

Avaliação nutricional de farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus*

Solange Guidolin Canniatti-Brazaca¹, Jocelim Mastrodi Salgado²

RESUMO. Com o objetivo de aumentar o conteúdo protéico das farinhas de arroz, foi realizada fermentação com o fungo *Rhizopus oligosporus*. Amostras nos tempos 0, 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 horas, durante a fermentação, foram retiradas, secas em estufa e analisadas quanto ao teor protéico e a composição em aminoácidos essenciais. A composição em aminoácidos da farinha de arroz teve como primeiro limitante a lisina (69,20%) e o segundo a treonina (87,33%). Após a fermentação o teor de lisina aumentou e os primeiros limitantes foram os aminoácidos sulfurados metionina e cisteína (76,03%), a treonina o segundo (91,03%) e a lisina o terceiro limitante (97,04%). No ensaio biológico comparando a dieta de arroz com a dieta de arroz fermentada, observou-se que a dieta de arroz fermentada apresentou uma digestibilidade de 88,55% maior do que a dieta de farinha de arroz (83,00%), porém, o valor biológico (VB) e a utilização proteica líquida (NPU) foram menores para a dieta de farinha de arroz fermentada.

SUMMARY. Nutritional evaluation of rice meal fermented with *Rhizopus oligosporus*. In order to increase the proteic content of rice meal, fermentation with *Rhizopus oligosporus* was performed. During fermentation, samples were taken at the times of 0, 20, 30, 40, 50, 60, 70 and 80 hours. These samples were oven dried and further analysed. The aminoacid composition of rice meal had lysine and treonine the most limiting ones.

After fermentation the lysine content increase and the more limiting were the sulfur aminoacids methionine and cystine (76,04%), treonine (91,03%) and lysine (97,04%). With the aim of verifying the biological value of the protein a bioassay was carried out. The fermented rice meal presented a higher digestibility value and the net protein utilization for the fermented rice meal lower than for the non fermented one.

INTRODUÇÃO

O arroz é um alimento consumido pela maioria do povo brasileiro, incluindo todas as classes sócio-econômicas (18). Os trabalhos de pesquisa relacionados à cultura do arroz são, em sua grande maioria, direcionados para o

aumento da produtividade e poucos se preocupam com a melhoria de seu valor nutritivo, através de melhoramento genético da cultura, especialmente em termos de quantidade e qualidade protéica. O arroz, mesmo contendo todos os aminoácidos essenciais, não os contém em quantidade ideal e o teor de proteínas é baixo, quando comparado com outros cereais (22). Considerando as dificuldades de produção de proteína animal, uma opção próxima da realidade seria o aumento da produção e utilização das fontes de proteínas vegetais, através de melhoramentos genéticos das fontes convencionais, da utilização das fontes não convencionais e da procura de novas fontes, como a de microorganismos (14,23). A quantidade de proteína verdadeira encontrada no micélio fúngico é de 50% sob condições ótimas de crescimento.

1. Assistente na Área de Nutrição Humana e Alimentos da Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz» - Universidade São Paulo - (ESALQ/USP), Campus de Piracicaba - Caixa Postal 09, 13.400, Piracicaba, São Paulo, Brasil.
2. Prof. Associado na Área de Nutrição Humana e Alimentos da Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz» - Universidade de São Paulo - (ESALQ/USP). Campus de Piracicaba - Caixa Postal 09, 13.400, Piracicaba, São Paulo, Brasil.

MATERIAL E METODOS

Farinha de Arroz: Os grãos foram lavados, cozidos e posteriormente secos em estufa a 55°C até peso constante e moídos em forma de farinha.

Inóculo: Foi utilizado o fungo filamentosso *Rhizopus oligosporus* o qual foi mantido em tubos com meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA) para a o de esporos.

Inoculação: As farinhas foram inoculadas com 2×10^7 esporos/g. Esses esporos foram inoculados em meio contendo 100g de farinha, 9g de sulfato de amônio, 2,7g de uréia e 5g de fosfato de potássio. A umidade do material foi acertada a 60% com água destilada esterilizada, e pH inicial da mistura foi de 4,5 acertado com ácido cítrico a 10% (16,17).

Fermentação: As fermentações foram realizadas a uma temperatura de 32°C sendo a ideal para o desenvolvimento dos fungos. O banho-maria se encontrava regulado em 70°C, sendo que a água do kitasato a 68°C, dando uma temperatura final na peneira onde estava ocorrendo a fermentação de 32°C. Amostras nos tempos 0, 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80 horas, durante a fermentação, foram retiradas, secas em estufa e analisadas quimicamente.

