

Compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e antifúngica de multimisturas enriquecidas com a microalga *Spirulina platensis*

Total phenolic compounds, antioxidant and antifungal activities of multimixtures enriched by adding microalgae *Spirulina platensis*

RIALA6/1188

Vânia da Silva BIERHALS¹, Vanessa Goulart MACHADO¹, Walesca Oliveira ECHEVENGUÁ¹, Jorge Alberto Vieira COSTA¹, Eliana Badiale FURLONG^{1*}

*Endereço para correspondência: Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Campus cidade, Caixa Postal 474, CEP 96201-900, Rio Grande, RS, Brasil, e-mail: dqmebf@furg.br

¹Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande.

Recebido: 17.11.2008 – Aceito para publicação: 19.04.2009

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o conteúdo fenólico e as atividades antioxidantes e antifúngicas de multimisturas enriquecidas com *Spirulina platensis*, foram formuladas quatro multimisturas com farelo de arroz ou trigo, duas contendo *Spirulina platensis* e duas com sementes de girassol. Os compostos fenólicos foram estimados pela técnica de Folin-Ciocalteu. A atividade antioxidante foi avaliada por meio de inibição do radical livre DPPH e a atividade antifúngica foi analisada por meio de ensaio de inibição do halo de crescimento de *Aspergillus orizae*. O conteúdo de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante nas multimisturas contendo farelo de arroz foram em média 0,6 vezes superiores aos encontrados nas multimisturas contendo farelo de trigo. As multimisturas formuladas com 1% da microalga não apresentaram diferença significativa ($\alpha=0,05$) quanto ao conteúdo fenólico, quando comparadas às multimisturas padrão. A multimistura contendo farelo de arroz e *Spirulina platensis* apresentou maior atividade antioxidante, em comparação à multimistura padrão com o mesmo farelo, ao contrário do observado nas multimisturas contendo farelo de trigo, o que indica que a associação do farelo de arroz com a microalga é mais eficiente do que a formulação com farelo de trigo quanto à proteção contra processos oxidantes. Quanto à atividade antifúngica, as multimisturas com farelo de trigo apresentaram 28% de inibição, comparado a 21% das multimisturas contendo farelo de arroz.

Palavras-chave. farelos, microalga, compostos fenólicos, antioxidantes, atividade antifúngica.

ABSTRACT

With the objective to evaluate the phenolic contents, and the antioxidant and antifungal activities of multimixtures formulated with *Spirulina platensis*, four multimixtures were prepared with rice bran or wheat bran, being two containing the *Spirulina platensis*, and sunflower seeds were added into other two formulations. The phenolic contents were estimated by Folin-Ciocalteu technique; antioxidant activity was evaluated through free radical DPPH inhibition test, and the ability to inhibit fungus by means of *Aspergillus orizae* growth halo inhibition assay. The total phenolic contents and antioxidant activity in rice bran-containing multimixtures were on average 0.6 times higher than those showed by wheat bran-containing multimixtures. The multimixtures formulated with 1% of microalgae showed no significant difference ($\alpha = 0.05$) as for phenolic contents, when compared with the standard multimixture. The multimixture containing rice bran and *Spirulina platensis* showed higher antioxidant activity in comparison to the standard multimixture, unlike the result observed in wheat bran-containing multimixtures, which indicates that the combination of rice bran with microalgae is more effective than with wheat bran for preserving from oxidative processes. Regarding to antifungal activity, the multimixtures with wheat bran demonstrated, on average, 28% of inhibition, when compared to 21% of bran rice-based multimixtures.

Key words. bran, microalgae, phenolic compounds, antioxidants, antifungal activity.

INTRODUÇÃO

A presença de compostos fenólicos em diferentes fontes vegetais e microbianas tem sido amplamente explorada na última década. Além do seu potencial funcional, decorrente de compostos antioxidantes presentes em sua composição, a perspectiva de atuarem como conservadores naturais também vêm norteando o interesse da comunidade científica^{1,2,3,4}.

