**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

**Efeito de duas variedades de feijão
(*Phaseolus vulgaris*) no metabolismo lipídico
de hamsters**

Jéssica Mascaretti Dias

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Nutrição em Saúde
Pública para obtenção do título de Mestre
em Ciências.**

**Área de Concentração: Nutrição em Saúde
Pública**

Orientador: Prof. Tit. José A. Gomes Arêas

São Paulo

2012

**Efeito de duas variedades de feijão
(*Phaseolus vulgaris*) no metabolismo lipídico
de hamsters**

Jéssica Mascaretti Dias

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Nutrição em Saúde
Pública para obtenção do título de Mestre
em Ciências.**

**Área de Concentração: Nutrição em Saúde
Pública**

Orientador: Prof. Tit. José A. Gomes Arêas

São Paulo

2012

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida ***exclusivamente*** para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

Dedico esta conquista aos meus pais, João e Marli e ao meu amado
marido José Carlos, dos quais recebi incentivo e apoio durante a
realização deste trabalho.

“Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável.” Galileu Galilei

Agradecimentos

Ao meu orientador, professor Tit. José Alfredo Gomes Arêas por me receber como aluna e proporcionar a oportunidade de realizar este sonho.

Às professoras Dras Nágila Raquel Teixeira Damasceno e Karoline de Macedo Gonçalves Frota, membros da comissão julgadora, pelo tempo dedicado em ler, corrigir e fazer considerações essenciais para a finalização deste trabalho.

Aos professores Dra. Andrea Guerra e Dr. Gustavo G. Fontanari pelas valiosas correções e colocações para o aprimoramento do projeto.

À querida técnica do Laboratório de Bioquímica e Propriedades Funcionais dos Alimentos, Rosana Aparecida Manólio Soares pelo agradável convívio, amizade, apoio durante os ensaios biológicos, análises e valiosas sugestões para realização e finalização da minha dissertação.

Às queridas colegas de laboratório, Luila Ívini Andrade de Castro e Lilian C. M. de Assis Vaz pelas discussões construtivas e aprendizado durante a estruturação e definição do meu projeto de mestrado.

Aos alunos Nara Letícia, Marcelo Rodrigues, Mariana Séfora e Thais Suraty pelo valioso auxílio nos ensaios biológicos.

À técnica do Laboratório de Bromatologia, Dra Geni Rodrigues Sampaio por me ceder espaço no laboratório e permitir o uso dos equipamentos e pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos colegas de laboratório mais animados e queridos, Mariana Séfora, Amanda Correa, Cintia Silva, Luciana Fontes, Érica Ferreira, Liania, Thaise Mendes, Érica Siguemoto, Marcelo Rodrigues, Gustavo Fontanari, Thais Suraty, e Bianka Caliman pelos deliciosos momentos de descontração.

Ao professor Dr. Paulo Hilário N. Saldiva e sua equipe do Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina da USP pela contribuição nas análises histológicas.

Aos funcionários do Biotério do Instituto de Medicina Tropical e Centro de Bioterismo da USP: Luiza, Andrea, Renato, Carlinhos, Talita, Milena, Robison e Marilda.

À Tereza da Rhoster Comércio LTDA pela atenção e atendimento de excelência na prestação de serviços.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto.

Ao Sr. Bastos pelo auxílio prestado em todos os momentos em que foi solicitado.

Aos meus pais João e Marli e minhas irmãs Camila e Gabriela pelo incentivo e apoio incondicionais.

Ao meu amado marido José Carlos, pela paciência, amor e apoio durante a realização deste projeto e aos meus amados sobrinhos Vitor e Marcela por serem tão especiais e fazerem com que eu enfrentasse tantos desafios com alegria.

A todos aqueles que contribuíram indiretamente para realização deste trabalho: meus amigos educandinhos, meus cunhados, meus sogros e minhas amigas da Etec Getúlio Vargas, Bel e Angela.

Por fim, mas não menos importante agradeço a Deus, por me fazer acreditar nos meus sonhos e por me dar serenidade e inspiração nos momentos da escrita desta dissertação.

Resumo

Dias JM. Efeito de duas variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris*) no metabolismo lipídico de hamsters. [Dissertação de Mestrado - Programa Nutrição em Saúde Pública] São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2012.

Introdução – Os feijões comuns, da espécie *Phaseolus vulgaris*, são amplamente produzidos e consumidos no Brasil. As variedades, carioca e preto ganham destaque na região Sudeste do país. Encontra-se descrita na literatura a ação hipocolesterolemizante de algumas leguminosas, tais como, soja, tremoço e feijão caupi, que podem estar associados à redução do risco de doenças cardiovasculares. **Objetivo** – Avaliar o potencial efeito da adição de farinhas de feijões carioca e preto (*Phaseolus vulgaris*) no metabolismo lipídico de hamsters alimentados com dieta contendo gordura saturada e colesterol. **Métodos** – A produção das farinhas dos feijões envolveu as etapas de autoclavagem, congelamento, liofilização e moagem. As propriedades hipocolesterolemizantes destas farinhas foram avaliadas por meio de dois ensaios biológicos. Foram utilizados hamsters Golden Syrian, machos com 21 dias, pesando 60 ± 4 g, que receberam as dietas experimentais *ad libitum*. No Ensaio A, os animais foram separados em 3 grupos, diferenciados pela dieta. Todas as dietas eram hipercolesterolemizantes [13.5 % de gordura de coco e 0.1 % colesterol] e tinham as mesmas quantidades de proteínas, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais. O Grupo Controle (C) tinha como fonte protéica a caseína; no Grupo Feijão Carioca (FC) a farinha de feijão carioca representou 15 % do peso total da dieta e no Grupo Feijão Preto a farinha de feijão preto representou 15 % do peso total da dieta. No Ensaio B, os animais foram separados em três grupos novamente. Desta vez, a única diferença entre os grupos foi quanto a fonte protéica, para o grupo controle (C) somente caseína, para o grupo feijão carioca (FC), 67 % de feijão e 7,5 % de caseína e para o grupo feijão preto (FP), 62 % de feijão e 7,5 % de caseína. Nos dois ensaios, após 21 dias de experimento, foi realizada coleta de materiais biológicos (plasma, fígado e fezes). **Resultados** – O processo de produção das farinhas de feijões cozidas liofilizadas não alterou a composição centesimal das matérias-primas. A análise de fibras alimentares revelou que não há diferenças entre os cultivares Pérola e Uirapuru. No Ensaio A, as concentrações de colesterol não HDL e HDL colesterol foram maiores nos grupos que receberam feijão de maneira significativa. Quanto aos demais parâmetros plasmáticos não foram observadas diferenças entre os grupos. No Ensaio B as concentrações plasmáticas de triglicerídeos foram maiores

no grupo FP. As concentrações de HDL colesterol foram maiores nos grupos FP e FC, sendo estatisticamente significativa para o feijão carioca em relação ao grupo controle. As excreções fecais de ácidos biliares foram maiores no grupo FC e a de colesterol no grupo C. A determinação de lipídeos totais no fígado não revelou diferenças entre os grupos, dados que corroboraram com a análise do grau de esteatose nos fígados, a qual demonstrou desenvolvimento de acúmulo de lipídeos nos hepatócitos dos animais dos três grupos. O teste *qui quadrado* mostrou que as variáveis grau de esteatose e tipo de dieta, assim como tipo de dieta e grau de inflamação portal hepática são independentes. Já o grau de inflamação parenquimatosa hepática está associado ao tipo de dieta e o feijão carioca mostrou-se capaz de reduzir em 30% o risco de desenvolver esteatoepatite severa.

Conclusões – Os feijões não foram capazes de proteger contra o aumento do colesterol total, triglicérides e colesterol não HDL no plasma, mas mesmo na presença de gordura saturada e colesterol na dieta, o feijão carioca foi capaz de aumentar a HDL, mostrando que o mecanismo de remoção do colesterol plasmático foi preservado. O feijão carioca mostrou-se eficaz na proteção contra a inflamação parenquimatosa hepática severa.

Descritores: *Phaseolus vulgaris*, metabolismo lipídico, hamsters.

Abstract

Dias, JM. Effect of two beans varieties (*Phaseolus vulgaris*) in hamster lipid metabolism [Dissertation]. São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2012.

Carioca and black beans are the varieties of *Phaseolus vulgaris* most consumed on Brazil Southwest. It is well described that some legumes, as soy and cowpea beans, have hypocholesterolaemic effects. To test cholesterol-lowering properties of carioca and black beans, two biological assays were conducted. Golden Syrian hamsters, 21 days old, were housed individually under 12 h light-dark cycle and temperature-controlled environment, with free access to food and water. There was a adaptation period of 6 days, before the start of experimental period. In Assay A, the animals (n=19) were randomly assigned to three distinct groups. All groups received a hypercholesterolaemic diet (13.5 % coconut oil and 0.1 % cholesterol) and similar amounts of proteins, carbohydrates, fiber, vitamins and minerals to suit the animal requirements. Control group received casein as the only protein source; Carioca bean group received 15 % of carioca bean flour and casein to complement protein requirement and Black bean group received 15 % of black bean flour and casein to complement protein requirement. After 21 days, the experimental period was over and liver, blood and feces were collected. In Assay B, all groups also received a hypercholesterolaemic diet (13.5 % coconut oil and 0.1 % cholesterol). In this assay the only difference between groups (n=27) was protein source: casein for control group, and the others received carioca (67 %) or black bean whole seed flour (62 %) plus 7,5 % of casein. The beans flours obtained showed no differences in chemical composition. In Assay A, plasma HDL cholesterol and non-HDL cholesterol were higher in Carioca bean group and Black bean group. The other plasma parameters had no differences. In assay B, plasma triglyceride was higher in Black bean group. The HDL cholesterol was increased in both beans groups, and was significant in Carioca group. Fecal excretion of bile acids was higher in animals of Carioca bean group. Fecal excretion of cholesterol was higher in Control group. There were no differences between groups in total liver lipid concentration, data supporting the steatosis analysis in livers. The *chi-square* test showed that the type of experimental diet and steatosis grade were independents, also the portal hepatic inflammation was not associated with the experimental diets. The parenchymal inflammation of the liver was associated with Carioca bean group, which showed that the chance of developing severe inflammation was

30% lower in carioca bean group compared with Control group. Beans had no cholesterol-lowering effect, but the HDL increases in plasma and lower inflammation in Carioca bean group deserves further investigation.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, lipid metabolism, hamsters.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	18
1.1 NUTRIÇÃO E SAÚDE PÚBLICA	18
1.2 CONSUMO DE FEIJÃO E RECOMENDAÇÕES DIETÉTICAS	19
1.3 PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS DO FEIJÃO	23
1.4 BIOATIVIDADE DOS ALIMENTOS NO METABOLISMO LIPÍDICO	25
1.4.1 METABOLISMO DO COLESTEROL	25
1.4.2 EFEITO HIPOCOLESTEROLEMIZANTE DAS LEGUMINOSAS	31
1.4.3 O ESTUDO DO METABOLISMO DOS LIPÍDIOS EM MODELOS ANIMAIS	35
 2. JUSTIFICATIVA	 38
 3. OBJETIVOS	 40
3.1 OBJETIVO GERAL	40
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
 4. MATERIAL E MÉTODOS	 41
4.1 PROCESAMENTO DAS MATÉRIAS-PRIMAS	41
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS	42
4.2.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	42
4.2.2 FIBRA ALIMENTAR	42
4.2.3 PERFIL DE AMINOÁCIDOS DAS FARINHAS INTEGRAIS COZIDAS LIOFILIZADAS	42
4.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS	43
4.3.1 ANIMAIS	43
4.3.2 DIETAS EXPERIMENTAIS	44
4.3.2.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS DIETAS	46
4.3.2.2 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DAS DIETAS	46
4.3.3 CONSUMO ALIMENTAR	47
4.3.4 GANHO DE PESO	48
4.4 ENSAIO A	48

4.5 ENSAIO B	53
4.6 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO	56
4.7 ANÁLISES NO FÍGADO	57
4.7.1 COLESTEROL	57
4.7.2 LIPÍDIOS TOTAIS	57
4.7.3 ANÁLISE HISTOLÓGICA	58
4.8 ANÁLISES NAS FEZES	60
4.8.1 COLESTEROL	60
4.8.2 ÁCIDOS BILIARES	60
4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	61
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS	63
5.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS DIETAS	71
5.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS	74
6. CONCLUSÕES	98
7. REFERÊNCIAS	99
ANEXO	115

Lista de Tabelas

Tabela 1	Necessidades nutricionais de hamsters em fase de crescimento	45
Tabela 2	Composição planejada das dietas do Ensaio A (g/kg dieta)	50
Tabela 3	Composição planejada das dietas do Ensaio B (g/kg dieta)	54
Tabela 4	Escore de esteatose hepática e significados clínicos	59
Tabela 5	Escore de inflamação (parenquimatosa e portal) e significados clínicos	59
Tabela 6	Composição centesimal (g/100g) do feijão carioca cru (cultivar Pérola) e do feijão carioca liofilizado, em base seca	63
Tabela 7	Composição centesimal (g/100g) do feijão preto cru (cultivar Uirapuru) e do feijão preto liofilizado, em base seca	64
Tabela 8	Teores de Fibra Alimentar Total (FAT), Fibra Alimentar Insolúvel (FAI) e Fibra Alimentar Solúvel (FAS) das farinhas cozidas liofilizadas de feijão carioca e de feijão preto e comparação com a literatura, em base seca (g/100 g)	67
Tabela 9	Perfil de aminoácidos das farinhas integrais dos feijões carioca e preto, escores químicos dos aminoácidos das farinhas e a recomendação da Fao/WHO (g/100 g proteína)	69