Análises químicas: Foram feitas análises de umidade, cinza, fibras e extrato etéreo segundo AOAC (1). Os carboidratos totais foram determinados pelo método fenol sulfúrico (3) tendo sido as amostras preparadas de acordo com McCready (11). A determinação de açúcares redutores foi feita pelo método de Somogy-Nelson (20) e a determinação de proteína pelo método de Loowry (10). Também foi utilizado NaOH 0,1N e ácido tricloroacético a 5% com a finalidade de retirar o nitrogênio não protéico, antes de se proceder à digestão e destilação em micro Kjeldahl.

O perfil dos aminoácidos da farinha foi determinado em analisador automático (Beckman Aminoacid Analyser), usando as técnicas descritas para esse tipo de análise. O triptofano foi determinado, do pela hidrólise alcalina de Hugli & Moore (6), a cisteína pelo procedimento do ácido cistéico de Moore (12) e a lisina pelo método de Kakade & Liener (7) e os valores obtidos foram comparados com a proteína padrão da FAO (4).

Ensaio biológico: Foi utilizado no presente trabalho *Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, linhagem Wistar. Os animais tinham 21-23 dias de idade com uma variação de peso entre eles de não mais de 5%. Cada grupo composto

por 4 animais constituiu-se um bloco no total de 6 blocos nos quais cada rato recebeu um tratamento como se detalha a seguir: tratamento 1: farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus*, com 50 horas de fermentação; tratamento 2: farinha de arroz; tratamento 3: caseína e tratamento 4: aprotéico. Os animais permaneceram em gaiolas individuais, receberam alimentos «ad libitum», sendo o peso e o consumo dos alimentos registrados três vezes por semana durante 28 dias de duração do experimento. As fezes totais excretadas pelos ratos foram coletadas todos os dias do experimento, secas em estufa a 105°C durante 72 horas, moídas e pesadas. Uma amostra total de cada grupo foi retirada para analisar o teor de nitrogênio, a fim de se calcular a digestibilidade. No 28º dia do experimento, após o jejum de 12 horas, todos os animais foram sacrificados. As cavidades abdominal, torácica e craniana foram abertas e secas em estufa a 105°C, até peso constante (aproximadamente 72 horas). Os animais foram moídos e o nitrogênio da carcaça foi determinado para o cálculo do NPU (Net Protein Utilization). As dietas foram formuladas com 10% de proteína, 8% de óleo de milho, 4% de mistura salina, 1% de mistura vitamínica e completado até 100% com amido de milho (maizena). Porém, a dieta de farinha de arroz, sem ser enriquecida com fungo, teve um teor protéico de 7,69% não sendo, portanto, utilizado amido de milho nesta dieta. Foram feitos cálculos de digestibilidade (D%), utilização proteica líquida (NPU), valor biológico (VB), razão de eficiência protéica (PER) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) (13).

Análise estatística: Para a análise do ensaio biológico foi utilizada a técnica de análise de variância de blocos ao acaso, com parcelas subdivididas. Para verificar qual foi a dieta com a melhor qualidade protéica fizeram-se comparações múltiplas aplicando teste F para contraste, sendo desdobrados os graus de liberdade de dietas em contrastes ortogonais (15).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi escolhido o tempo de fermentação em 50 hs em virtude dos resultados para a proteína terem sido maiores neste tempo. A Tabela 1 mostra o resultado da análise bromatológica nos diferentes tempos de fermentação.

TABELA 1
ANÁLISE BROMATOLÓGICA DA FARINHA DE ARROZ FERMENTADO EM DIFERENTES TEMPOS (% EM BASE SECA)

Tempo (h)	0	20	30	40	50	60	70	80
Proteína	7,7	7,6	15,2	17,0	21,0	20,5	17,3	14,4
Hidrato de carbono	82,7	59,6	37,5	28,4	27,7	23,4	21,4	13,8
Açúcares redutores	1,9	7,5	2,7	1,9	2,2	3,4	1,5	2,9
Extrato etéreo	0,2	0,8	3,0	3,7	3,9	4,1	3,4	3,9
Cinzas	2,0	2,9	4,0	5,1	5,2	6,1	5,7	5,7
Fibras	2,0	0,9	2,4	3,9	4,4	4,2	5,0	4,3

A farinha, antes e após 50 hs de fermentação com *R. oligosporus*, apresentou a seguinte composição química como mostra a Tabela 2.

TABELA 2
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FARINHA DE ARROZ ANTES E APÓS 50 HS DE FERMENTAÇÃO COM *R. OLIGOSPORUS*

	F. arroz	F. arroz fermentado
Umidade ⁺ (%)	6,40	7,00
Proteína L ⁺⁺ (%)	7,69	21,01
Proteína K ⁺ (%)	8,14	21,34
Extrato etéreo ⁺ (%)	0,20	3,87
Cinzas ⁺ (%)	2,06	5,17
Fibras ⁺ (5)	2,03	4,39
Açúcares red. ⁺ (%)	1,93	2,20
Carboidratos ⁺ (%)	81,62	58,56

+ média de 3 repetições ++ média de 4 repetições

proteína L = proteína determinada pelo método de Lowry et al (1951).

proteína K = proteína determinada pelo método de micro Kjeldahl com prévio tratamento.