Os antioxidantes agem de várias maneiras, incluindo complexação com íons metálicos, sequestro de radicais livres e decomposição de peróxidos. Muitas vezes, vários mecanismos e mecanismos sinérgicos estão envolvidos⁵. O consumo de alimentos contendo uma significativa quantidade destes compostos pode ajudar o corpo humano a reduzir os danos oxidativos relacionados ao envelhecimento e doenças como arteriosclerose, diabetes, úlcera e câncer^{6,7,8,9}.

A indústria de alimentos está buscando o uso de agentes naturais antimicrobianos e antioxidantes, isolados de plantas, fungos e algas marinhas, para substituir os aditivos sintéticos em alimentos¹⁰, uma vez que estes trazem efeitos prejudiciais à saúde¹¹.

Dentre as fontes naturais que vêm sendo citadas pelo efeito funcional, associadas à capacidade de prevenir processos oxidativos, encontra-se a *Spirulina platensis*^{12,13}. Esta foi estudada por Colla, Furlong e Costa¹⁴, apontando que as condições de cultivo afetam positivamente os teores de compostos fenólicos presentes na microalga. Outra fonte de compostos antioxidantes é o farelo de arroz, que além desta propriedade demonstrou a capacidade de inibir o crescimento de *Aspergillus flavus*¹.

A peroxidação lipídica e a contaminação microbiana são as duas principais causas da deterioração de alimentos durante seu processamento e armazenamento¹⁰. O uso de compostos fenólicos em alimentos susceptíveis a estes processos pode ser promissor especialmente pelo fato de serem conservadores e por aumentarem o aporte de funcionais. Este é o caso das multimisturas, alimentos formulados a base de cereais, para enriquecer a alimentação habitual em minerais e vitaminas e/ou auxiliar no balanceamento da dieta habitual^{15,16}.

A multimistura tem sido distribuída para a população de baixa renda no Brasil desde 1985 por organizações não-governamentais, com o propósito de combater a desnutrição infantil^{17,18}. Esta mistura faz parte da proposta de alimentação alternativa e é preparada a partir de ingredientes de baixo custo e fácil

acesso, geralmente farinhas e farelos de cereais, sementes, pós de folhas verdes e de casca de ovos¹⁹. No entanto, o uso deste suplemento no combate à desnutrição tem gerado opiniões controversas entre as entidades que a difundem e a comunidade científica, além de não ter o seu uso indicado pelo Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição e pelo Conselho Federal de Nutricionistas²⁰.

Empregar *Spirulina platensis* associada a farelos de cereais pode ser uma forma de melhorar este alimento, criticado no meio acadêmico pela falta de comprovação científica de seus efeitos, ausência de controle sanitário, conservação limitada, possível ocorrência de toxinas e de fatores antinutricionais^{21,22,23,24}. Estas considerações nortearam o presente trabalho que teve por objetivo determinar o conteúdo de fenóis totais, a atividade antioxidante e antifúngica em multimisturas adicionadas de *Spirulina platensis*, comparativamente a outra sem adição da microalga.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

As matérias-primas empregadas no preparo das multimisturas foram: farelo de trigo, farelo de arroz integral, farinha de milho, folha de mandioca desidratada em pó, semente de girassol, casca de ovo e a microalga *Spirulina platensis*. As matérias-primas foram adquiridas no comércio local da cidade do Rio Grande/RS, com exceção da microalga, que foi fornecida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da FURG.