Tabela 10	Composição centesimal das dietas experimentais do Ensaio A, representadas em g/100g, em base seca	71
Tabela 11	Composição centesimal das dietas experimentais do Ensaio B, representadas em g/100g, em base seca	72
Tabela 12	Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais do Ensaio B, valores expressos em porcentagem	73
Tabela 13	Peso inicial, peso final, ingestão total de dieta, consumo diário médio, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos animais do Ensaio A	74
Tabela 14	Peso inicial, peso final, ingestão total de dieta, consumo diário médio, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos animais do Ensaio B	75
Tabela 15	Concentração plasmática de colesterol total, HDL-colesterol, colesterol não HDL e triglicérides dos animais do Ensaio A	76
Tabela 16	Concentração plasmática de colesterol total, HDL-colesterol, colesterol não HDL e triglicérides dos animais do Ensaio B	78
Tabela 17	Quantidades de lipídios totais e colesterol nos fígados dos animais, grupos controle, feijão carioca e feijão preto	82
Tabela 18	Excreção fecal de ácidos biliares e colesterol dos animais dos grupos controle, feijão carioca e feijão preto	95

Lista de Figuras

Figura 1	Feijão preto, cultivar IPR88 Uirapuru (esquerda) e Feijão carioca, cultivar Pérola (direita)	41
Figura 2	Homogeneização dos ingredientes em misturador horizontal	45
Figura 3	Obtenção dos pelets úmidos	46
Figura 4	Dietas, segundo os grupos experimentais: A. Controle; B. Feijão Carioca e Feijão Preto	49
Figura 5	Fluxograma do Ensaio A	52
Figura 6	Fluxograma do Ensaio B	55
Figura 7	Fotomicrografias de secções de 5 µm de espessura do fígado coradas com HE, ilustrando presença de vacuolização (grau 4+) no parênquima hepático em hamster do Grupo Feijão Carioca. Aumentos de 1x (acima) e 40x (abaixo)	85
Figura 8	Distribuição dos grupos (%) de acordo com o grau de inflamação no parênquima hepático	88
Figura 9	Fotomicrografias de secções de 5 µm de espessura do fígado coradas com HE, ilustrando a inflamação parenquimatosa em hamster do grupo Controle. Aumentos de 40x (acima) e 5x (abaixo) as setas indicam os focos de infiltrados linfo-histocitários	90

Figura 10	Fotomicrografia de secções de 5 µm de espessura do fígado coradas com HE, ilustrando a inflamação portal hepática em hamster do grupo Controle, em aumento de 10x. A seta indica infiltração linfo-histocitária periportal	93
------------------	--	----

Lista de Gráficos

Gráfico 1	Evolução da participação relativa (%) de feijão e outras leguminosas no total de calorias determinado pela aquisição alimentar domiciliar das regiões metropolitanas, Brasil. 1974/75 a 2002/03	20
Gráfico 2	Participação relativa (%) do feijão e outras leguminosas no total de calorias da aquisição familiar por grandes regiões. Brasil, 2002/03	21
Gráfico 3	Peso médio final dos fígados, de acordo com os grupos experimentais	83
Gráfico 4	Distribuição dos grupos (%) de acordo com o grau de esteatose hepática	84
Gráfico 5	Distribuição dos grupos (%) de acordo com o grau de inflamação portal hepática	94

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABCG-5 e ABCG-8 – ATP binding cassette sub-family G

ACAT – Acilcolesterol transferase

C – grupo experimental controle, que recebeu dieta com gordura de coco, colesterol e caseína

CEA – Coeficiente de Eficiência Alimentar

CETP – colesteryl ester transfer protein

DCNT – Doença Crônica não Transmissível

DGHNA – Doença Gordurosa Hepática não Alcoólica

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Alimentos

ENDEF – Estudo Nacional de Despesa Familiar

FAT – fibra alimentar total

FAI – fibra alimentar insolúvel

FAS – fibra alimentar solúvel

FC – grupo experimental, que recebeu dieta com gordura de coco e colesterol e adição de farinha de feijão carioca

FP – grupo experimental, que recebeu dieta com gordura de coco e colesterol e adição de farinha de feijão preto

HE – hematoxilina-eosina, corante usado em estudo histológico

HDL – high density lipoprotein

HMG-CoA redutase – 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A redutase

ICAM – intercellular adhesion molecule

LCAT – lecitina colesterol aciltransferase

LDL – low density lipoprotein

MTP – microsomal triglyceride transfer protein

N₂ – Nitrogênio

NH₃ – Amônia

NRC – National Research Council

NPC1L1 – Niemann Pick C-1 like

PON – paroxonase-1

POF – Pesquisa de Orçamento Familiar

SR-B1 – receptor scavenger 1

SREBP-2 – sterol regulatory element-binding protein

SUS – Sistema Único de Saúde

TNF- α – tumoral necrose factor

TRC – transporte reverso do colesterol

VCAM – vascular cell adhesion molecule

Vigitel – Vigilância de Doenças Crônicas por Inquéritos Telefônicos

VLDL – very low density lipoprotein

WHO – World Health Organization

1. INTRODUÇÃO

1.1 Nutrição e Saúde Pública

Com o aumento da expectativa de vida no Brasil e no mundo, a população passou a trabalhar por períodos mais longos e estar mais exposta a condições ambientais adversas, como a poluição, tabagismo, sedentarismo e dietas inadequadas, fatores que favorecem o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como o diabetes, as doenças cardiovasculares e variados tipos de neoplasias. Quanto às doenças cardiovasculares, destacam-se como fatores de risco o tabagismo, a hipertensão, a obesidade e as dislipidemias (SPOSITO et al., 2007).

No Brasil, a prevalência de excesso de peso em adultos era de 34,4 % em 1989 e 40,2 % em 2009. Segundo dados do Sistema Único de Saúde (SUS), a taxa de mortalidade por doenças do aparelho circulatório, em 2009, era de 55 %, e em algumas capitais, como Rio de Janeiro, São Paulo, Porto Alegre e Florianópolis as taxas variaram de 76 - 80 %, indicando que as doenças cardiovasculares são as que mais matam no país (BRASIL, 2010).

A maioria dos fatores de risco para as doenças cardiovasculares é modificável, como por exemplo, a alimentação, que desempenha papel decisivo na manutenção do peso corpóreo e do metabolismo lipídico. Já está bem documentado que para o controle de grande parte dos casos de

hipercolesterolemia, o tratamento não medicamentoso mostra-se bem sucedido (SPOSITO et al., 2007).

A inclusão de alimentos de origem vegetal, como hortaliças, grãos integrais e óleos vegetais, o controle do consumo de carne vermelha e outros alimentos ricos em gordura saturada diminuem o risco da ocorrência de doenças cardiovasculares (GASKINS et al., 2010).

1.2 Consumo de feijão e recomendações dietéticas

A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), realizada em 2002 e 2003 pelo IBGE, com representatividade para todo o Brasil comparada com o Estudo Nacional de Despesa Familiar (ENDEF), realizado há 30 anos (1974-75) revela mudanças no comportamento das famílias em relação à alimentação tendo-se observado sensível redução na aquisição domiciliar de feijão pelos brasileiros (LEVY-COSTA et al., 2005).

A tendência de queda do consumo de feijão, e de outras leguminosas, está sendo observada desde o final da década de 70 por meio dos estudos do ENDEF, confirmada por meio das POFs (Gráfico 1) e da Vigilância de Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel), que identificou queda do consumo de feijão de dois pontos percentuais de 2006 a 2009 (MONTEIRO, 2010).

Fonte: adaptado de BRASIL (2004)

Gráfico 1- Evolução da participação relativa (%) de feijão e outras leguminosas no total de calorias determinado pela aquisição alimentar domiciliar das regiões metropolitanas, Brasil. 1974/75 a 2002/03

A participação do feijão na dieta diminui com o aumento da renda, pois é um alimento com elasticidade de renda negativa (EMBRAPA, 2002). Em estudo realizado na Costa Rica o menor consumo de leguminosas (grão de bico, feijão branco e outros feijões regionais) estava associado aos indivíduos do sexo feminino, maior escolaridade, maior renda e residência em áreas urbanas (KABAGAMBE et al., 2005).

Este fenômeno está presente na POF 2002-2003 e é recorrente nos resultados apresentados na POF 2008-2009, a qual revelou que quanto maior a classe de rendimentos da família, menor foi o gasto com aquisição de feijão (IBGE, 2010).

A mais recente pesquisa de orçamento familiar, POF 2008-2009, revelou que a participação do feijão na despesa familiar, continua maior nas regiões norte e nordeste e menor nas demais regiões (IBGE, 2010)

Apesar da queda do consumo de feijão estar presente em todas as regiões metropolitanas, o Nordeste ainda apresenta maior consumo do que as outras grandes regiões brasileiras (Gráfico 2). O Ceará e o Piauí são os Estados que mais consomem o feijão caupi (espécie *Vigna unguiculata*), sendo que a aquisição domiciliar *per capita* é de 15,5 kg e 8,5 kg, respectivamente (BRASIL, 2004).

Fonte: adaptado de LEVY-COSTA et. al., 2005

Gráfico 2- Participação relativa (%) do feijão e outras leguminosas no total de calorias da aquisição familiar por grandes regiões. Brasil, 2002/03

O Distrito Federal, Espírito Santo, São Paulo, Paraná e Santa Catarina são os Estados que mais consomem o feijão da espécie *Phaseolus vulgaris*, no entanto os valores da aquisição domiciliar *per capita* anual são de no máximo 4 kg (WANDER, 2007).

Fato importante que justifica a queda do consumo de feijão é presença da mulher no mercado de trabalho. Grande parte das refeições familiares é realizada fora do domicílio, ou adquiridas prontas ou pré-preparadas. Além disso, os alimentos básicos, como arroz e feijão, estão

sendo substituídos por alimentos industrializados de baixo valor nutricional e com altos teores de açúcares simples e gorduras (LEVY- COSTA et al., 2005; WANDER, 2007; MONTEIRO, 2010).

A tendência de queda do consumo do feijão refletiu em esforços para que este hábito seja novamente inserido nas regiões brasileiras. A inclusão do feijão no contexto da alimentação saudável é incentivada pelo Ministério da Saúde por meio do Guia Alimentar para População Brasileira (BRASIL, 2006), nas ações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento por meio da Empresa Brasileira de Pesquisa em Alimentos (EMBRAPA) e nas recomendações dietéticas da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SPOSITO et al., 2007).

O Guia Alimentar para População Brasileira recomenda o consumo diário de arroz e feijão na proporção de 2 para 1, ou seja, de 4 colheres (sopa) de arroz (125 g) para 1 concha de feijão (86 g). Essa combinação atende a 36 % da recomendação de fibras alimentares (~25 g/dia); 10 % de carboidratos; 1,5 % de proteínas e 11 % de energia, baseada em uma dieta de 2000 Kcal (BRASIL, 2006).

A importância do feijão também é reconhecida por diversos países que o incluem em suas recomendações dietéticas e guias alimentares, como as diretrizes dietéticas para os americanos (Dietary Guidelines for Americans) (US. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2010), os guias alimentares norte-americanos (My Pyramid e My Plate – US DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2006), a dieta baseada no estilo de vida mediterrâneo, preconizado pelo American Heart Association

(ESPOSITO et al., 2004; LLOYD-JONES et al., 2010), e o guia alimentar canadense (Canada's Food Guide- HEALTH CANADA, 2007).

1.3 Produção e características do feijão

O feijão é um grão de fácil plantio, crescimento e armazenamento e é um dos mais antigos alimentos cultivados e consumidos pela população mundial. Sua domesticação ocorreu há 7 mil anos atrás na região do Peru e no Sudeste do México. É considerado alimento básico na China, Índia e nas Américas (WINHAM et al., 2008).

A partir da associação simbiótica com as bactérias presentes no solo, os feijões participam de um dos processos biológicos mais importantes do planeta, a fixação biológica de nitrogênio. As bactérias do gênero *Rhizobium* sp formam nódulos nos rizóbios do feijão e são capazes de quebrar o nitrogênio atmosférico (N_2), transformando-o em amônia (NH_3), que é assimilável pelo feijão. A partir deste processo, o feijão é capaz de sintetizar seus aminoácidos. Sem este processo, ao lado da fotossíntese, não há como se manter o bioma terrestre (EMBRAPA, 1994).

O Brasil é o segundo produtor mundial de feijoeiros do gênero *Phaseolus* e o primeiro da espécie *Phaseolus vulgaris*, conhecido como feijão comum. Este grão tem ampla adaptação climática, o que permite o cultivo durante todo o ano, em quase todos os Estados da Federação (WANDER, 2007).

As culturas de feijão são exploradas de três maneiras: 1) Safra “das águas”, cujo plantio é feito de agosto a novembro na região sul; 2) Safra “da seca”, cujo plantio é de janeiro a março em todos os Estados produtores e 3) Safra de inverno, que ocorre entre abril a julho nas regiões sudeste e centro-oeste (WANDER, 2007; EMBRAPA, 2010).

A espécie *Phaseolus vulgaris* possui uma rica variedade de grãos, que se enquadra em diferentes grupos comerciais, como carioca, preto, jalo e verde, diferindo entre si em tamanho, formato e cor. Cada grupo comercial pode apresentar diversas cultivares, que são produtos de cruzamento entre grãos. A cultivar “Pérola” é proveniente de trabalho de seleção da cultivar Aporé, realizada pela Embrapa Arroz e Feijão, está classificada no grupo comercial carioca e seu cultivo é predominante nas regiões centro-oeste e sudeste. Desenvolvida pelo Instituto Agrônomo do Paraná, a cultivar Uirapuru IPR88 pertence ao grupo dos feijões pretos e é originária do cruzamento entre cinco genótipos. Foi desenvolvida para o cultivo na região sul do Brasil e sua semeadura é realizada em todas as safras (IAPAR, 2000). Essas duas cultivares dos grupos comerciais carioca e preto são amplamente comercializadas no Estado de São Paulo.

Uma das características nutricionais mais exaltadas dos feijões é seu conteúdo de proteína, que ao contrário das fontes protéicas de origem animal, são alimentos com baixo teor de lipídios e quantidades relevantes de fibras alimentares (ANTUNES et al., 1995; RIBEIRO et al., 2007). Nas variedades de cultivares brasileiros do feijão comum a quantidade de

proteínas varia de 18,17 % (Feijão preto, cultivar Ouro negro) a 25,93 % (Feijão carioca, cultivar Aporé) (PIRES et al., 2005).

