

## Área: Ciência de Alimentos

# AVALIAÇÕES HEMATOLÓGICAS EM RATAS WISTAR QUE CONSUMIAM DIETAS COM *Spirulina* LEB-18 EM TAMANHOS MICROMÉTRICO E NANOMETRICO

**Adriana Rodrigues Machado\***; **Leticia M. de Assis**; **Rosane da Silva Rodrigues**; **Mírian R.G. Machado**; **Leonor Almeida de Souza-Soares**

*Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos-FURG*

\*E-mail: [adriana.rodriguesmachado@yahoo.com.br](mailto:adriana.rodriguesmachado@yahoo.com.br)

**RESUMO:** A microalga *Spirulina* é classificada como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) não apresentando toxicidade, sendo permitida como suplemento alimentar pela FDA. O objetivo do presente estudo foi realizar avaliações hematológicas em ratas wistar que consumiram dietas contendo, como fonte proteica: caseína e *Spirulina* LEB-18 em tamanhos micro e nanométrico, respectivamente. As avaliações hematológicas no sangue das ratas cepa Wistar/ UFPEL mostram que as dietas contendo *Spirulina* Leb-18, em tamanhos micrométrico e nanométrico, quando comparadas com grupo dieta caseína, não diferiram significativamente entre si. Conclui-se que as dietas contendo a cepa *Spirulina* LEB 18, nos tamanhos micro e nanométrico, por terem apresentado comportamento semelhante ao da dieta caseína indicam condições de serem utilizadas como fonte proteica alternativa.

## 1 INTRODUÇÃO

A *Spirulina* é uma cianobactéria filamentosa, aeróbia fotossintética, tipicamente procariótica com parede celular, membrana celular, ribossomas e região nuclear, sem núcleo verdadeiro (BROCK & MADIGAN, 1991).

A microalga é classificada como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) não apresentando toxicidade, sendo permitida como suplemento alimentar pela FDA (PARISI et al., 2009; AMBROSI et al., 2008). No Brasil a ANVISA permite a sua comercialização desde que o produto final (cápsula, pó ou produtos no qual a microalga tenha sido adicionada) esteja devidamente registrado, e a recomendação diária de consumo do produto é de no máximo 1,6 g (BRASIL, 2009).

Contudo, a utilização de *spirulina* como alimento tem sido exaustivamente discutida na literatura específica (TRANQUILLE, et al.,1998; GRISTEAD, et al.,2000). Além de ser uma boa fonte de proteínas, minerais e vitaminas, a *spirulina* não apresenta toxicidade para seres humanos e não traz prejuízos para o desenvolvimento de órgãos e tecidos (SALAZAR et al.,1998).

O objetivo do estudo foi realizar avaliações hematológicas, que quantificassem os valores de hematócrito, hemoglobina, eritrócitos, albumina e proteínas totais em ratas wistar que consumiam dietas contendo como fonte proteica *Spirulina* LEB-18, em tamanhos micrométrico e nanométrico.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A biomassa da microalga *Spirulina* LEB 18 foi fornecida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB cepa-18), isolada da lagoa Mangueira, RS, Brasil (MORAIS et al., 2008) e suplementada com 20% do meio Zarrouk (COSTA, COLLA, DUARTE- FILHO, 2004).

### 2.1 Ingredientes para elaboração das dietas

Caseína (SIGMA), L-cistina, cloridrato de colina, minerais, mistura vitamínica (manipulação farmacêutica), óleo de soja, sacarose, fibra de trigo e amido de milho. A mistura mineral foi obtida através da pesagem e homogeneização dos minerais p.a. (REEVES et al., 1993). As dietas depois de confeccionadas e pelletizadas foram analisadas, quanto à sua composição proximal, pelos métodos do Instituto Adolfo Lutz, 2008.

### 2.2 Ensaio Biológico

Foram utilizadas 18 fêmeas, cepa Wistar/UFPEL, com 21 dias, divididas por sorteio randômico, em três grupos de 6. O ensaio ocorreu no Laboratório de Experimentação Animal do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, da UFPEL, com temperatura e umidade relativas na faixa de 22-24°C e 65-75%, respectivamente, e ciclo claro/escuro de 12 horas. Teve duração de 15 dias, sendo 4 dias de adaptação e 11 dias de experimento. Foram preparadas três dietas: C – caseína, Sm-*Spirulina* Micro e Sn – *spirulina* nano, seguindo as recomendações da AIN-93G, (REEVES et al., 1993).