Métodos

■ Preparo da multimistura

A semente de girassol, a *Spirulina platensis* e a casca de ovo foram moídas em moinho de facas multiuso TECNAL a 150 rpm durante 180 segundos. Todos os ingredientes foram peneirados e as frações passantes na malha com abertura de 0,56 mm foram utilizadas no preparo das multimisturas, através de homogeneização manual. As amostras foram mantidas em frascos de vidro, à temperatura ambiente (16 a 22°C) e ao abrigo da luz. As multimisturas foram avaliadas quanto ao seu conteúdo de compostos fenólicos, atividade antioxidante e antifúngica, sendo que as duas primeiras determinações foram repetidas ao final de 14 e 28 dias de armazenamento, para verificar a possível degradação dos compostos e consequente alteração da atividade antioxidante. Na Tabela 1 estão descritos os percentuais dos ingredientes das quatro formulações de multimisturas utilizadas neste trabalho.

Tabela 1. Formulação das multimisturas estudadas

Matéria-Prima	MMA1 (%)	MMT1 (%)	MMA (%)	MMT (%)
Farelo de Trigo	-	70	-	70
Farelo de Arroz	70	-	70	-
Farinha de Milho	19	19	19	19
Folha de Mandioca	5	5	5	5
Spirulina platensis	1	1	-	-
Semente de Girassol	-	-	1	1
Casca de ovo	5	5	5	5

MMA1: Multimistura contendo farelo de arroz e 1% de *Spirulina platensis*.

MMT1: Multimistura contendo farelo de trigo e 1% de *Spirulina platensis*.

MMA: Multimistura contendo farelo de arroz e 1% de semente de girassol.

MMT: Multimistura contendo farelo de trigo e 1% de semente de girassol.

■ Extração dos compostos denólicos

A extração dos compostos fenólicos das multimisturas foi realizada a frio com álcool metílico na proporção de 1:4 massa seca-solvente, sob agitação horizontal a 80 rpm, durante 3 horas, a temperatura de 40°C, seguida de partição com hexano, clarificação com hidróxido de bário 0,1M e sulfato de zinco 5%. O precipitado foi separado por centrifugação e filtração, obtendo-se assim um extrato metanólico clarificado²⁵.

■ Quantificação dos compostos fenólicos

O conteúdo de fenóis totais presente no extrato metanólico clarificado foi quantificado através do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu utilizando o comprimento de onda de 660 nm, empregando-se uma curva analítica de tirosina que variava entre 10 a 50 µg/mL²⁵.

■ Determinação da atividade antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante, foram retiradas alíquotas de 0,1 mL do extrato metanólico clarificado e adicionadas a tubos de ensaio, completando o volume a 1,0 mL com metanol. Na sequência, 3,0 mL de solução de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) em metanol (200µg/mL) foram adicionados aos tubos e estes foram agitados. Os tubos permaneceram em repouso ao abrigo da luz, sendo que ao final de 15, 30, 45 e 60 minutos as absorbâncias foram determinadas em comprimento de onda de 515 nm. A capacidade de sequestrar o radical foi expressa como percentual de inibição dos radicais livres, conforme mostrado na Equação 1³.

$$\% \text{ inibição} = (\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}) / \text{Abs controle} \quad (1)$$

■ Determinação da atividade antifúngica

Os extratos empregados para a determinação da atividade antifúngica foram obtidos por extração com álcool metílico na proporção de 1:4 massa seca-solvente, sob agitação horizontal a 80 rpm, durante três horas, à temperatura de 40°C, seguido de evaporação do solvente em rotaevaporador. O resíduo foi dissolvido em água destilada, com posterior clarificação com hidróxido de bário 0,1M e sulfato de zinco 5%, obtendo-se um extrato aquoso clarificado. A quantificação do teor de fenóis totais presente no extrato aquoso clarificado foi realizada conforme a metodologia já citada anteriormente²⁵.

O fungo filamentosso utilizado no estudo foi cedido pelo Laboratório de Microbiologia da Escola de Química e Alimentos da FURG, mantido em ágar batata dextrose a 4 °C. A suspensão de esporos foi obtida pela propagação em meio ágar batata dextrose, incubação por 10 dias a 30 °C, extração dos esporos do meio com solução 0,2% de ágar puro estéril, filtração e contagem de esporos em câmara de Neubauer.