Os feijões são constituídos por todos os aminoácidos essenciais, sendo ricos em lisina e limitantes para os aminoácidos sulfurados, como metionina e cisteína (PIRES et al., 2005).

A quantidade de fibras totais nos feijões varia entre 20 – 30g/100g de matéria seca. A fração insolúvel corresponde a 70 % e a solúvel 30 %, em média (LONDERO et al., 2008).

Um dos aspectos negativos do feijão é a presença de uma série de fatores antinutricionais. Os fatores antinutricionais presentes em leguminosas são compostos que dificultam ou impossibilitam a digestão enzimática do alimento, além de interferirem nos processos de absorção intestinal. Nos feijões destacam-se os taninos, o ácido fítico, ácido fosfórico, lecitinas e inibidores de amilase e das proteases tripsina e quimiotripsina (BONETT et al., 2007). Quando submetidos a tratamento térmico, a ação destes componentes é inibida e seus conteúdos diminuídos (ROY et al., 2010). O processamento inadequado dos feijões leva a uma toxicidade no seu consumo, que pode assumir variados graus de risco para a saúde.

1.4. Bioatividade dos alimentos no metabolismo lipídico

1.4.1 Metabolismo do colesterol

O colesterol apresenta diversas funções celulares essenciais à vida: é um constituinte de membrana responsável pela permeabilidade passiva e

capaz de modular proteínas por meio da organização da bicamada lipídica. O colesterol atua no processo de digestão dos lipídeos, pois é parte integrante da bile, além de ser precursor importante no metabolismo e síntese da vitamina D e vários hormônios esteróides, dentre eles, cortisol, aldosterona, estrógenos e testosterona (MOURITSEN & ZUCKERMANN, 2004; LEANÇA et al., 2010).

No organismo humano aproximadamente 3/5 do colesterol circulante tem origem endógena, sintetizado em vários locais para suprir a sua demanda. Cerca de 20 a 25 % da produção total diária é realizada pelos hepatócitos, mas outros locais de maior síntese incluem intestinos, glândulas adrenais e órgãos reprodutivos (DIETSCHY et al., 1993).

A concentração de colesterol plasmático é influenciada por síntese e catabolismo. Metade do colesterol e quase 95 % dos ácidos biliares são reabsorvidos pelo intestino e retornam para o fígado por meio do sistema porta êntero-hepático. A maior parte do colesterol do organismo é regulada pela síntese endógena, sendo pequena parcela adquirida pela dieta (DIETSCHY et al., 1993).

O transporte do colesterol plasmático envolve a participação de diversas lipoproteínas, dentre elas, destacam-se a LDL (*low density lipoprotein*), a HDL (*high density lipoprotein*) e as VLDL (*very low density lipoprotein*).

O colesterol sintetizado, assim como proveniente da absorção dietética é transportado para os tecidos periféricos pelas LDL e VLDL. Por sua vez, as HDLs, grupo bem heterogêneo de partículas com densidade,

tamanho e funcionalidade diversas, são responsáveis por promover o transporte de colesterol do plasma para o fígado, processo denominado transporte reverso do colesterol (TRC).

A fração plasmática de HDL colesterol desempenha importante papel no processo de aterosclerose. Nos macrófagos, o transporte das HDLs é crítico para evitar a formação das células espumosas e consequentemente, das lesões ateroscleróticas (FRANCIS, 2010).

Existe um delicado mecanismo de regulação das concentrações intracelulares de colesterol. Quando aumenta seu conteúdo intracelular, a atividade da enzima 3-hidroxi-3metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) redutase diminui, além da redução da expressão dos receptores de LDL e aumento da enzima acilcolesterol aciltransferase (ACAT) promotora da esterificação intracelular do colesterol. Consequentemente aumenta-se a produção de ácidos biliares (OLIVEIRA et al., 2011).

As LDLs realizam o efluxo do colesterol do fígado para os tecidos e são consideradas aterogênicas. Na presença de hipercolesterolemia é o fator desencadeante das lesões ateroscleróticas nos vasos, iniciadas pela agressão das partículas aterogênicas LDL colesterol e VLDL colesterol (MOURITSEN & ZUCKERMANN, 2004)

As partículas de LDL se oxidam, aderem à parede do vaso e tornam-se imunogênicas pela ativação e migração de monócitos e linfócitos ao local da lesão. Os monócitos migram para o espaço subendotelial, se diferenciam em macrófagos e captam LDL oxidada, formando as células espumosas, assim denominadas por ficarem repletas de lípidios. O conjunto de células

espumosas na camada íntima do vaso é chamado de estrias gordurosas, que representam os primeiros sinais macroscópicos da aterosclerose (SPOSITO et al., 2007)

A LDL colesterol promove a aterogênese, na medida em que afeta um ou vários processos de influxo e efluxo na parede vascular. Contudo, os níveis plasmáticos elevados de LDL colesterol viabilizam o desenvolvimento de trombose. Em contrapartida, a fração HDL colesterol promove o TRC, levando o colesterol extra-hepático aos hepatócitos. O efeito antiaterogênico da HDL também está associado à sua ação antioxidante, inibição da agregação plaquetária e da migração de monócitos (LIMA & COUTO, 2006; FRANCIS, 2010).

Sua ação antioxidante se dá por meio da ação da enzima paroxonase- 1 (PON), enzima sintetizada no fígado e circulante no plasma em associação a HDL. A PON é capaz de remover a LDL peroxidada das paredes das artérias (FRANCIS, 2010).

A HDL exerce ação anti-inflamatória, pois reduz a expressão de moléculas de adesão, induzidas por citocinas pró- inflamatórias (LEANÇA et al., 2010)

A hipercolesterolemia pode estar associada a fatores genéticos e a diversas doenças, como hipertensão e diabetes, mas sabe-se que a dieta é um fator importante e potencialmente reversível. Indivíduos com hipercolesterolemia moderada devem ser orientados a mudanças no estilo de vida, que incluem medidas não farmacológicas, como mudanças de

hábitos de vida com maior atividade física e terapia nutricional (SPOSITO et al., 2007).

Umas das terapias medicamentosas mais utilizadas no controle do colesterol plasmático é o uso das estatinas, que inibem a síntese de colesterol endógeno pela enzima HMG - CoA redutase.

O metabolismo do colesterol pode ser regulado em vários pontos: síntese, absorção e reabsorção, por isso não somente os controles de suas concentrações plasmáticas, e de sua síntese hepática, são o foco das terapias nos casos de hipercolesterolemia. A inibição da absorção intestinal e excreção de ácidos biliares são igualmente importantes (WANG, 2007; LEIFERT & ABEYWARDENA, 2007).

Na membrana apical dos enterócitos, a proteína transportadora de esteróis, denominada Niemann Pick C-1 like (NPC1L1) capta as micelas de colesterol solubilizadas no lúmen intestinal, que serão transportadas na forma de quilomícrons para a linfa. A descoberta da NPC1L1 motivou o estudo das possíveis drogas capazes de inibir sua ação, como o ezetimibe (WANG, 2007).

A presença dos ácidos biliares no lúmen otimiza a solubilidade das micelas do colesterol, aumentando sua entrada no enterócito. Entretanto, ocorre efeito oposto na presença de esteróis derivados de produtos vegetais, fazendo com que o colesterol exógeno e os ácidos biliares sofram efluxo, ocasionado pelos transportadores ABCG-5 e ABCG-8 (*ATP binding cassette sub-family G*) e consequentemente sejam excretados nas fezes (WANG, 2007).

A qualidade dos lipídios da dieta afeta diretamente o perfil das lipoproteínas plasmáticas: enquanto os ácidos graxos saturados de longa cadeia (presentes em alimentos de origem animal), como láurico, mirístico e palmítico promovem aumento da fração LDL colesterol, os insaturados da série Ω -3 (presentes em alguns alimentos de origem vegetal, como linhaça, e em alimentos de origem animal, como peixes), promovem diminuição desta fração plasmática de colesterol (SPADY et al., 1999)

Os ácidos graxos insaturados com isomeria *trans*, provenientes dos óleos vegetais hidrogenados, animais ruminantes e leite integral, proporcionam aumento das concentrações séricas de LDL colesterol, além de diminuírem a fração HDL colesterol. No entanto, os ácidos graxos moninsaturados e poliinsaturados com isomeria *cis*, presentes nas frutas, legumes, sementes oleaginosas e grãos, apresentam poder antiaterogênico porque reduzem a LDL colesterol (SPADY et al., 1999; FROTA et al., 2010).

O consumo frequente de uma dieta com altos teores de lipídios pode desencadear uma condição conhecida como doença gordurosa hepática não alcoólica (DGHNA), e seu desenvolvimento está fortemente associado a obesidade, dislipidemias, hiperinsulinemia e diabetes tipo 2 (CRAWFORD, 2005).

A DGHNA, também conhecida por esteatose hepática é caracterizada pela presença de grandes vacúolos de gordura, predominantemente de triacilgliceróis, acumulados dentro dos hepatócitos.. A esteatose pode variar desde um pequeno acúmulo de lipídeos, até uma condição extrema com presença de inflamação, fibrose e cirrose. Quando na presença de

inflamação é chamada de esteatoepatite não-alcoólica, sendo caracterizada por inflamação do parênquima hepático multifocal, morte celular, tanto por degeneração como apoptose, e fibrose sinusoidal (CRAWFORD, 2005).

1.4.2 Efeito hipocolesterolemizante das leguminosas

Muitos estudos mostram a capacidade que alguns alimentos possuem de atuarem no metabolismo do colesterol, tanto em sua síntese como absorção e reabsorção dos ácidos biliares.

A proteína da soja é a mais estudada em modelos animais e ensaios clínicos. Estudos conduzidos com coelhos verificaram que o isolado protéico de soja administrado à dieta hipercolesterolêmica, teve ação moduladora no metabolismo do colesterol, pois os animais apresentaram menor extensão das lesões ateroscleróticas e menor concentração de LDL oxidada, demonstrando sua atividade antioxidante pela diminuição da peroxidação lipídica em relação aos animais alimentados com caseína (DAMASCENO et al., 2000; CHAGAS et al., 2006).

Para humanos, a adição diária de 25 g de proteína de soja na dieta apresenta-se eficaz na redução das concentrações plasmáticas de LDL colesterol (SACKS et al., 2006). O consumo da proteína de soja ou de produtos a base de soja ou suas isoflavonas estão associados à diminuição do risco de doenças cardiovasculares (MESSINA, 2010).

A soja e outras leguminosas possuem em sua composição fitoesteróis, capazes de diminuir a solubilidade das micelas de colesterol no

lúmen intestinal, diminuindo sua captação pela NPC1L1 (WANG, 2007). Além disso, alguns vegetais, inclusive leguminosas, apresentam a capacidade de ligarem-se aos ácidos biliares, aumentando sua excreção fecal (DUANE et al., 1997; KAHN et al., 2007).

Fassini et al., (2011) estudaram a ação do isolado protéico de soja e verificaram que além de reduzir o colesterol não HDL, a fração 11S da globulina foi capaz de aumentar a HDL-colesterol em ratos. O efeito da soja no metabolismo do colesterol é explicado pela capacidade que alguns fragmentos peptídicos possuem de modular os receptores de LDL nos hepatócitos, mesmo na presença da dieta rica em colesterol e gordura saturada.

Além da soja, outras leguminosas, como o grão de bico, fava, lentilha, ervilha e feijão já mostraram a capacidade de diminuir a fração LDL colesterol (KINGMAN et al., 1993; BAZZANO et al., 2009).

Fontanari et al., (2012) estudando, em hamsters, o efeito do consumo de farinha integral de tremço (leguminosa da espécie *Lupinus albus*) e de sua proteína isolada em dietas ricas em colesterol e gordura saturada, concluíram que foram capazes de reduzir o colesterol não HDL. Além disso, a farinha integral aumentou os níveis séricos de HDL.

O feijão caupi, outra leguminosa recentemente estudada, diminuiu as concentrações de colesterol não HDL e apresentou efeito hepatoprotetor em hamsters, além de sua proteína melhorar alguns marcadores de risco para doença cardiovascular em indivíduos com hipercolesterolemia moderada (FROTA et al., 2008; FROTA, 2011).

O gênero *Phaseolus* e a espécie *Phaseolus vulgaris* já foram estudados em modelos animais e humanos e alguns destes estudos sugerem a ação benéfica dos feijões comuns no metabolismo dos lipídios.

A digestão incompleta das proteínas vegetais gera peptídios capazes de modular a síntese e absorção do colesterol. A ação de peptídios hipocolesterolemizantes já está bem documentada para o amaranto, pseudocereal consumido nos países andinos. Em modelos animais, o amaranto e a sua proteína foram capazes de reduzir o colesterol não HDL (PLATE & ARÊAS, 2002; MENDONÇA et al., 2009). Esta ação é explicada pela digestão incompleta do isolado protéico de amaranto, gerando fragmentos peptídicos capazes de desempenhar efeito hipocolesterolemizante (SOARES, 2008).

Vaz (2010) verificou em ratos que a proteína isolada do amaranto diminuiu a SREBP-2 (*sterol regulatory element-binding protein*), proteína relacionada com a transcrição da síntese de colesterol, o que evidencia a ação dos peptídeos bioativos na modulação na produção endógena de colesterol.

O potencial efeito hipocolesterolemizante dos feijões é atribuído também à presença dos fitosteróis, das saponinas e da baixa digestibilidade dos grãos (ANDERSON & MAJOR, 2002; LUJÁN et al., 2008 ; TRINIDAD et al., 2010).

Em ensaio biológico com hamsters, a adição da fração insolúvel da fibra dos feijões *P. angularis* e *P. calcaratus*, à dieta enriquecida com

colesterol, levou à diminuição da absorção do colesterol e diminuição do acúmulo de lipídios hepáticos, respectivamente (CHAU & CHEUNG, 1999).