A farinha de arroz fermentada com *R. oligosporus* por 50 hs apresentou como primeiro limitante os sulfurados totais (metionina + cisteína), em segundo a treonina e em terceiro a lisina. Já a farinha de arroz apresentou como primeiro limitante a lisina e como segundo a treonina (Tabela 3).

Os resultados indicaram que há necessidade de suplementação com metionina para se obter melhores

resultados com fungos, pois os produtos de fermentação são deficientes em aminoácidos sulfurados (8,9).

Observando o aminograma das duas farinhas pode-se concluir que quimicamente o produto fermentado é melhor do que o não fermentado em termos de proteína.

A partir dos dados obtidos com o ensaio biológico, foi possível calcular os parâmetros mostrados na Tabela 3. Destes parâmetros, concluiu-se que, a digestibilidade da farinha de arroz fermentada (88,55%) foi maior do que a da farinha de arroz (83,00%), resultados que concordaram com o obtido por Solomons (19) e Spicer (21), os quais encontraram uma digestibilidade elevada para o micélio fúngico, aumento este que provavelmente se deu devido à ação de enzimas fúngicas sobre os substratos, facilitando assim sua digestibilidade.

A utilização protéica líquida (NPU) da caseína foi de 80,90% superando a farinha de arroz (65,77%) e a farinha de arroz fermentada (53,36%), mostrando que a fermentação diminui a utilização da proteína. Resultados semelhantes foram encontrados por Gregory et al (1976).

O valor biológico da farinha de arroz com *R. oligosporus* foi de 60,26%, enquanto que o da farinha de arroz foi superior (79,24%), assim como o da caseína (84,00%). Resultado semelhante ao valor biológico da farinha de arroz foi encontrado por De Angelis & Amaral (2), sendo que, como fermentação, o valor biológico diminuiu.

A razão de eficiência protéica (PER) e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA) não foram calculados para a dieta de farinha de arroz fermentada com *Rhizopus oligosporus* por não ter havido ganho, mas sim perda de peso de animais.

Comparando-se o PER do arroz como o da caseína houve uma pequena diferença com vantagem para a caseína, e o CEA foi três vezes maior para a caseína que para a farinha de arroz, como mostra a Tabela 4.

TABELA 3
CONTEÚDO DE AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS

Aminoácidos	FAO-81 +	F.arroz +	«Score» %	F.arroz ferment.+	«Score» %
Isoleucina	30	44	100	36	100
Leucina	65	87	100	73	100
Lisina	55	38	69	54	97
Met.+Cist.	30	39	129	23	76
Fenil. + Tiros.	50	85	170	117	100
Treonina	40	35	87	36	91
Triptofano	10	10	100	10	100
Valina	40	61	100	47	100
TOTAL	320	399		396	

+ mg aminoácido/g de proteína

TABELA 4
RESULTADOS DA DIGESTIBILIDADE (D), UTILIZAÇÃO PROTÉICA LÍQUIDA (NPU), VALOR BIOLÓGICO (VB), RAZÃO DE EFICÁCIA PROTÉICA (PER) E COEFICIENTE DE EFICIÊNCIA ALIMENTAR (CEA) PARA AS DIETAS EXPERIMENTAIS E CONTROLE

Dietas	D(%)	NPU(%)	VB(%)	PER	CEA
Experimentais					
F. arroz fermentada	88,55	53,36	60,26	—	—
F. arroz	83,00	65,77	79,24	2,12	0,10
Caseína	96,30	80,90	84,00	2,90	0,30

média de 6 repetições

A dieta que apresentou o maior consumo protéico foi a dieta de caseína seguida pela farinha de arroz e farinha fermentada com *Rhizopus oligosporus* por 50 horas. Biologicamente a resposta não foi condizente com o cômputo químico, que apresentou como sendo mais completa a proteína do arroz fermentado.

A Tabela 5 apresenta o consumo protéico dos animais durante as 4 semanas do ensaio biológico.

TABELA 5
CONSUMO PROTÉICO DOS ANIMAIS (G/SEMANA)
MÉDIA DE 6 ANIMAIS.

Dieta	Semana				
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª
Caseína	9,3	9,3	9,2	9,8	37,6
Far. arroz	8,6	9,1	8,9	7,2	33,8
Far. arroz fermentada	6,2	4,7	4,1	3,6	18,6

Os animais da dieta de arroz fermentado, embora tenham consumido proteínas, apresentaram um peso que ficou bem próximo ao da dieta aprotéica. A dieta de caseína se distanciou quanto ao peso dos animais, bem como quanto ao consumo protéico. A dieta de arroz apresentou ganho em peso abaixo do da dieta de caseína e superior ao da dieta de farinha de arroz fermentada.