Para a determinação da atividade antifúngica, foram preparadas placas de petri contendo ágar batata dextrose e o extrato aquoso clarificado obtido das multimisturas (200 mg/mL) e da *Spirulina platensis* (100 mg/mL) em concentrações conhecidas. Como controle, foram preparadas placas contendo meio de cultura e água estéril no mesmo volume adicionado do extrato aquoso clarificado. Foram inoculados 5 µL de uma suspensão contendo esporos de *Aspergillus oryzae* (7x10⁷ esporos/mL) no centro da placa. As placas foram incubadas a 30 °C, durante 7 dias. A inibição foi avaliada pela obser-

vação visual do crescimento do micélio, comparada com placas controle¹.

■ Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos nos experimentos foram analisados estatisticamente através de ANOVA e Teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, com auxílio do programa STATISTIC[®], versão 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

■ Fenóis totais e atividade antioxidante

Na Tabela 2 estão os resultados das determinações dos compostos fenólicos totais durante o período de armazenamento. É possível verificar que, ao longo de 28 dias, os teores decresceram progressivamente. A análise de variância indicou diferença estatística significativa, ao nível de 95% de confiança, entre as multimisturas que continham farelo de arroz na sua formulação, nos três períodos avaliados no estudo. Nas multimisturas que continham farelo de trigo, apenas a formulada com 1% de *Spirulina platensis* apresentou diferença estatística significativa após 14 dias de armazenamento. Os resultados indicaram que o acréscimo de 1% de *Spirulina* não causou diferença significativa nos níveis de compostos fenólicos totais, o que pode ter aportado concentrações insuficientes para prevenir danos oxidativos e pela atividade de água do meio não propiciar a difusão eficiente do antioxidante. O conteúdo de compostos fenólicos totais nas multimisturas contendo farelo de arroz foi, em média, 0,6 vezes superior ao conteúdo das multimisturas contendo farelo de trigo.

A atividade antioxidante de um determinado extrato pode estar relacionada com o conteúdo de compostos fenólicos totais conforme tem sido demonstrado em vários estudos e no caso de Colla, Furlong e Costa¹⁴ e Estrada, Bescós e Villar Del Fresno²⁶ esta relação ficou demonstrada.

Os resultados encontrados para a porcentagem de inibição de radicais livres em uma concentração de 3,7 mg/mL de compostos fenólicos totais nas multimisturas estão apresentados na Tabela 3. Os extratos de multimisturas com farelo de arroz, que continham maior concentração de compostos fenólicos totais, apresentaram também maior percentual de inibição de radicais livres.

Em relação à *Spirulina platensis*, observou-se que a multimistura contendo farelo de arroz adicionada da microalga apresentou maior atividade antioxidante, comparada a multimistura padrão com o mesmo farelo. O mesmo comportamento não foi observado nas multimisturas contendo farelo de trigo, indicando que a associação do farelo de arroz com a microalga é mais efetiva do que com farelo de trigo em termos de proteção contra processos oxidativos na etapa de formação de radicais livres, possivelmente pelo efeito sinérgico dos compostos antioxidantes do farelo com os fenóis da microalga. Um efeito semelhante foi encontrado por Altunkaya, Becker, Gökmen e Skibsted²⁷, que determinaram a atividade antioxidante do extrato de alface (*Lactuca sativa*) e a ação sinérgica com antioxidantes fenólicos adicionados ao extrato.

Da mesma forma que observado para o conteúdo de compostos fenólicos, o percentual de inibição de radicais livres foi diminuindo durante o armazenamento, indicando o consumo dos antioxidantes ao longo do

Tabela 2. Conteúdo fenólico total determinado durante 28 dias de armazenamento

Multimistura	[] µg /g de amostra (bs)			
	0 dia*	14 dias*	28 dias*	**
MMA1	868 ^a	833 ^b	746 ^c	982 ^d
MMA	870 ^a	833 ^b	746 ^c	980 ^d
MMT1	552 ^a	491 ^b	482 ^b	425 ^c
MMT	521 ^a	513 ^a	509 ^a	446 ^b
<i>Spirulina platensis</i>	-	-	-	858

Letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ($\alpha < 0,05$); bs: base seca; *determinação no extrato metanólico clarificado; **determinação no extrato aquoso clarificado.