Anderson et al., (1990) sugeriram potencial efeito do consumo de feijão em homens com dislipidemia moderada. Os participantes foram separados em três grupos, o controle recebeu carne suína enlatada com molho de tomate, e dois grupos experimentais receberam feijão enlatado, em diferentes quantidades, adicionado de molho de tomate. Apesar de observadas reduções no colesterol total, LDL colesterol e HDL colesterol em todos os grupos, as mais acentuadas ocorreram nos grupos que receberam feijão. Os próprios autores reconheceram que o uso de molho de tomate foi inconveniente. A quantidade de fibras solúveis administrada foi maior devido à presença do tomate, o que pode ter influenciado o efeito hipocolesterolemizante. Outro ponto importante é que os grupos com feijão receberam quantidade significativamente maior de fibras que o grupo controle.

Outros estudos, realizados por Anderson et al., (1984), Shutler et al., (1989) e Winham & Hutchins (2007) também sugeriram que a espécie *Phaseolus vulgaris* modificasse as concentrações plasmáticas de colesterol. Mesmo utilizando-se do desenho experimental *crossover*, as dietas experimentais foram administradas com molho de tomate e com quantidade de fibras totais e solúveis significativamente maiores nos grupos que consumiram feijão.

1.4.3 O estudo do metabolismo dos lipídios em modelos animais

Animais utilizados em experimentação devem possuir mecanismos metabólicos e fisiopatológicos semelhantes aos dos seres humanos. Dessa maneira deve-se escolher o animal que simule os efeitos desejados do experimento, de acordo com o objetivo proposto. A escolha deve ser criteriosa, pois um mesmo animal, de linhagens diferentes, pode apresentar respostas diferentes aos mesmos agentes de exposição (DORFMAN et al., 2003).

As pesquisas na área de doenças cardiovasculares estão em constante crescimento e definir um modelo animal adequado é um desafio, pois nenhum animal consegue reproduzir exatamente os mesmos tipos e localizações das lesões ateroscleróticas humanas. Os porcos e os coelhos são bons modelos para o estudo do metabolismo lipídico, entretanto o interesse nos pequenos roedores aumentou pela conveniência, já que são animais menores (RUSSEL & PROCTOR, 2006; DHANIA & HEMA, 2008).

Os coelhos são bons modelos, no entanto são requeridos: período de 45 a 60 dias para indução da hipercolesterolemia, dietas com 0,5 % de colesterol e grandes quantidades de reagentes e ração para manutenção do experimento (BADIMON, 1990; KINGMAN et al., 1993).

A indução de dislipidemia em hamsters pode ser notada a partir do 21º dia após a administração de dieta com 0,1 % de colesterol e 13,5 % de gordura de coco (FROTA et al., 2008) e os primeiros sinais sub-endoteliais da aterosclerose são notados a partir do 30º dia (DHANIA & HEMA, 2008).

Oliveira et al., (2010) demonstraram que hamsters *Golden Syrian* alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram aumentos significativos no colesterol total, colesterol livre e ésteres de colesterol plasmáticos, acúmulo de lípidios hepáticos e maior concentração de colesterol livre na aorta, em relação ao grupo controle.

Os hamsters, assim como os seres humanos, possuem a LDL como principal fração carreadora de colesterol para os tecidos extra-hepáticos e o *clearance* de LDL colesterol ocorre principalmente no fígado, pois neste órgão estão presentes 80 % dos transportadores receptores-dependentes de LDL (DIETSCHY et al., 1993).

Outra semelhança ao ser humano é que o hamster apresenta responsividade aos ácidos graxos da dieta: os saturados provocam aumentos da LDL e os insaturados, principalmente os poliinsaturados estão relacionados com a melhora do perfil lipídico: aumento da fração HDL e diminuição da LDL (SPADY & DIETSCHY, 1988; MANIERO, 2009).

Trabalhos prévios bem sucedidos conduziram ensaios biológicos com hamsters a fim de investigar o efeito dos alimentos integrais, assim como de seus componentes isolados no metabolismo do colesterol.

Alguns trabalhos utilizaram indução prévia de hipercolesterolemia e posterior uso do alimento de interesse para verificar o efeito hipocolesterolemizante (MENDONÇA et al., 2009; FROTA et al., 2008; FONTANARI et al., 2012).

Outros trabalhos investigaram o efeito protetor dos alimentos por meio da administração de dieta hipercolesterolemizante juntamente com o

alimento/ componente de interesse (KINGMAN et al., 1993; DAMASCENO et al., 2000; ISHIMOTO, 2008; VAZ, 2010).

2. JUSTIFICATIVA

Visto que já está bem estabelecido que o teor de lipídios da dieta, assim como sua qualidade, estão intimamente associados ao perfil lipídico plasmático e que o feijão está presente no hábito alimentar brasileiro, tornam-se necessários o conhecimento e a investigação dessas propriedades no metabolismo de lipídios em modelos biológicos.

Atribui-se a diversos componentes do feijão a capacidade de regulação do metabolismo de lipídios. As frações peptídicas provenientes da digestão incompleta da proteína, assim como as frações solúvel e insolúvel da fibra do grão podem modular a síntese e absorção do colesterol (TRINIDAD et al., 2010). A fração solúvel da fibra possui papel essencial no metabolismo do colesterol, pois é capaz de se ligar aos ácidos biliares e diminuir a reabsorção de colesterol no lúmen intestinal (DUANE, 1997; KAHN et al., 2007; FROTA et al., 2008).

O presente estudo propôs investigar se a adição de farinha integral de feijão, de diferentes cultivares da espécie *Phaseolus vulgaris* a dietas hipercolesterolemizantes poderia exercer efeito protetor no metabolismo lipídico de hamsters. Para tanto foram utilizados os feijões mais consumidos nas regiões sudeste e sul do Brasil, o carioca e preto.

Foram utilizadas duas concentrações dos feijões das duas cultivares a fim de verificar o potencial efeito protetor na hipercolesterolemia induzida pela dieta.

A investigação do efeito destes feijões no metabolismo de lipídios foi importante para conhecer melhor suas características nutricionais e futuramente discutir as recomendações dietéticas e atribuição de efeito benéfico destes alimentos no metabolismo do colesterol.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial efeito hipocolesterolemizante de duas variedades de feijão, da espécie *Phaseolus vulgaris* (carioca e preto) em hamsters alimentados com dieta hipercolesterolemizante.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar o efeito do consumo dos feijões carioca e preto no perfil de lipídios plasmáticos de hamsters;
- ✓ determinar o efeito do consumo dos feijões carioca e preto na excreção fecal de ácidos biliares e colesterol dos hamsters alimentados com dieta hipercolesterolemizante;
- ✓ determinar o efeito do consumo dos feijões carioca e preto na deposição de lipídios hepáticos dos animais estudados;
- ✓ verificar se o consumo dos feijões carioca e preto influencia na presença de esteatose e inflamação hepática.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Processamento das matérias-primas

As variedades carioca e preto da espécie *Phaseolus vulgaris*, foram adquiridas da *Camil Alimentos LTDA* (São Paulo - SP).

Figura 1 - Feijão preto, cultivar IPR88 Uirapuru (esquerda) e Feijão carioca, cultivar Pérola (direita).

Para obtenção das farinhas integrais cozidas liofilizadas, os grãos de feijão carioca e preto foram autoclavados por 45 minutos, submetidos ao congelamento e liofilizados (liofilizador modelo FDB-5503 - Operon- Japão) por 48 h, a -60 °C.

Os grãos cozidos e secos foram triturados em moinho (modelo IKA-M20 - Merke) e as farinhas foram acondicionadas em frascos plásticos a -18 °C para produção das dietas experimentais.

4.2 Caracterização das matérias-primas

4.2.1 Composição centesimal

As farinhas integrais de feijões cozidos liofilizados e as farinhas cruas dos feijões foram analisadas quanto aos conteúdos de umidade, por dessecação a 105 °C; cinzas por meio da incineração da matéria orgânica em mufla a 550 °C e lipídios, por extração quente com éter de petróleo, de acordo com as metodologias descritas pela AOAC, 2005. Os carboidratos totais foram obtidos por diferença.

Para determinação do conteúdo protéico foi utilizado o método de micro-Kjeldahl (AOAC, 2005), o fator de conversão de nitrogênio em proteína utilizado foi de 6,25 para todas as farinhas.

Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

4.2.2 Fibra alimentar

Nas farinhas integrais cozidas liofilizadas foi realizada a quantificação das fibras solúveis e insolúveis, pelo método enzimático-gravimétrico de AOAC (2005).

4.2.3 Perfil de aminoácidos das farinhas integrais cozidas liofilizadas

As análises do perfil de aminoácidos totais foram realizadas pelo laboratório CBO Análises, localizado na cidade de Campinas, São Paulo.

O preparo das amostras para análise dos aminoácidos totais envolveu a hidrólise para liberação dos aminoácidos, preparação dos hidrolisados por meio de secagem e derivatização e separação dos derivados feniltiocarbamil

por cromatografia líquida de alta eficiência, de acordo com a metodologia proposta por White et al. (1986).

Os valores de triptofano foram determinados por espectrofotometria com leitura a 590 nm pelo método descrito por Spies (1967), utilizando-se hidrólise enzimática com pronase a 40°C por 24 horas, uma vez que a hidrólise ácida destrói este aminoácido.

4.3 Ensaios biológicos

Os ensaios biológicos foram desenvolvidos no biotério de experimentação para hamsters do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo (IMT/USP).

O protocolo experimental seguiu as recomendações do *Canadian Council on Animal Care* (OLFERT et al, 1993). Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa, Instituto de Medicina Tropical/USP, sob número CPE-IMT 2010/082 (ANEXO I).

4.3.1 Animais

Foram utilizados hamsters (*Mesocricetus auratus*), linhagem Golden Syrian, machos, com 21 dias de vida e padrão sanitário convencional.

No primeiro ensaio biológico, os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Medicina da USP e no segundo ensaio, pela ANILAB Animais de Laboratório Criação e Comércio LTDA, localizada em Paulínia, São Paulo.

Os animais foram dispostos em caixas individuais, providas de maravalha autoclavada, em local com controle da umidade (55 %) e temperatura (20-25 °C), sendo expostos a 12 horas de claridade e 12 horas de escuridão. As trocas das caixas e dos bebedouros foram realizadas uma vez por semana.

A água e a dieta foram ofertadas *ad libitum* aos animais.

Duas vezes por semana, em dias alternados, os animais foram pesados em balança semi-analítica (modelo MA-BS 2000 - Marconi).

4.3.2 Dietas Experimentais

As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações nutricionais para hamsters em fase de crescimento, segundo o *National Research Council* (NRC) (1995) e com a mistura de vitaminas e minerais para crescimento adequado de roedores, preconizada pela AIN-93 (REEVES; NIELSEN; TAHEY, 1993).

A seguir, encontra-se a Tabela 1 com as necessidades nutricionais para hamsters em fase de crescimento.

Tabela 1 - Necessidades nutricionais de hamsters em fase de crescimento.

Componentes da dieta	Quantidade(g/100 g)
Fibras	5 a 15
Carboidratos	65
Lipídios	4 a 20
Proteínas	18 a 24
Total	100

Fonte: NRC (1995)

As dietas foram encomendadas à Rhostrer Indústria e Comércio LTDA, Vargem Grande Paulista, São Paulo no formato de pellets e acondicionadas em freezer. O processo de pelletização é necessário para obtenção da textura adequada das rações aos hábitos dos roedores.

Primeiramente os ingredientes foram pesados e peneirados em peneira de aço inox AISI 304, malha 10, abertura 2,18 mm. O material retido foi processado em moinho analítico (Quimis/Q298A21) na velocidade 1700 rpm a 5 °C. Na sequência foi feita a homogeneização em misturador horizontal tipo blender.

Figura 2 - Homogeneização dos ingredientes em misturador horizontal

Figura 3 - Obtenção dos pellets úmidos

A massa homogênea foi submetida a pelletização à 80 °C por 30 segundos. Findo este período, os pellets foram resfriados, e colocados em sacos plásticos rotulados e acondicionados sob refrigeração até o momento do transporte.

4.3.2.1 Composição centesimal das dietas

Os conteúdos de umidade, cinzas, lipídios e proteínas das dietas foram determinados de acordo com os métodos da AOAC (2005). O teor de carboidratos totais foi obtido por diferença. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

4.3.2.2 Perfil de ácidos graxos das dietas

Os lipídios das dietas foram extraídos pelo método de Bligh & Dyer (1959). Do extrato obtido foi tomada uma alíquota contendo 150 mg de lipídio e submetida à saponificação com NaOH 0,5 N em metanol. Em seguida, foi esterificada com BF_3 em metanol com aquecimento a 100 °C

durante 2 minutos em banho-maria, e extraída com n-hexano (MORRISON & SMITH, 1964).

Os ácidos graxos foram determinados como ésteres metílicos de ácidos graxos por meio de cromatografia gasosa (modelo GC-2010 - Shimadzu). O volume injetado no cromatógrafo de cada extrato foi de 1 µL e a identificação por comparação do tempo de retenção corrigido de ésteres metílicos dos ácidos graxos da amostra e do padrão.

A análise foi qualitativa e para identificação dos ácidos graxos foi utilizada uma mistura padrão de 37 ésteres metílicos de ácidos graxos (Código 47885/Supelco). A proporção de cada ácido graxo foi calculada, dividindo-se área do seu pico pela área total dos picos de interesse da corrida.

Esta análise foi realizada, em triplicata, somente com as dietas do Ensaio B.

4.3.3 Consumo alimentar

A ingestão das dietas foi determinada três vezes por semana. A quantidade ingerida foi obtida por meio da diferença entre quantidade ofertada e as sobras deixadas no comedouro.

4.3.4 Ganho de peso

Durante o período experimental, os animais foram pesados a cada dois dias para avaliar o ganho de peso.

Foi calculado o Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) de cada dieta ofertada, dividindo-se o ganho de peso pela quantidade de ração consumida.