As ratas foram mantidas em gaiolas metabólicas individuais, recebendo dieta, com registro diário de consumo, e água *ad libitum*; sendo o controle de peso realizado no período de adaptação, no início, na metade e no final do experimento, para determinação do ganho.

No 15º dia foram submetidas à eutanásia, utilizando-se decapitação (guilhotina), de acordo com as recomendações da Comissão de Ética da UFPEL – protocolo nº 23110.000978/2010-91. Para as análises estatísticas foi utilizada a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey com nível de significância  $p < 0,05$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 a seguir apresenta os indicadores hematológicos de ratas wistar do experimento.

Tabela 1. Indicadores hematológicos das ratas cepa Wistar/ UFPEL que consumiram as dietas contendo caseína, *Spirulina* Leb-18 em tamanhos micro e nanométrico

Dieta	Indicadores				
	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g/dL)	Albumina (g/dL)	Proteínas totais (g/dL)	Eritrocitos (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )
C	39,76±2,20 <sup>a</sup>	12,9±0,84 <sup>a</sup>	3,32±0,16 <sup>a</sup>	6,12±0,31 <sup>a</sup>	7,06±0,25 <sup>a</sup>
Sm	39,58±1,78 <sup>a</sup>	12,84±0,66 <sup>a</sup>	3,30±0,15 <sup>a</sup>	5,72±0,18 <sup>a</sup>	7,08±0,42 <sup>a</sup>
Sn	41,1±3,18 <sup>a</sup>	13,58±1,34 <sup>a</sup>	3,22±0,095 <sup>a</sup>	5,92±0,29 <sup>a</sup>	7,49±0,32 <sup>a</sup>

C – caseína, Sm-*Spirulina* Micro e Sn – *Spirulina* nanométrico

Dentre valores de hematológicos para roedores, os de Hematócrito variam entre 36 e 48% (HARKNESS & WAGNER, 1993), comprovando assim os níveis fisiológicos do hematócrito apresentado em todos os grupos neste trabalho, os quais estão de acordo com outros estudos (BOAVENTURA et al., 2003; DUARTE et al., 2009).

Os valores de hemoglobina dos ratos que receberam as diferentes dietas não diferiram estatisticamente, entre si, neste trabalho estando dentro da faixa de valores de hemoglobina para roedores, que oscilam de 11 a 18% (HARKNESS & WAGNER, 1993). Estudos comprovaram que o uso de *Spirulina* numa concentração bem superior a deste estudo (24%) em associação com produtos vegetais apresentaram teores de hemoglobina aumentados em ratas, durante a gestação e lactação (KAPPOR & MEHTA, 1993). Com relação às proteínas totais, deste estudo, apresentadas na tabela (5,72-6,12g/dL<sup>-1</sup>), estão de acordo com Moreira (2010) e Moreira et al, 2013, que verificou em seu trabalho sobre efeito de diferentes concentrações de *Spirulina*, em torno de 6,00-6,11g/dL de proteínas totais no sangue.

De acordo com Marco (2008) citando Sanchis e Silbiger(1986), a albumina plasmática é boa indicadora do estado nutricional e, neste caso, os valores de ambos índices apresentam-se dentro dos padrões de normalidade para a espécie em estudo.

### 4 CONCLUSÃO

Os dados hematológicos referentes aos valores de hematócrito (%); hemoglobina (g/dL), eritrócitos (10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>), proteínas totais (g/dL) e albuminas (g/dL) nos levam a concluir que os resultados das dietas experimentais avaliadas, contendo a *Spirulina* LEB-18, nos tamanhos micro e nanométricos foram semelhantes aos da dieta caseína.