Tabela 3. Variação da inibição dos radicais livres DPPH (%) em extratos de multimistura durante 28 dias de armazenamento

	MMA1			MMA			MMT1			MMT		
	0 dia	14 dias	28 dias	0 dia	14 dias	28 dias	0 dia	14 dias	28 dias	0 dia	14 dias	28 dias
15 min.	63,8 ^a	62,2 ^a	60,0 ^b	59,1 ^a	55,4 ^b	54,3 ^b	40,9 ^a	33,4 ^b	29,2 ^c	41,7 ^a	36,9 ^b	36,6 ^b
30 min.	73,5 ^a	71,7 ^a	66,2 ^b	64,9 ^a	58,5 ^b	59,2 ^b	44,3 ^a	37,1 ^b	30,9 ^c	44,2 ^a	40,3 ^b	38,8 ^c
45 min.	79,5 ^a	78,3 ^a	70,1 ^b	68,5 ^a	66,2 ^b	64,1 ^c	47,9 ^a	38,8 ^b	31,1 ^c	45,5 ^a	42,6 ^b	42,1 ^b
60 min.	82,0 ^a	80,2 ^b	69,4 ^c	70,5 ^a	68,6 ^a	65,7 ^b	48,2 ^a	40,3 ^b	34,1 ^c	48,2 ^a	43,8 ^b	44,3 ^b

Letras iguais na mesma linha (para cada multimistura) indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ($\alpha < 0,05$).

tempo, para estabilização dos radicais livres. A exemplo da multimistura com farelo de trigo e 1% de *Spirulina platensis* (MMT1) que no tempo zero apresentou uma inibição específica de 1,5%/min/mg e ao final de 28 dias apresentou inibição de 1,2%/min/mg. O mesmo comportamento foi verificado nas demais multimisturas quando se estimou a inibição específica.

■ Atividade antifúngica

Há muitos indícios que compostos fenólicos apresentam comprovada ação antifúngica e esta pode ocorrer, entre outros mecanismos, pela inativação de sistemas enzimáticos dos microrganismos envolvidos na produção de energia e na síntese de componentes estruturais¹.

Pela Tabela 2 pode ser observado que nas multimisturas contendo farelo de arroz o conteúdo fenólico determinado no extrato aquoso clarificado foi, em média, o dobro do presente nas multimisturas contendo farelo de trigo. Na microalga *Spirulina platensis*, os valores de concentração de compostos fenólicos foram próximos ao total das multimisturas formuladas com farelo de arroz.

O teste de atividade antifúngica avaliado pela inibição do halo de crescimento do *Aspergillus orizae* permitiu verificar quais os extratos mais efetivos e estimar os níveis de fenóis totais para a manifestação do efeito. A Tabela 4 mostra os resultados do crescimento das colônias em presença dos extratos fenólicos medidos no 3°, 5° e 7° dia de incubação. Em presença dos extratos fenólicos, houve tendência à diminuição da velocidade de crescimento fúngico. Fato que não foi observado nas multimisturas onde o número de UFC variou entre 4,8 a

$9,9 \times 10^4$ ufc/g ao longo do armazenamento. Possivelmente este potencial inibidor dos compostos fenólicos possa não ter sido eficiente nas condições de atividade de água da formulação (em média 8,6% de umidade).

A partir dos diâmetros médios das colônias dos extratos e do controle, foi possível determinar o efeito inibitório dos extratos fenólicos das multimisturas e da microalga *Spirulina platensis* nas diferentes concentrações estudadas, durante o período de incubação, conforme mostra a Figura 1.