4.4 Ensaio A

O primeiro ensaio biológico foi realizado para verificar se a adição dos feijões carioca e preto protegia da ação hipercolesterolemizante da dieta hiperlipídica. A quantidade de feijão adicionada àquela dieta correspondeu a 15 % do peso total da formulação. Esta proporção é baseada na recomendação do Guia Alimentar para População Brasileira, o qual propõe que 5 % das calorias diárias sejam provenientes das leguminosas (BRASIL, 2006).

Para este ensaio foram utilizados 28 hamsters, que passaram pelo período de adaptação de 6 dias, recebendo a ração comercial Nuvilab CR1 (NUVITAL). A composição nutricional da ração, declarada pelo fabricante, é de 22 % de proteína, 4 % de extrato etéreo, 10 % de matéria mineral máxima, 8 % de matéria fibrosa máxima e 12,5 % de umidade máxima.

Após o período de adaptação, foram sorteados 4 animais que foram submetidos, após jejum médio de duas horas, à coleta de sangue por punção cardíaca para determinação das concentrações de lipoproteínas

plasmáticas basais, e em seguida mortos. Os procedimentos da coleta de material biológico estão descritos nos itens 4.6 e 4.7.

Devido à perda de um animal no período de adaptação, o ensaio seguiu com 23 animais, que foram separados em três grupos distintos e receberam as dietas experimentais (Figura 4) descritas a seguir.

Figura 4 – Dietas, segundo os grupos experimentais: A. Controle; B. Feijão Carioca e Feijão Preto.

1. **Grupo Controle:** dieta hipercolesterolemizante, com 13,5 % de gordura de coco e 0,1 % de colesterol e caseína como única fonte protéica (20 %);
2. **Grupo Feijão Carioca (FC):** dieta hipercolesterolemizante, com 13,5 % de gordura de coco e 0,1 % de colesterol, adição de 15 % de farinha integral cozida liofilizada de feijão carioca, e complementação do teor protéico total (20 %) com caseína;
3. **Grupo Feijão Preto (FP):** dieta hipercolesterolemizante, com 13,5 % de gordura de coco e 0,1 % de colesterol, adição de 15 % de farinha integral cozida liofilizada de feijão preto, e complementação do teor protéico total (20 %) com caseína.

A Tabela 2 apresenta a composição planejada das dietas experimentais e a Figura 5, o fluxograma do ensaio biológico.

Tabela 2 – Composição planejada das dietas do Ensaio A (g/kg dieta)

Ingredientes (g/kg)	Controle	Feijão Carioca	Feijão Preto
Caseína*	250,00	217,00	213,50
Feijão Carioca	-	150,00	-
Feijão Preto	-	-	150,00
Gordura de coco	135,00	135,00	135,00
Óleo de soja	15,00	12,60	13,00
Sacarose	50,00	50,00	50,00
Amido de milho	463,72	386,40	389,50
Mistura de minerais**	35,00	35,00	35,00
Mistura de vitaminas**	10,00	10,00	10,00
Celulose microcristalina	37,28	-	-
Cloreto de colina	3,00	3,00	3,00
Colesterol	1,00	1,00	1,00
Total	1000,00	1000,00	1000,00

* 80% de pureza; **Reeves, Nielsen e Tahey (1993)

Após a introdução das dietas experimentais, ocorreu a perda de quatro animais em diferentes grupos, restando 19 animais. A grande perda encontrada pode ser explicada pelo fato dos animais serem criados em padrão sanitário convencional, o que os tornam mais suscetíveis a

parasitoses. Nos cinco últimos dias foram realizadas coletas diárias das fezes. As caixas onde os animais eram mantidos foram adaptadas para esta coleta. Após 21 dias recebendo as dietas experimentais, todos os animais foram submetidos ao jejum de 2 horas para coleta dos materiais biológicos (itens 4.6 e 4.7).

Figura 5 - Fluxograma do Ensaio A.

4.5 Ensaio B

Para o Ensaio B, foram utilizados 31 hamsters, que passaram pelo período de adaptação de 6 dias recebendo ração comercial. Ao final, foram sorteados 4 animais para determinar do perfil lipídico plasmático basal. Os procedimentos da eutanásia estão descritos no item 4.6.

Os 27 animais restantes foram separados em três grupos distintos, que receberam dietas com as seguintes características:

1. **Grupo Controle (C):** dieta hipercolesterolemizante, com 13,5 % de gordura de coco e 0,1 % de colesterol e caseína como única fonte protéica (18 %);
2. **Grupo Feijão Carioca (FC):** dieta hipercolesterolemizante, com 13,5 % de gordura de coco e 0,1 % de colesterol, adição de farinha integral cozida liofilizada de feijão carioca como principal fonte protéica (~ 67 % do peso total da dieta), e complementação do teor protéico total (18 %) com caseína;
3. **Grupo Feijão Preto (FP):** dieta hipercolesterolemizante, com 13,5 % de gordura de coco e 0,1 % de colesterol, adição de farinha integral cozida liofilizada de feijão preto como principal fonte proteica (~ 62 % do peso total da dieta), e complementação do teor protéico total (18 %) com caseína.

O experimento teve a duração de 21 dias e nos cinco últimos dias, as fezes foram coletadas por meio da adaptação das caixas. Ao término do período, todos os animais foram submetidos a um jejum de 2 horas para coleta dos materiais biológicos. (itens 4.6 e 4.7).

A seguir a composição planejada das dietas e o fluxograma do Ensaio B.

Tabela 3 - Composição planejada das dietas do Ensaio B (g/kg dieta)

Ingredientes (g/kg)	Controle	Feijão Carioca	Feijão Preto
Caseína*	225,00	75,00	75,00
Feijão Carioca	-	672,00	-
Feijão Preto	-	-	618,55
Gordura de coco	135,00	135,00	135,00
Óleo de soja	11,00	-	3,00
Sacarose	50,00	50,00	50,00
Amido de milho	367,00	19,00	54,45
Mistura de minerais**	35,00	35,00	35,00
Mistura de vitaminas**	10,00	10,00	10,00
Celulose	163,00	-	15,00
Cloreto de colina	3,00	3,00	3,00
Colesterol	1,00	1,00	1,00
Total	1000,00	1000,00	1000,00

*80% de pureza; **Reeves, Nielsen e Tahey (1993)

Figura 6 - Fluxograma do Ensaio B.

4.6 Coleta de material biológico

As análises no plasma foram feitas pelo Laboratório de Controle de Qualidade Genética e Sanitária Animal, Divisão Técnica de Apoio ao Ensino e pesquisa, Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina /USP.

Os animais foram pré-anestesiados com Cloridrato de Xilazina (10 mg/kg) e colocados em câmara de CO₂ para coleta de sangue por punção cardíaca. O sangue foi coletado em duplicata e acondicionado em microtubos contendo anticoagulante heparina, sendo logo em seguida centrifugado (1000 x g, 15 minutos, 4 °C) para obtenção do plasma (WRIGHT; SALTER, 1998).

Após a coleta de sangue, os animais foram mortos em câmara de CO₂.

As concentrações de Colesterol Total (CT), Triglicérides (TG) e Lipoproteína de alta densidade (HDL) foram determinadas usando o sistema Cobas-Mira (*Roche Diagnostics, USA*).

O colesterol não-HDL (LDL colesterol + VLDL colesterol) foi calculado pela diferença do colesterol total e o teor de HDL-C determinado após precipitação.

Foi realizada a retirada do fígado e pesagem em balança analítica (modelo AX 200 - Shimadzu).

O fragmento do lobo direito, onde a vesícula biliar está localizada, foi retirado, lavado em solução salina (9 g NaCl/L) e colocado em formol (10 %) para o preparo dos cortes histológicos.

O lobo esquerdo do fígado foi cortado em pequenos pedaços de 100 a 200 mg, pesados, colocados em microtubos e armazenados em ultrafreezer a -80 °C, para as análises de colesterol e lipídios totais.

4.7 Análises no fígado

4.7.1 Colesterol

Foi utilizado o método de Katsanidis e Addis (1999) com algumas modificações para determinar a concentração de colesterol hepático.

Amostra de 100 - 200 mg de fígado foi homogeneizada em solução de saponificação, KOH 11 % (m/v), diluído em etanol 55 % (v/v). Em seguida, foi colocada em banho Maria por 15 minutos a 80 °C. Após resfriamento, foi realizada a partição, sendo selecionada a parte orgânica para análise.

A quantificação do colesterol foi efetuada por HPLC em equipamento da marca *Shimadzu LC-20AT*. O volume de injeção foi de 20 µL. A fase móvel foi n-hexano/isopropanol (97:3 v/v), com fluxo isocrático de 1 mL/min. O detector utilizado foi UV/VIS com varredura, com leitura no comprimento de onda de 206 nm. A quantificação foi realizada utilizando curva de calibração de colesterol padrão da *Sterolids Inc-USA*. O tempo médio de corrida foi de 8 minutos e as análises realizadas em triplicatas.

4.7.2 Lipídios totais

Para obtenção do extrato lipídico dos fígados foi utilizado o método de Bligh & Dyer (1959) com adaptações.

Amostras de 100 - 200 mg foram homogeneizadas e adicionadas de 500 µL de metanol, saponificadas com 100 µL solução de KOH (0,88 %) e adicionadas de 1000 µL de clorofórmio. A seguir, o extrato foi filtrado em papel qualitativo e lavado 3 vezes com 1000 µL de clorofórmio para extração dos lipídios.

A quantidade de lipídios extraídos foi determinada gravimetricamente.

4.7.3 Análise histológica

Após 24 horas, mantidos em formol tamponado a 10 %, os fragmentos hepáticos foram submetidos às técnicas histológicas habituais. Foram realizados cortes de 5 µm, em secções transversais, em inclusões em parafina e corados com hematoxilina-eosina (HE).

As lâminas foram confeccionadas em triplicata para cada animal, sendo somente uma corada com HE.

Para estudo morfométrico, as lâminas foram digitalizadas (3D HISTECH). A leitura das lâminas foi realizada por meio do *software Pannoramic Viewer 3D HISTECH version 1.15.1*.

Cada lâmina foi codificada e a leitura realizada por um patologista sem conhecimento prévio dos tratamentos aos quais os animais foram submetidos.

A avaliação histológica da presença de gordura vesical no fígado foi semi-quantitativa, de acordo com Frota et al., (2008) (Tabela 4).

Tabela 4 – Escores de esteatose hepática e significados clínicos.

Escore	Significado clínico
0	Ausência de esteatose
1+	Esteatose focal (> 50 % das veias centro-lobulares)
2+	Esteatose em mais de 50 % das veias centro-lobulares
3+	Esteatose difusa
4+	Esteatose difusa e intensa

A inflamação do parênquima hepático e inflamação do espaço porta foram classificadas de acordo com Brunt et al., (1999) com modificações e os escores encontram-se descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Escores de inflamação (parenquimatosa e portal) e significados clínicos.

Escore	Parenquimatosa	Portal
0	Ausência de inflamação	Ausência de inflamação
1+	1-2 focos por campo de 20X	Inflamação leve
2+	< 2 focos por campo de 20x	Inflamação focal
3+	2-4 focos por campo de 20x	Inflamação moderada
4+	> 4 focos por campo de 20x	Inflamação grave

A análise histológica foi realizada em parceria com a equipe do Laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina da USP.

O estudo da histologia foi realizado somente com os animais do Ensaio B.

4.8 Análises nas fezes

4.8.1 Colesterol

Alíquotas de 50mg de fezes foram submetidas à saponificação com 500 µL de metanol e 200 µL de solução de NaOH 5M, por duas horas em banho-maria a 80 °C sob agitação.

Após resfriamento, foi adicionada solução saturada de NaCl, em seguida o colesterol foi extraído três vezes com 1 mL de hexano (TERPSTRA et al., 1998).

A amostra foi seca e ressuspensa em 1 mL de n-hexano grau HPLC para a análise em equipamento de cromatografia líquida (Shimadzu LC-20AT), com detector de varredura UV/VIS. O volume de injeção foi de 20 µL. A fase móvel foi n-hexano/isopropanol (97:3 v/v), com fluxo isocrático de 1 mL/min, e a fase estacionária composta por Sílica. A leitura foi realizada no comprimento de onda de 206 nm e o tempo de corrida da amostra de 8 minutos. As análises foram realizadas em quadruplicatas.

4.8.2 Ácidos biliares

Os ácidos biliares foram quantificados por meio do kit *Total Bile Acids* Assay da marca Diazyme (San Diego, USA).

Previamente, alíquotas de 50 mg de fezes foram homogeneizadas com 1 mL de tert-butanol a 50 % e mantidas a 37 °C, sob agitação por 20 minutos, para extração das frações lipídicas. As amostras foram então centrifugadas (10000 x g/2minutos) para obtenção do sobrenadante, contendo os ácidos biliares (VAN DEER MER et al., 1985).

Após a adição dos reagentes contidos no kit, as amostras, o branco e o padrão, foram submetidos às leituras de absorbância em espectrofotômetro (Shimadzu – UV-1650PC)) nos tempos 60 s e 120 s, a 37 °C, com comprimento de onda de 405nm.

Para o cálculo da quantidade de ácidos biliares nas amostras, foi utilizada a equação fornecida pelo kit e os resultados expressos em $\mu\text{mol/L}$.

Estas análises foram realizadas em quadruplicatas.

4.9 Análises estatísticas

Primeiramente foi verificado se cada variável tinha distribuição normal, através das medidas de *kurtosis* e *skewness*. A seguir, foram realizados testes para detecção de diferença entre médias.

Para comparação de diferenças entre duas amostras foi utilizado o teste *t-Student*. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para comparar três ou mais variáveis, seguida do teste de Tukey, quando detectada diferença entre grupos. As médias foram consideradas diferentes ao nível de 5 % de significância.

Para análise dos graus de esteatose e inflamação hepática foi utilizado o teste χ -quadrado, ao nível de significância de 5 %. Quando

detectada relação de dependência entre as variáveis, o *odds ratio* foi determinado.

Todas as análises estatísticas foram feitas no *software Statistical Package for Social Sciences 16.0* (SPSS – IBM).

