9	2,4	79,7	15,9	13,3	500	600

* Média das porções recomendadas nos rótulos das amostras (=22,5g). ** IDR = Ingestão Diária Recomendada para crianças de 1-3 e 4-6 anos (BRASIL, 2005). % IDR= Percentual de Adequação do conteúdo de minerais presentes na porção da multimistura com a IDR recomendada segundo a faixa etária.