Pode ser verificado que a inibição fúngica nem sempre está relacionada com a concentração dos compostos fenólicos nos extratos, como, por exemplo, no caso das multimisturas formuladas com farelo de trigo e da microalga *Spirulina platensis*, onde em concentrações menores de fenóis (28 e 29 $\mu\text{g fenóis/mL}$ ágar), a inibição fúngica foi de $3,1 \cdot 10^{-3}$ cm/ $\mu\text{g fenóis/dia}$ e $2,9 \cdot 10^{-3}$ cm/ $\mu\text{g fenóis/dia}$, respectivamente. Enquanto as multimisturas com farelo de arroz, que continham maior concentração de compostos fenólicos (84 $\mu\text{g / mL}$ ágar), atingiram apenas $1,5 \cdot 10^{-3}$ cm/ $\mu\text{g/dia}$ de inibição. Tal característica sugere a necessidade de se identificar os compostos fenólicos existentes nos extratos, considerando que alguns possuem atividades antimicrobianas maiores ou menores em consequência de sua estrutura química¹.

O menor crescimento fúngico verificado nos extratos de multimisturas formuladas com farelo de trigo, também pode ser atribuído à presença de inibidores de α -amilase, que atuam na defesa de plantas contra predadores e microrganismos e que estão presentes nesta matéria-prima, como mencionam Grossi de Sá e Chrispeels²⁸. No meio elaborado com 9 μg de

Tabela 4. Diâmetros médios de crescimento do *Aspergillus oryzae* em presença dos extratos fenólicos

Extrato	Volume de extrato (mL)	Concentração (µg/mL ágar)	Diâmetro da colônia (cm)		
			3° dia	5° dia	7° dia
MMA1	10	65	1,6 ^{a, d}	2,6 ^a	3,5 ^{a, d}
MMA1	15	84	1,5 ^a	2,4 ^b	3,1 ^b
MMA	10	65	1,7 ^{b, d}	2,6 ^a	3,4 ^{a, d}
MMA	15	84	1,5 ^a	2,4 ^{b, d}	3,2 ^{b, d}
MMT1	10	28	1,6 ^{a, d}	2,6 ^a	3,4 ^{b, d}
MMT1	15	36	1,5 ^{a, e}	2,3 ^{b, e}	2,8 ^{b, e}
MMT	10	30	1,7 ^{b, d}	2,7 ^a	3,3 ^{b, d}
MMT	15	38	1,5 ^{a, f}	2,3 ^b	3,0 ^{b, e}
<i>Spirulina platensis</i>	5	9	1,8 ^{b, g}	2,8 ^c	3,9 ^c
<i>Spirulina platensis</i>	10	29	1,8 ^{b, g}	2,8 ^c	3,4 ^{b, d}
<i>Spirulina platensis</i>	15	37	1,6 ^{a, d}	2,4 ^b	3,0 ^{b, e}
Controle	-	-	1,8 ^{c, g}	2,9 ^c	4,0 ^c

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ($\alpha < 0,05$).

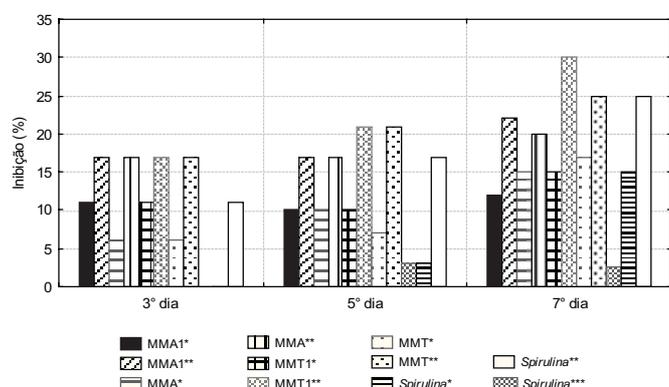


Figura 1. Efeito inibitório dos extratos fenólicos no crescimento fúngico durante o período de incubação, para diferentes volumes de extratos adicionados: *10mL, **15mL, ***5 mL.