Os resultados foram expressos em média e desvio padrão (para as análises em matéria-prima) ou erro padrão (para materiais biológicos).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS

Os valores obtidos da composição centesimal da farinha integral crua e da farinha integral cozida liofilizada do feijão carioca encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 - Composição centesimal (g/100 g) do feijão carioca cru (cultivar Pérola) e do feijão carioca liofilizado, em base seca.

Componentes	Feijão carioca cru	Farinha feijão carioca
Umidade	9,97 ±0,74 ^a	15,36 ±0,14 ^b
Cinzas	4,13 ±0,03 ^a	4,47 ±0,01 ^b
Proteínas*	23,21 ±1,22 ^a	20,82 ±1,00 ^a
Lipídios	1,27 ±0,05 ^a	1,94 ±0,06 ^b
Carboidratos**	71,39	72,77
Total	100	100

Notas:*Fator de conversão = 6,25 ** Calculado por diferença

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa, teste t de *Student* ($p < 0,05$)

Média ±desvio padrão

Quanto ao conteúdo de proteína do cultivar Pérola, a literatura apresenta dados próximos aos obtidos neste estudo. Os valores encontrados para feijão carioca cru foram 22,85 % (RIBEIRO et al., 2005), 25,61 % (PROLLA et al., 2010) e 22,57 % (RAMIREZ-CÁRDENAS et al., 2008) e para seus grãos cozidos 22,24 % (RAMIREZ-CÁRDENAS et al., 2008) e 21,30 % (PIRES et al., 2005).

Os conteúdos de lipídios do feijão carioca cru e cozido liofilizado, 1,27 % e 1,94 %, estão de acordo com RAMIREZ-CÁRDENAS et al., (2008); TOLEDO & CANNIATTI-BRAZACA, 2008; BRIGIDE & CANNIATTI-BRAZACA (2011).

A composição centesimal do feijão preto, farinha integral crua e de sua farinha cozida liofilizada, encontra-se na Tabela 7.

Tabela 7 - Composição centesimal (g/100 g) do feijão preto cru (cultivar Uirapuru) e do feijão preto liofilizado, em base seca.

Componentes	Feijão preto cru	Farinha feijão preto
Umidade	6,98 ±0,70 ^a	16,67 ±0,47 ^b
Cinzas	4,28 ±0,05 ^a	4,29 ±0,04 ^a
Proteínas*	23,54 ±0,56 ^a	23,38 ±0,22 ^a
Lipídios	1,38 ±0,04 ^a	1,57 ±0,31 ^a
Carboidratos**	70,80	70,76
Total	100	100

Notas: *Fator de conversão = 6,25 ** Calculado por diferença

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa, teste t de *Student* ($p < 0,05$)
Média ±desvio padrão

Os valores da composição centesimal do cultivar Uirapuru são ainda escassos e controversos. Segundo Pereira et al., (2011) o teor de proteínas é de 21,80 %, entretanto Ribeiro et al., (2005) encontraram 25,32 %.

São notadas semelhanças comparando-se os valores de lipídios da farinha cozida liofilizada do cultivar Uirapuru, 1,57 %, com outras cultivares de feijão preto cozido, como o Diamante negro e Ouro negro, que apresentam 1,43 % e 1,21 %, respectivamente (PIRES et al., 2005).

Tanto o feijão preto cru, quanto a sua farinha cozida e liofilizada apresentam o conteúdo de lipídios de acordo com o que é relatado na literatura para a espécie *Phaseolus vulgaris* (ANTUNES et al., (1995); PIRES et al., (2005); RAMIREZ-CÁRDENAS et al., 2008 e PROLLA, 2010).

Os teores de proteínas das farinhas cozidas dos feijões carioca e preto encontrados estão de acordo com Antunes et al., (1995), Pires et al., (2005) e Ramirez-Cárdenas et al., (2008), que encontraram valores entre 18,57 e 27,34 g/100 g, em diversas variedades e cultivares da espécie *Phaseolus vulgaris*.

Os grãos crus apresentam teores de proteínas em concordância com aqueles encontrados por Ramirez-Cárdenas et al., (2008) e Prolla et al., (2010), entre 22,57 e 25,61 g/100 g, em diversas variedades e cultivares para esta espécie.

Os resultados do teor de cinzas dos feijões crus e das farinhas cozidas liofilizadas estão em concordância com a literatura, sendo que os teores podem variar de 3,36 a 4,40 % para os grãos crus (TOLEDO & CANNIATTI-BRAZACA, et al., 2008; PROLLA, 2010; BRIGIDE & CANNIATTI-BRAZACA, 2011) e de 3,90 a 4,20 % para os grãos cozidos (PIRES et al, 2005; RAMIREZ-CÁRDENAS et al, 2008).

O teor de cinzas da farinha de feijão carioca apresentou diferença significativa em relação ao feijão cru, o que não foi observado para o feijão preto.

Como a água da autoclavagem foi utilizada no congelamento e liofilização, não ocorreram perdas dos minerais. O uso da água de remolho

ou da água de cocção pode ter diminuído as perdas de minerais, como o zinco e o cálcio (RAMIREZ-CÁRDENAS et al., 2010).

O maior teor de umidade, encontrado nas duas farinhas, é explicado pelo processo de cozimento por autoclavagem, que exige a adição de água na proporção 2:1 (água/feijão) e pelo processo de liofilização que remove parte da umidade adquirida.

A autoclavagem garante que a temperatura atingida (~121 °C) mantida por 30-45 minutos, desnatura os inibidores protéicos de proteases, portanto inativando-os (KAKADE et al., 1969). O uso de liofilização e congelamento não revertem a inativação destas proteínas (GENONESE & LAJOLO, 2001).

A Tabela 8 apresenta os dados de fibras alimentares das matérias-primas estudadas e a comparação com a literatura.

Tabela 8 - Teores de Fibra Alimentar Total (FAT), Fibra Alimentar Insolúvel (FAI) e Fibra Alimentar Solúvel (FAS) das farinhas cozidas liofilizadas de feijão carioca e de feijão preto e comparação com a literatura, em base seca (g/100 g).

Feijão	FAT*	FAI	FAS
Carioca (cultivar Pérola)	29,35±1,30^a	25,93 ±1,22^a	3,7 ±0,58^a
LONDERO <i>et al</i> , (2006)	25,93	23,44	2,48
RAMIREZ-CÁRDENAS <i>et al</i> , (2008)	28,69	24,45	4,24
PROLLA <i>et al</i> , (2010)	23,96	19,23	4,72
Preto (cultivar Uirapuru)	29,83±0,55^a	25,47 ±0,59^a	4,11 ±0,27^a
LONDERO <i>et al</i> , (2006)**	25,22	21,68	3,53
RAMIREZ-CÁRDENAS <i>et al</i> , (2008)**	28,69	24,45	4,24
PROLLA <i>et al</i> , (2010)**	22,70	17,84	4,87

*FAT= FAI+FAS

**cultivar Diamante Negro

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa, teste t de Student ($p < 0,05$)

Média ±desvio padrão

Quanto aos teores de fibra alimentar total e de suas frações, as farinhas cozidas liofilizadas não apresentaram diferenças significativas.

Por escassez de dados da cultivar Uirapuru, a comparação foi realizada com a cultivar Diamante Negro.

Mais de 80 % da fibra alimentar dos feijões é devido à fração insolúvel. Portanto, os dados aqui encontrados estão de acordo com a literatura (KUTOS *et al.*, 2003; LONDERO *et al.*, 2008).

O processamento térmico modifica o conteúdo de fibras alimentares dos grãos, promovendo aumento da fração insolúvel, principalmente de amido resistente. A adição de água associada às altas temperaturas de cocção promove a gelatinização do amido, processo irreversível que ocorre

principalmente em alimentos ricos em amilose. Outro tipo de tratamento, como manter os grãos imersos em água antes da cocção, promove aumento do teor de fibras solúveis (KUTOS et al., 2003).

O perfil de aminoácidos das farinhas integrais dos feijões, assim como a recomendação da Fao/WHO e os escores químicos são mostrados no Tabela 9.

O escore químico de aminoácido é determinado pela razão entre a quantidade de cada aminoácido presente na proteína testada e seu valor recomendado para pré-escolares (Fao/WHO, 1991).

Tabela 9 - Perfil de aminoácidos das farinhas integrais dos feijões carioca e preto, escores químicos dos aminoácidos das farinhas e a recomendação da Fao/WHO (g/100 g proteína).

Aminoácidos	Feijão carioca	Feijão preto	Escore químico Feijão carioca	Escore químico Feijão preto	Recomendação Fao/WHO¹
Alanina	3,71	3,89	---	---	---
Arginina	6,95	6,12	---	---	---
Ácido aspártico	11,87	12,28	---	---	---
Glicina	4,91	4,83	---	---	---
Isoleucina	4,50	4,53	1,60	1,62	2,80
Leucina	8,26	8,60	1,25	1,30	6,60
Ác. Gutâmico	14,58	15,87	---	---	---
Lisina	8,42	8,30	1,45	1,43	5,80
Metionina + Cistina	1,99	2,31	0,80*	0,93*	2,50
Fenilalanina + Tirosina	9,36	9,97	1,49	1,58	6,30
Treonina	3,82	3,46	1,12	1,02	3,40
Triptofano	1,31	0,98	1,19	0,89*	1,1
Prolina	4,55	4,58	---	---	---
Valina	5,28	5,13	1,46	1,51	3,50
Histidina	3,24	2,27	1,70	1,19	1,90
Serina	6,17	6,89	---	---	---

*aminoácido limitante.

¹ Requerimento mínimo para crianças de 2-5 anos.

Ao observar os escores químicos dos aminoácidos, conclui-se que os aminoácidos limitantes do feijão carioca foram a metionina e cistina.

O perfil de aminoácidos da farinha de feijão carioca está de acordo com Ribeiro et al., (2007), Pires, et al., (2006) e Antunes et al., (1995).

Os escores químicos de aminoácidos estão muito próximos aos encontrados por Pires et al., (2006) para o feijão carioca, cultivar Pérola, mas o escore de aminoácidos sulfurados (metionina+cisteína) encontra-se 14 % menor do que o valor encontrado neste estudo.

Para o feijão preto, além metionina e cistina, o triptofano foi limitante. Não é comum encontrar na espécie *Phaseolus vulgaris* o triptofano como aminoácido limitante. Os teores deste aminoácido podem variar de 1,02 a 1,32 g/100g de proteína (ANTUNES et al., 1995). A comparação dos resultados de aminoácidos da cultivar Uirapuru é limitada, pois é uma cultivar pouco estudada.

As diferenças encontradas na composição dos alimentos são atribuídas às condições de cultivo, como o conteúdo de minerais do solo e condições de tempo de armazenamento (PROLLA et al., 2010).

Quanto ao perfil de aminoácidos do feijão preto, não foi possível comparar com a cultivar Uirapuru, mas comparando-a com outras cultivares do grupo preto, como Diamante Negro, Rio Tibagi e BRS Valente, notam-se semelhanças (RIBEIRO et al., 2007; RIBEIRO et al., 2010).

5.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS DIETAS

Os resultados obtidos na análise da composição centesimal das dietas do Ensaio A (Tabela 10) revelou que as formulações estavam de acordo com o planejado (Tabela 2), sendo isoprotéicas, isolipídicas e isocalóricas.

Tabela 10 - Composição centesimal das dietas experimentais do Ensaio A (g/100 g), em base seca.

Componentes	Controle	Feijão Carioca	Feijão Preto
Umidade	12,51 $\pm$ 0,15 ^a	12,31 $\pm$ 0,16 ^a	12,61 $\pm$ 0,14 ^a
Cinzas	2,77 $\pm$ 0,20 ^a	2,99 $\pm$ 0,17 ^a	2,96 $\pm$ 0,18 ^a
Proteínas*	20,41 $\pm$ 0,88 ^a	20,92 $\pm$ 1,00 ^a	21,61 $\pm$ 0,91 ^a
Lipídeos	14,02 $\pm$ 0,02 ^a	14,05 $\pm$ 0,03 ^a	14,06 $\pm$ 0,02 ^a
Carboidratos**	62,80	62,04	61,37
Energia total (kcal/ 100g dieta)	459,02	458,29	458,46

Notas:

*Fator de conversão= 6,25

** Calculado por diferença

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa, ANOVA, Teste de Tukey ($p < 0,05$)

Média $\pm$ desvio padrão

As composições centesimais do Ensaio B são apresentadas na Tabela 11.

Tabela 11 - Composição centesimal das dietas experimentais do Ensaio B, representadas em g/100 g, em base seca.

Componentes	Controle	Feijão Carioca	Feijão Preto
Umidade	2,33 ±0,28 ^a	3,63 ±0,88 ^b	4,94 ±0,12 ^c
Cinzas	2,78 ±0,17 ^a	3,57 ±0,03 ^b	3,60 ±0,20 ^b
Proteínas*	22,21 ±0,47 ^a	23,94 ±1,61 ^a	24,25 ±0,50 ^a
Lipídeos	16,03 ±0,16 ^a	16,66 ±0,15 ^b	16,04 ±0,13 ^a
Carboidratos**	58,98	55,83	56,11
Energia total (kcal/ 100g dieta)	469,03	469,02	465,80

Notas:

*Fator de conversão= 6,25

** Calculado por diferença

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa, ANOVA, Teste de Tukey ($p < 0,05$)

Média ± desvio padrão

As dietas do Ensaio B estavam com a composição de acordo com o que foi planejado (Tabela 3). Somente o grupo do feijão carioca apresentou diferença significativa ($p = 0,04$), provavelmente pelo baixo desvio-padrão obtido com a análise em triplicata.

Os grupos FC e FP apresentaram diferenças significativas quanto aos teores de cinzas. Os feijões desta espécie apresentam grandes quantidades de magnésio, ferro, zinco e outros minerais, o que pode ter representado este valor total nestas leguminosas (RAMIREZ-CÁRDENAS et al., 2010).