A partir deste ensaio pode-se concluir que a qualidade nutricional da farinha de arroz após a fermentação com *R. oligosporus*, apresentou-se inferior no ensaio biológico em relação à farinha de arroz antes da inoculação, porém nas análises químicas apresentou resultados superiores, e que não é possível, sem a complementação com outros produtos, obter com essas farinhas um produto que seja satisfatório quanto ao conteúdo protéico.

Os produtos da farinha de arroz poderiam ser utilizados em sopas, pudins, cremes, etc., porém, com a necessidade de serem feitas receitas testes.

REFERÊNCIAS

1. Association of Official Agriculture Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12th ed. Washington D. C., The Association, 1975, 1018p.
2. De Angelis, R.C. & L.A. Amaral. Sensibilidade de diferentes métodos biológicos para diferenciar valor protéico de alguns alimentos. Arch. Latin. Nutr., 31:253-69. 1981.
3. Dubois, M.; K.A. Gilles; J.K. Hamilton; P.A. Rebers; F. Smith Colorimetric Method for determination of sugar and related substances. Anal. Chem., 28:350-2. 1956.
4. Food and Agriculture Organization. Aminoacid scoring pattern. Rome, FAO. 1981. 173p.
5. Gregory, K.F.; A.E. Reade; G.L. Khor; J.C. Alexander; J.H. Lumsden; G. Losos. Conversion of carbohydrates to protein by high temperature fungi. Food Technol. 30(3):30-5. 1976.
6. Hugli, T.E. & S. Moore. Determination of the tryptophan content of protein by ion-exchanges chromatography of alkaline hydrolysates. J. Biol. Chem. 247:2828-34. 1972.
7. Kakade, M.L. & I.E. Liener. A simplified procedure for the determination of «available» lysine in protein and protein foodstuffs. anal. Biochem. 27:273-5. 1969.
8. Kihlberg, R. The microbe as a source of foods. Ann. Rev. Microbiol. 26:247-66. 1972.
9. Litchfield, J.H. Production of single-cell protein for use in food or feed. In: PEPPPLER, H.J. & PERLMAN, D. Microbial technology; microbial processes. 2.ed. New York, Academic Press. 1979. V.I., cap. 4, p.93-155.
10. Lowry, O.H.; N.J. Rosebrough; A.L. Farr; R.J. Randall. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-75. 1951.
11. McCready, R.M.; J. Guggolz; V. Silveira; H.S. Owens. Determination of starch and amylose in vegetables. Anal. Chem. 22:1156-8. 1950.
12. Moore, S. On the determination of cysteine as cysteic acid. J. Biol. Chem., 238:235-37. 1963.
13. Osborne, T.B.; L.B. Mendel; E.L. Ferry. A method of expressing numerically the growth promoting value of protein. J. Biol. Chem. 37: 223-5. 1919.
14. Pechnik, E. & L.R. Guimarães. Sobre o aproveitamento da folha de mandioca (*Manihot sp*) na alimentação humana. III. Mandioca Mansa. Arq. Bras. Nutr. 18(1/22):25:36. 1962.
15. Pimentel Gomes, F. Curso de Estadística experimental. 10 ed. São Paulo, Nobel. 1982. 430 p.
16. Reade, A.E. & K.F. Gregory. High temperature production of protein enriched feed from cassava by fungi. App. Microbiol. 30:897:904. 1975.
17. Senez, J.C. Solid state fermentation of starchy substrate. In: CONFERENCE ON THE STATE OF THE ART OF BIOCONSERVATION OF ORGANIC RESIDUES FOR RURAL COMMUNITIES, Guatemala, 13-15, november. 1978. Proceedings. p. 18-20.
18. Silva, P.D. da. O arroz como alimento. Lav Arrozreira. 22(252):4-10. 1969.
19. Solomons, G.L. Fungal Microbiology Group Symposium, March, 1972; Food from fungi. J. Sci. Food Agric. 24:637-9, 1973.
20. Somogyi, M. A new reagent for the determination of sugars. J. Biol. Chem. 160:61-8. 1945.
21. Spicer, A. Protein production by micro-fungi. Trop. Sci. 13:239-50. 1971.
22. Teixeira, J.P.F. & L.E. Azzini. Teores de Proteína, óleo, lisina e triptofano em grãos integrais de diversos cultivares de arroz. Bragantia. 35:453-9. 1976.
23. Thiemann, J.E. Produção de enzimas por fermentação em substrato semi-sólido com especial referência às celulases. In SIMPOSIO DE HIDROLISE ENZIMÁTICA E BIOMASSA, 3, Maringá, 1987. Anais. p. 107-31.