extrato fenólico de *Spirulina platensis* por mL de ágar, correspondente ao teor de 1% desta na multimistura, não houve efeito inibitório do fungo até o 3° dia de incubação, mas entre o 5° e 7° dias a inibição foi de aproximadamente 3%. Quando o meio continha 37 µg /mL ágar ocorreu inibição de 11, 17 e 25% nos 3°, 5° e 7° dias de incubação, respectivamente. Isto sugere que, para o efeito inibidor da microalga sobre a vida útil de multimisturas, no que se refere à inibição fúngica, são necessários aproximadamente 4% da

microalga na formulação, valor este que precisaria ser estudado quanto aos seus outros efeitos biológicos e os níveis recomendados pela legislação para emprego de microrganismos em formulação alimentícias.

CONCLUSÃO

As multimisturas a base de farelo de arroz apresentaram conteúdo de compostos fenólicos totais em torno de 0,6 vezes superior aos das multimisturas a base de farelo de trigo e a microalga *Spirulina platensis* apresentou conteúdo similar ao das multimisturas contendo farelo de arroz (858 µg/g). O acréscimo de 1% de *Spirulina* não ocasionou diferença significativa no teor de compostos fenólicos das multimisturas.

Os extratos das multimisturas formuladas com farelo de arroz apresentaram percentual de inibição de radicais livres 0,6 vezes superior aos das multimisturas formuladas com farelo de trigo. Além disso, a multimistura contendo farelo de arroz adicionada da microalga apresentou maior atividade antioxidante, comparada a multimistura padrão com o mesmo farelo. Efeito que não foi observado nas multimisturas contendo farelo de trigo, indicando que a associação do farelo de arroz com a microalga é mais efetiva do

que com farelo de trigo em termos de proteção contra processos oxidativos.

A inibição fúngica não foi diretamente relacionada com níveis de compostos fenólicos presente nos extratos, pois nas multimisturas a base de farelo de trigo e com a microalga *Spirulina platensis* foram verificadas atividades antifúngicas superiores às obtidas nas multimisturas a base de farelo de arroz, que continham as maiores concentração dos compostos fenólicos.