Nos dois ensaios biológicos, as dietas experimentais dos grupos FC e FP receberam complementação com caseína, portanto não foi realizada a suplementação de nenhum aminoácido nos grupos dos feijões. Desta

maneira, a necessidade protéica para roedores em fase de crescimento foi atingida (REEVES et al., 1993).

A Tabela 12 apresenta a composição de ácidos graxos das dietas experimentais do Ensaio B.

Tabela 12 - Perfil de ácidos graxos das dietas experimentais do Ensaio B, valores expressos em porcentagem.

Ácido Graxo	Grupo Controle	Grupo Feijão	Grupo Feijão
		Carioca	Preto
Caprílico (C8:0)	3,64 ±1,14	4,13 ±1,43	3,90 ±0,31
Cáprico (C10:0)	3,03 ±0,57	4,07 ±1,02	3,26 ±0,23
Láurico (C12:0)	41,95 ±3,17	46,43 ±4,87	41,83 ±0,55
Mirístico (C14:0)	13,52 ±0,48	12,06 ±2,03	13,50 ±0,16
Palmítico (C16:0)	8,81 ±0,92	7,30 ±1,95	8,77 ±0,18
Esteárico (C18:0)	2,46 ±0,42	2,02 ±0,63	2,51 ±0,07
Oléico (C18:1 cis)	17,84 ±1,96	14,19 ±3,64	17,26 ±0,51
Linoléico (C18:2 n6 cis)	8,44 ±0,66	7,14 ±1,27	7,95 ±0,14
Linolênico (C18:3 n3)	0,63 ±0,04	1,11 ±0,09	1,03 ±0,04

Média ±desvio padrão

Pela presença da gordura de coco em todos os grupos, as quantidades de ácidos graxos saturados, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico e esteárico foram semelhantes entre os grupos.

O perfil de ácidos graxos insaturados ficou muito próximo em todos os grupos. O teor de ácido linolênico é 76 % maior no grupo FC e 63 % maior no grupo FP em relação ao grupo C, porque nos feijões desta espécie este ácido graxo compõe de 41-46 % do total de ácidos graxos dos grãos (SUTIVISED SAK et al., 2011).

5.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Consumo alimentar e ganho de peso dos animais

A Tabela 13 apresenta os dados de consumo alimentar e peso dos animais no Ensaio A.

Tabela 13 - Peso inicial, peso final, ingestão total de dieta, consumo diário médio, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos animais do Ensaio A.

Variáveis	Grupo Controle	Grupo Feijão Carioca	Grupo Feijão Preto
Peso inicial (g)	64,61 ±3,94 ^a	67,785 ±4,05 ^a	67,08 ±3,07 ^a
Peso final (g)	94,17 ±7,48 ^a	118,31 ±3,55 ^b	122,00 ±4,26 ^b
Ingestão (g)	163,52 ±4,57 ^a	193,29 ±18,46 ^a	224,85 ±25,70 ^a
Consumo diário médio (g)	7,78 ±0,22 ^a	9,21 ±0,88 ^a	10,71 ±1,22 ^a
Ganho de Peso (g)	29,57 ±6,78 ^a	50,52 ±4,33 ^{ab}	52,92 ±5,92 ^b
CEA (%)	18,23 ±4,48 ^a	26,91 ±2,18 ^a	24,94 ±2,15 ^a

Notas: CEA (%)= ganho de peso/ingestão total de dieta X 100

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa, ANOVA, Teste de Tukey ($p < 0,05$)

Média ± erro padrão

No Ensaio A, os grupos FC e FP apresentaram peso final diferente do grupo C, no entanto observou-se que o ganho de peso de FC e C foram iguais, assim como o de FC e FP. Apesar disso, não houve diferença no consumo diário e ingestão total de dieta, assim como no coeficiente de eficiência alimentar entre os grupos.

A Tabela 14 ilustra os valores de consumo alimentar e peso dos hamsters do Ensaio B.

Tabela 14 - Peso inicial, peso final, ingestão total de dieta, consumo diário médio, ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos animais do Ensaio B.

Variáveis	Grupo Controle	Grupo Feijão Carioca	Grupo Feijão Preto
Peso inicial (g)	60,93 ± 1,09 ^a	59,33 ± 1,28 ^a	59,38 ± 1,55 ^a
Peso final (g)	90,73 ± 3,33 ^a	97,59 ± 2,53 ^a	98,34 ± 3,14 ^a
Ingestão (g)	108,94 ± 9,35 ^a	176,06 ± 18,66 ^b	176,74 ± 18,40 ^b
Consumo diário médio (g)	5,20 ± 0,45 ^a	8,38 ± 0,88 ^b	8,41 ± 0,87 ^b
Ganho de Peso (g)	29,79 ± 3,32 ^a	38,25 ± 2,31 ^a	38,96 ± 3,06 ^a
CEA (%)	27,74 ± 2,90 ^a	23,45 ± 2,59 ^a	23,35 ± 2,04 ^a

Notas: CEA (%)= ganho de peso/ingestão total de dieta X 100

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa, ANOVA, Teste de Tukey ($p < 0,05$)

Média ± erro padrão

Semelhante ao ocorrido no Ensaio A, no Ensaio B os grupos FC e FP apresentaram consumo diário médio e ingestão total de dieta diferentes do grupo Controle, mas o peso final, o ganho de peso e o CEA foram iguais entre os grupos.

Os maiores consumos alimentares observados nos grupos FC e FP, são explicados pela maior palatabilidade das dietas elaboradas com feijões do que aquela elaborada com caseína devido à presença dos flavonóides e polifenóis, compostos que além de antioxidantes, conferem aroma e sabor aos grãos cozidos (AKILIOGLU & KARAKAYA, 2010).

Perfil de Lipídios Plasmáticos

Para a coleta de sangue optou-se por fazer jejum médio de 2 horas para não submeter os animais ao estresse por privação de alimento. Foi verificado por Weigand & Daggy (1991) que não há diferença no perfil das lipoproteínas plasmáticas em hamsters submetidos a 18 horas de jejum e aqueles que não foram submetidos ao jejum.

A Tabela 15 apresenta os valores basais do perfil de lipídios plasmáticos e dos grupos que receberam as dietas experimentais do Ensaio A.

Tabela 15 - Concentração plasmática de colesterol total, HDL-colesterol, colesterol não HDL e triglicerídios dos animais do Ensaio A.

Grupo	Colesterol Total (mg/dL)	Triglicerídios (mg/dL)	HDL colesterol (mg/dL)	Colesterol não HDL (mg/dL)
Basal	80,05 ±5,06 ^a	75,50 ±4,93 ^a	52,50 ±1,20 ^a	17,72 ±3,44 ^a
Controle	118,00 ±9,41 ^b	59,00 ±3,14 ^a	90,00 ±10,23 ^b	16,20 ±4,61 ^a
Feijão carioca	126,25 ±6,56 ^b	56,00 ±3,66 ^a	85,50 ±7,27 ^{ab}	29,55 ±2,94 ^{ab}
Feijão preto	141,43 ±8,71 ^b	63,28 ±7,08 ^a	89,29 ±8,94 ^b	38,06 ±4,60 ^b

Notas: *Colesterol não HDL (VLDL+LDL) = Colesterol Total-HDLcolesterol

Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa, ANOVA, Teste de Tukey ($p < 0,05$) Média ± erro padrão

O Ensaio A revelou que as quantidades de FC e FP adicionados à dieta não foram capazes de proteger do efeito hipercolesterolemizante da dieta. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para as concentrações de colesterol total, triglicerídios e HDL colesterol.

Apesar da concentração de colesterol não HDL estar maior em FP, isso pode ser atribuído ao maior ganho de peso dos animais deste grupo.

A dieta com 13,5 % de gordura saturada e 0,1 % de colesterol foi capaz de induzir a hipercolesterolemia em todos os grupos dos dois ensaios, resultados que corroboram estudos prévios conduzidos com o mesmo delineamento experimental (FROTA et al., 2008; MENDONÇA et al., 2009; FONTANARI et al., 2012).

No hamster, aumentos do colesterol e dos ácidos graxos saturados (óleo de coco hidrogenado) da dieta promovem supressão dos receptores dependentes de LDL no fígado, o que aumenta a concentração plasmática de LDL. Assim que o colesterol e os ácidos graxos saturados são retirados da dieta, os níveis plasmáticos de LDL se regularizam, assim como a supressão dos receptores de LDL no fígado. Portanto, modificações no perfil lipídico da dieta revertem o quadro de hipercolesterolemia nestes animais (SPADY & DIETSCHY, 1988).

Os perfis de lipídios plasmáticos basais e ao final do período experimental do Ensaio B, encontram-se na Tabela 16.

Tabela 16 - Concentração plasmática de colesterol total, HDL-colesterol, colesterol não HDL e triglicerídios dos animais do Ensaio B.

Grupo	Colesterol Total (mg/dL)	Triglicerídios (mg/dL)	HDL colesterol (mg/dL)	Colesterol não HDL (mg/dL)*
Basal	75,50 ±6,34 ^a	64,25 ±2,01 ^a	25,75 ±4,00 ^a	49,75 ±5,76 ^a
Controle	258,44 ±15,5 ^b	234,67 ±19,62 ^b	68,67 ±3,01 ^b	189,77 ±14,59 ^b
Feijão carioca	283,56 ±10,12 ^b	250,22 ±20,3 ^{bc}	96,44 ±5,16 ^c	187,11 ±11,47 ^b
Feijão preto	304,22 ±16,90 ^b	344,90 ±16,65 ^c	85,00 ±4,45 ^{bc}	219,22 ±15,10 ^b

Notas: *Colesterol não HDL (VLDL+LDL) = Colesterol Total – HDLcolesterol

Letras diferentes na mesma coluna representam diferença significativa, ANOVA, Teste de Tukey (p < 0,05) Média ± erro padrão

Observa-se que os animais do Ensaio A apresentam valores plasmáticos basais e finais menores que os do Ensaio B, isto se deve ao fato de que animais de linhagens diferentes podem apresentar respostas distintas frente a tratamentos semelhantes (DORFMAN et al., 2003).

O Ensaio B revelou que os feijões carioca e preto não promoveram proteção contra o efeito hipercolesterolemizante, mesmo em quantidade superior àquela adicionada nas dietas do Ensaio A.

Com relação ao colesterol total e colesterol não HDL não foram observadas diferenças significativas entre grupos. Quanto aos triglicerídios, o grupo Feijão Preto apresentou média significativamente maior que o grupo Controle.

Hamsters alimentados com banha suína, rica em ácidos graxos saturados, e colesterol desenvolvem hipertrigliceridemia (GAO et al., 2010),

o que significa que os feijões aqui estudados não desempenharam fator protetor.

Kingman et al., (1993) verificaram em porcos, que a adição de 30 % de feijão (*Phaseolus vulgaris*), à dieta com 1 % de colesterol diminuiu as concentrações de colesterol total e HDL colesterol, mas não promoveu redução significativa colesterol não HDL. Os resultados do perfil plasmático de lipídios obtidos com as variedades da espécie *Phaseolus vulgaris* são contrários aos observados com outros tipos de leguminosas.

Em estudo experimental, o feijão caupi apresentou notável capacidade de reduzir os níveis de colesterol aterogênico em hamsters. Tanto o grão integral como a sua proteína isolada propiciaram o efeito hipocolesterolêmico e, conseqüente efeito hepatoprotetor. Dentre os possíveis mecanismos propostos para estes resultados alegou-se que a fração solúvel da fibra teria aumentado a excreção fecal de ácidos biliares e a inibição da síntese do colesterol foi ocasionada por componentes do feijão caupi, provavelmente peptídios bioativos (FROTA et al., 2008).

Fontanari et al., (2012) observaram efeito hipocolesterolemizante do tremço (*Lupinus albus*) em hamsters alimentados com dieta rica em gordura saturada e colesterol. Os grupos que receberam a adição de farinha integral de tremço ou seu isolado protéico apresentaram redução do colesterol plasmático total de 16,88 % e 15,30 %, respectivamente.

Nakamura et al., (2009) estudaram em ratos os feijões kintoki e tebou cozidos e fermentados da espécie *Phaseolus vulgaris* e observaram que as

pastas fermentadas reduziram colesterol não HDL, acompanhados por reduzida atividade da enzima HMG-CoA redutase.

Já o resíduo de okara, subproduto da soja, foi utilizado em diversas concentrações em hamsters e apenas foi observada redução das concentrações plasmáticas de colesterol total e colesterol não HDL, quando utilizado 20 % de fibra de okara (VILLANUEVA et al., 2011).

Em porcos previamente hipercolesterolemizados, observou-se redução do colesterol total e colesterol não HDL após a adição de ervilhas cruas (*Pisum sativum*) às dietas ricas em colesterol, no entanto a HDL colesterol manteve-se sem alterações (MARTINS et al., 2004).

Ao observar as concentrações plasmáticas de HDL colesterol nota-se que os grupos que receberam feijão apresentam valores superiores aos do grupo Controle. No entanto, somente os níveis de HDL colesterol do grupo FC são diferentes significativamente dos observados nos demais grupos.

O aumento do HDL colesterol nos grupos dos feijões deve ser avaliado com cautela, já que esta fração reflete apenas o conteúdo de colesterol no total de partículas HDL (FRANCIS, 2010).

O balanço entre a produção dos precursores da HDL e sua remoção do plasma são os responsáveis por determinar a concentração plasmática das partículas de HDL.

O receptor scavenger B-1 (SR-B1) apresenta alta afinidade pela HDL, promovendo a captação seletiva de ésteres de colesterol da fração HDL do colesterol no fígado. Em hamsters foi observado que a dieta rica em óleo de coco hidrogenado aumentou a expressão do SR-B1, aumentando o fluxo de

HDL colesterol para o fígado e consequentemente diminuindo suas concentrações plasmáticas (SPADY et al.,1999).

No presente estudo observou-se que mesmo com dieta rica em ácidos graxos saturados e colesterol as concentrações plasmáticas de HDL estão aumentadas e isso pode sugerir que os receptores SR-B1 foram inibidos, seja pela adição das farinhas de feijões às dietas, ou pela diminuição da expressão/ saturação dos receptores de colesterol.