## 5 REFERÊNCIAS

- AMBROSI M.; "Propriedades de saúde da microalga *Spirulina*"; *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*v.29, p.,115-123,2008.
- BOAVENTURA, G. et al. Ganho de peso, hemoglobina e hematócrito de ratos recebendo dieta de Quissamã, RJ, com ou sem suplemento alimentar alternativo. *Rev. Nutr.*, v. 16, n. 3, p. 321-331, 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos - Lista dos Novos Ingredientes aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, maio de 2009.
- BROCK, T. D.; MADIGAN, M. T. **Biology of Microorganisms**. 6ed. Englewood Cliffs:Prentice Hall 573, 717-719, 1991.
- COSTA, J.A.V.; COLLA, L.M.; DUARTE-FILHO, P.F. *Bioresour. Technol.* 92, 237. 2004.
- DUARTE, A. L. L., CATTELAN, J. W., BEZERRA, M. B., VICENTE, W. R. R., CORDEIRO, M. F.; Hemogram and blood biochemistry of goats submitted to video laparoscopic guided hepatic biopsy with trucut needle. *ARS VETERINARIA, Jaboticabal,SP*, v.25, n.2, 047-053, 2009. ISSN 0102-638.2009.
- GRINSTEAD, G.S; TOKACH, M.D; DRITZ, S.S; GOODBAND, R.D; NELSEN, J.L.; Efeitos da *Spirulina plantensis* sobre o desempenho de leitões desmamados. *Anim Sci Technol Alimentação*; 83:237-47, 2000.
- HARKNESS, J; WAGNER, J.E. **BIOLOGIA E CLINICA DE COELHOS E ROEDORES**.ROCCA 3ªED.SÃO PAULO, 1993.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4ª. Ed. 1ª edição digital. 1020, 2008.
- KAPPOR, S. J.; MEHTA, U. Iron Status and growth of rats fed different dietary iron sources. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 44, n. 1, p.29-34, 1993.
- MARCO,P.L..**Avaliação Da Biodisponibilidade De Nutrientes Em Multimisturas Acrescidas De *Spirulina Platensis***. Rio Grande. 84p.Dissertação De Mestrado (Engenharia e Ciência de Alimentos) Universidade Federal do Rio Grande(Furg), 2008.
- MORAIS M. G. DE, COSTA J. A. V. *Ciênc. Agrot. Lavras*.32, 1245, 2008.
- MOREIRA, L. M.; **Efeito de diferentes concentrações de *Spirulina* nos perfis Bioquímico, Hematológico e Nutricional de Ratos Wistar Nutridos e desnutridos**. Dissertação de Mestrado (Engenharia e Ciência de Alimentos) Universidade Federal do Rio Grande(Furg), 2010.
- MOREIRA, L. M.; BEHLING, B.del S.; RODRIGUES, R. da S.; COSTA, J.A. V. and SOUZA-SOARES, L.A. *Spirulina* as a Protein Source in the Nutritional Recovery of Wistar Rats. **Braz. Arch. of Biol.Technol.** vol 56,n.3 :pp, 447-456, May/June, 2013 ISSN 1516-8913.
- PARISI, A.S.; YOUNES, S.; REINEHR, C.O.; COLLA, L.M. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*, 30,297, 2009.
- REEVES, P. G., NIELSEN, F. H., FAHEY, G. C. AIN-93 PURIFIED DIETS FOR LABORATORY RODENTS: FINAL REPORT OF THE AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION AD HOC WRITING

COMMITTEE ON THE REFORMULATION OF THE AIN-76A RODENT DIET. **J. NUTRITION**. V.123, N.10, P.939-1951, 1993.

SALAZAR, M; MARTINEZ, E; MADRIGAL, E; RUIZ, L.E; CHAMORRO G. A. Estudo de toxicidade subcrônica em ratos alimentados com *Spirulina* maxima. **J Ethnopharmacol.**, 62:235-41;1998.

SANCHIS, F, S. SILBERG, H.L.N.; **Animais De Laboratório-Purina**.São Paulo:Purina Alimentos Ltda.,1986.

STATISTICA,Statsoft (dataanalysis software system)versin 7 for Windows.www.statsoft.com.2004.

TRANQUILLE N, EMEIS JJ, CHAMBURE D, BINOT R, TAMPONNET C. Ensaio de aceitabilidade *Spirulina* em ratos. Um estudo para o "Melissa" sistema de suporte de vida. **Adv Espaço Res**. 14:167-70;1994.