REFERÊNCIAS

- Oliveira MS, Badiale-Furlong E. Screening of antifungal and antimycotoxigenic activity of plant phenolic extracts. *World Mycotoxin Journal* 2008; 2 (1): 1-10.
- Shahid F, Alasalvar C, Liyana-Pthirana C. Antioxidant Phytochemicals in Hazelnut Kernel (*Corylus avellana*, L.) and hazelnut byproducts. *J Agric Food Chem* 2007; 55 (4): 4705-12.
- Broinizi PRB, Andrade-Wartha ERS, Silva AMO, Novoa AJV, Torres RP, Azeredo HMC. et al. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). *Cienc Tecnol Aliment* 2007; 27 (4): 902-8.
- Hassimotto NMA, Genovese IM, Lajolo FM. Antioxidant activity of dietary fruits vegetables and commercial frozen fruit pulps. *J Agric Food Chem* 2005; 53 (8): 2928-35.
- Oliveira AC, Valentim IB, Silva CA, Bechara EJH, Barros MP, Mano CM, Goulart MOF. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. *Food Chem* 2009; 115 (2): 469-75.
- Repetto MG, Llesuy SF. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Braz J Med Biol Res* 2002; 35 (5): 523-34.
- Sachidanandam K, Fagan SC, Ergul A. Oxidative stress and cardiovascular disease: Antioxidants and unresolved issues. *Cardiovasc Drug Rev* 2005; 23 (2): 115-32.
- Halliwell B. Oxidative stress and cancer: Have we moved forward? *Biochem J* 2007; 401 (1): 1-11.
- Shah SV, Baliga R, Rajapurkar M, Fonseca VA. Oxidants in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18 (1): 16-28.
- Cao L, Si JY, Liu Y, Sun H, Jin W, Li Z, Zhao XH, Le Pan R. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim. *Food Chem* 2009; 115 (3): 801-5.
- Devi MKA, Gondi M, Sakthivelu G, Giridhar P, Rajasekaran T, Ravishankar GA. Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. *Food Chem* 2009; 114 (3): 771-6.
- Miranda MS, Cintra RG, Barros SBM, Mancini-Filho J. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31 (8): 1075-9.
- Bermejo P, Piñero E, Villar AM. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chem* 2008; 110(2): 436-45.
- Colla LM, Badiale EF, Costa JAV. Antioxidant properties of *Spirulina (Arthospira) platensis* cultivated under different temperature and nitrogen regimes. *Braz Arch Biol Technol* 2007; 50 (1): 161-7.
- Brandão CT, Brandão RF. *Alimentação Alternativa*. Brasília: Centro de Pastoral Popular, Ed. Redentorista, 1996; 68p
- Vizeu VE, Feijó MBS, Campos RC. Determinação da composição mineral de diferentes formulações de multimistura. *Ciênc Tecnol Aliment* 2005; 25 (2): 254-8.
- Kaminski TA, Silva LP, Bagetti M, Monego MA, Moura GB. Diferentes formulações de multimisturas sobre a resposta biológica em ratos. *Ciência Rural* 2008; 38 (8): 2327-33.
- Siqueira EMA, Arruda SF, Vargas RM, Souza EMT. β -Carotene from cassava (*Manihot esculenta Crantz*) leaves improves vitamin A status in rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2007; 146 (1-2): 235-40.
- Brandão CTT. *Alternativas alimentares*. Goiânia: CNBB/Pastoral da Criança 1988; 67p.
- Sacchet FS, Faria AF, Vasconcellos DGV, Souza-Soares LA, Badiale-Furlong E. Avaliação nutricional de multimisturas - efeito de um processo fermentativo. *Alim Nutr Araraquara*, 2006; 17 (4): 7-13.
- Farfan JA. Alimentação alternativa: análise crítica de uma proposta de intervenção nutricional. *Cad Saúde Pública* 1998; 14 (1): 205-12.
- Ferreira HS, França AOS. Evolução do estado nutricional de crianças submetidas à internação hospitalar. *J Pediatr (Rio de Janeiro)* 2002; 78 (6): 491-6.
- Ferreira HS, Assunção ML, França AOS, Cardoso EPC, Moura FA. Efetividade da "multimistura" como suplemento de dietas deficientes em vitaminas e/ou minerais na recuperação ponderal de ratos submetidos à desnutrição pós-natal. *Rev Nutr* 2005; 18 (1): 63-74.
- Feddern V, Badiale-Furlong E, Soares LAS. Efeitos da fermentação nas propriedades físico-químicas e nutricionais do farelo de arroz. *Ciênc Tecnol Aliment* 2007; 27 (4): 800-4.
- Furlong EB, Colla E, Bortolato DS, Baisch ALM, Souza-Soares LA. Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais. *Vetor Rio Grande* 2003; 13: 105-14.
- Estrada JE, Bescós P, Villar Del Fresno AM. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *II Farmaco* 2001; 56 (5-7): 497-500.
- Altunkaya A, Becker EM, Gökmen V, Skibsted LH. Antioxidant activity of lettuce extract (*Lactuca sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants. *Food Chem* 2009; 115 (1): 163-8.
- Grossi de Sá MF, Chrispeels MJ. Molecular cloning of bruchid (*Zabrotes subfasciatus*) α -amilases cDNA and interactions of the expressed enzyme with bean amylase inhibitors. *Insect Biochem Mol Biol* 1997; 27 (4): 271-81.