Oliveira et al., 2011 realizaram estudo com dieta semelhante à utilizada neste estudo, e observam aumentos do colesterol total, colesterol não HDL e HDL colesterol em relação a animais com dieta isenta de colesterol. A atividade da CETP ficou aumentada como resultado da transferência de fosfolípidios, colesterol esterificado e triacilgliceróis frente a oferta da dieta hiperlipídica. Outro aspecto avaliado foi a atividade da paroxonase-1 (PON), enzima presente na HDL com habilidade de prevenir o acúmulo de peróxidos da LDL e na parede dos vasos. Foi observado que sua atividade não foi alterada nos hamsters com dieta hiperlipídica. A análise histológica da aorta revelou que as paredes da artéria não tiveram seu diâmetro alterado, no entanto, detectou-se maior presença de colesterol livre, indicando maior atividade da lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT), responsável por esterificar o colesterol livre circulante no plasma.

Os feijões utilizados neste estudo não foram capazes de proteger contra o efeito hipercolesterolemizante da dieta e uma das possíveis explicações para este resultado é a diferença dos perfis de aminoácidos entre as leguminosas de diferentes espécies e gêneros.

É possível que a digestão das proteínas das variedades aqui investigadas não tenham promovido a formação de peptídios com ação hipocolesterolemizante, como àqueles que se formam na digestão do isolado protéico de amaranto, soja e tremoço (MENDONÇA et al., 2009; VAZ, 2010; FASSINI et al., 2011; FONTANARI et al., 2012).

A espécie *Phaseolus vulgaris* apresenta grande variedade de grãos, que diferem entre si em muitos aspectos, inclusive no perfil de aminoácidos, fator determinante para ações no metabolismo, modulando enzimas, receptores e metabólitos. O feijão jamapa, da mesma espécie aqui estudada, é cultivado e consumido no México e não apresenta aminoácido limitante, nem mesmo a metionina e nenhum outro aminoácido (TORRUCO-UCO, 2009).

Colesterol e lipídios totais no fígado

Os resultados das análises de lipídios totais e colesterol no fígado estão representados na Tabela 17.

Tabela 17 – Quantidades de lipídios totais e colesterol nos fígados dos animais, grupos controle, feijão carioca e feijão preto.

Grupo	Lipídios totais (g/100 g fígado)	Colesterol (g/100g fígado)
Controle	3,53 ±0,27 ^a	0,14 ±0,01 ^a
Feijão carioca	3,13 ±0,16 ^a	0,18 ±0,01 ^b
Feijão preto	3,57 ±0,17 ^a	0,14 ±0,01 ^a

Notas: Letras diferentes na mesma coluna indicam que as médias diferem entre si, ANOVA, Tukey ($p < 0,05$). Média ± erro padrão

A análise de lipídios totais no fígado revela que não houve diferença significativa entre os grupos. Entretanto a quantidade de colesterol no fígado, de forma surpreendente, foi maior no grupo FC, sendo este também o grupo com maior excreção de ácidos biliares nas fezes (ver Tabela 18).

Os pesos médios dos fígados encontram-se ilustrados no Gráfico 4.

Gráfico 3 - Peso médio final dos fígados, de acordo com os grupos experimentais.

A análise de variância revelou que os pesos finais dos fígados não diferiram entre grupos, isto pode ser explicado pela igual deposição de lipídios totais nos fígados dos animais dos três grupos (Tabela 15).

O alto teor de lipídios na dieta de hamsters induz ao aumento de peso dos fígados, chegando a ficar até duas vezes mais pesados que os animais alimentados com dieta isenta de colesterol e gordura de coco. Além disso, as quantidades hepáticas de colesterol esterificado, fosfolipídios e triacilgliceróis ficaram aumentadas (OLIVEIRA et al., 2011).

Análises histológicas no fígado

O grau de esteatose hepática foi graduado em uma escala de 0 a 4+ (ver Tabela 4).

O gráfico a seguir mostra a distribuição percentual dos grupos experimentais de acordo com o grau de esteatose.

Gráfico 4 - Distribuição dos grupos (%) de acordo com o grau de esteatose hepática.

O teste do χ -quadrado revelou que não existe relação de dependência entre a variável tipo de dieta (controle, feijão carioca e feijão preto) e nível de esteatose hepática.

Estes resultados corroboram os achados das análises de lipídios totais no fígado (Tabela 17), que também não apresentaram diferenças entre os grupos experimentais.

Os fígados foram graduados quanto aos níveis de inflamação do parênquima hepático e níveis de inflamação do espaço porta-hepático (ver Tabela 5).

A Figura 7 representa a presença de vacuolização do parênquima hepático de um animal do grupo Feijão Carioca.

Figura 7- Fotomicrografias de secções de 5 µm de espessura do fígado coradas com HE, ilustrando presença de vacuolização (grau 4+) no parênquima hepático em hamster do Grupo Feijão Carioca. Aumentos de 1x (acima) e 40x (abaixo)

Ao observar o estudo histológico foi possível perceber, nos animais dos três grupos experimentais a presença de grandes áreas esbranquiçadas do parênquima hepático, ilustrando a presença de vacuolização celular

intensa e difusa. A vacuolização celular sugere a deposição de lipídios, e portanto doença hepática gordurosa não alcoólica (DGHNA).

Dentre as possíveis causas destaca-se a lipotoxicidade de alguns ácidos graxos saturados de cadeia longa, como o palmítico (SCHAFFER, 2003).

Em hamsters o consumo de ácidos graxos saturados e colesterol promove aumento da atividade da ACAT, responsável pela esterificação do colesterol intracelular, fazendo com que os hepatócitos aumentem de tamanho em até 28 % (OLIVEIRA et al., 2011).

Estudo com hamsters alimentados com a mesma composição lipídica do presente estudo, revelou que os fatores de transcrição da síntese de triglicerídios e fosfolipídios (proteína de transferência de triglicerídios microssomal – MTP e estearoil CoA desaturase – SCD1) estavam significativamente aumentados em relação aos animais alimentados com dieta convencional (GAO et al., 2010)

Algumas proteínas vegetais são capazes de modular o acúmulo de triacilgliceróis nos hepatócitos. O mecanismo envolve a diminuição da expressão dos genes da SREBP 2, enzima envolvida na síntese hepática de ácidos graxos e triacilgliceróis (SPIELMANN et al., 2007).

Frota et al., (2008) verificaram que a proteína isolada de feijão caupi e a farinha de feijão integral apresentaram efeito hepatoprotetor, assim como Fontanari et al., (2012) observaram este mesmo efeito para a proteína isolada e a farinha integral do tremoço.

No presente estudo a adição dos feijões às dietas hipercolesterolemizantes não apresentou efeito hepatoprotetor quanto à deposição de lipídios hepáticos.

A Figura 8 apresenta a distribuição percentual dos animais dos grupos experimentais, de acordo com o grau de inflamação parenquimatosa hepática.

Figura 8 - Distribuição dos grupos (%) de acordo com o grau de inflamação no parênquima hepático

Ao observar os gráficos, nota-se tendência de maior inflamação parenquimatosa no grupo controle, pois 62,5 % apresentaram o grau máximo de hepatite. A partir destas observações foi realizado o teste do χ^2 -*quadrado*, o qual revelou que o tipo de dieta experimental e as formas mais graves de inflamação parenquimatosa hepática (4+) são dependentes, para o grupo Feijão Carioca ($p=0,026$).

O *odds ratio* obtido revelou que chance de desenvolver o quadro mais grave de inflamação hepática no grupo Feijão Carioca foi 30% menor que no grupo Controle.

A figura 9 ilustra a presença de inflamação parenquimatosa hepática no animal do grupo Controle.

Figura 9 - Fotomicrografias de secções de 5 μ m de espessura do fígado coradas com HE, ilustrando a inflamação parenquimatosa em hamster do grupo Controle. Aumentos de 40x (acima) e 5x (abaixo) as setas indicam os focos de infiltrados linfo-histocitários.

A presença de triacilgliceróis em excesso no interior dos hepatócitos, resultado da ingestão prolongada de dieta hiperlipídica pelos animais pode

ter provocado a infiltração de inflamatórias. Os ácidos graxos saturados presentes nas dietas experimentais (Tabela 12) como caprílico, cáprico, láurico, mirístico e, principalmente o palmítico estão associados a alterações no metabolismo do colesterol, como por exemplo, diminuição dos receptores de LDL colesterol no fígado, aumento da enzima ACAT hepática e aumento da trigliceridemia (LOTTENBERG, 2009).

Cabe ressaltar que já foi constatado que a ingestão excessiva de refeições ricas em lipídios por indivíduos saudáveis provoca aumentos imediatos e significativos das concentrações plasmáticas dos indicadores de inflamação como o fator de necrose tumoral (TNF- α), a interleucina 6 e as moléculas de adesão VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule*) e ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule*) (NAPPO et al., 2002).

A LDL colesterol oxidada, circulante no plasma, é um elemento chave para as lesões ateroscleróticas, sendo considerada pró-inflamatória, na medida em que promove a indução de auto anticorpos, disfunção endotelial e bloqueio da ação dos macrófagos na lesão aterosclerótica. Em estudo realizado com adultos saudáveis, verificou-se que a LDL colesterol oxidada está positivamente correlacionada com as concentrações séricas de LDL colesterol (FERREIRA et al., 2012)

Já foi demonstrado que extratos de feijão comum são capazes de induzir apoptose de células carcinogênicas em ensaio *in vitro*. Neste estudo os autores atribuíram esta ação à presença dos compostos fenólicos no extrato, capazes de apresentar atividade de remoção de radicais livres (APARÍCIO-FERNÁNDEZ et al., 2008).

Os feijões, mesmo submetidos ao tratamento térmico são capazes de manter seus conteúdos de compostos fenólicos (AKILIOGLU & KARAKAYA, 2010). Por isso é possível que as farinhas de feijões liofilizadas tenham mantido seu potencial antioxidante.

Os menores graus de inflamação hepática observados nos grupos dos feijões, e de maneira significativa no Feijão Carioca indicam que os compostos antioxidantes podem ter diminuído a formação de radicais livres durante o processo inflamatório, diminuindo o grau de inflamação do parênquima hepático. Desta maneira o feijão carioca fez com que os animais deste grupo não apresentassem a forma mais grave de esteatoepatite.

A Figura 10 ilustra o espaço portal hepático de um animal do grupo Controle com grau de inflamação leve grau 1+.

Figura 10 – Fotomicrografia de secções de 5 µm de espessura do fígado coradas com HE, ilustrando a inflamação portal hepática em hamster do grupo Controle, em aumento de 10x. A seta indica infiltração linfo-histocitária periportal

O gráfico 5 apresenta a distribuição percentual dos grupos de acordo com o grau de inflamação portal hepática.

Gráfico 5 - Distribuição dos grupos (%) de acordo com o grau de inflamação portal hepática.

A partir do gráfico é possível observar que os três grupos experimentais apresentaram maior prevalência de inflamação portal hepática nos graus leve e moderada. O teste χ -quadrado revelou que as variáveis tipo de dieta experimental e inflamação portal hepática são independentes.

Teores de ácidos biliares e colesterol nas fezes

Os teores de ácidos biliares e colesterol nas fezes são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Excreção fecal de ácidos biliares e colesterol dos animais dos grupos controle, feijão carioca e feijão preto.

Grupo	Ácidos biliares ($\mu\text{mol/g}$ fezes)	Colesterol (g/100 g fezes)
Controle	$0,66 \pm 0,03^a$	$0,16 \pm 0,01^a$
Feijão carioca	$0,87 \pm 0,05^b$	$0,09 \pm 0,01^b$
Feijão preto	$0,60 \pm 0,02^a$	$0,07 \pm 0,01^c$

Notas: Letras diferentes na mesma coluna indicam que as médias diferem entre si, ANOVA, Tukey ($p < 0,05$).

Média $\pm$ erro padrão

O grupo C, apresentou maior excreção de colesterol nas fezes, em relação aos demais grupos experimentais. A ingestão de colesterol faz com que sua síntese seja diminuída por meio da inibição da enzima HMG-CoA redutase, e promove a redução dos receptores de LDL no fígado. Por outro lado a ACAT, responsável por esterificar o colesterol intracelular, tem a sua atividade aumentada (DIETSCHY & SPADY, 1993).

Portanto a menor excreção de colesterol dos grupos feijões indica que ocorreu aumento de sua esterificação hepática.

Kingman et al., (1993) não observaram diferenças na excreção fecal de colesterol entre os grupos que receberam colesterol e feijão, daquele que recebeu somente caseína e colesterol.

A soja e a aveia são capazes de aumentar a excreção fecal de colesterol, devido ao alto conteúdo de fibras solúveis. Hamsters alimentados com colesterol e 20 % de fibra proveniente da soja apresentam excreção fecal de lipídios (colesterol e triglicéridios) 90 % maior do que os animais que não receberam o resíduo da soja (VILLANUEVA et al., 2011).

Quanto aos ácidos biliares, o feijão carioca mostrou maior capacidade excretória, sendo 30 % maior que nos demais grupos, o que representa um mecanismo de compensação, já que as concentrações plasmáticas de colesterol total e colesterol não HDL ficaram elevadas. O aumento das concentrações intracelulares de colesterol inibe sua síntese endógena e provoca aumentos da síntese hepática de ácidos biliares (DIETSCHY & SPADY, 1993; LEIFERT & ABEYWARDENA, 2007).

Estes dados são contrários aos de FROTA et al., 2008, que encontraram, no grupo de animais alimentados com feijão caupi integral, 50 % mais excreção de ácidos biliares nas fezes e 3,5 vezes maior excreção de colesterol em relação ao grupo alimentado com caseína.

Os polissacarídeos solúveis, presentes em leguminosas, promovem a excreção do colesterol pelas fezes, e consequente aumento da produção hepática de ácidos biliares.

Martins et al., (2004), ao estudarem a ação da ervilha em porcos hipercolesterolemizados, encontraram 24 % maior produção de ácidos biliares. As excreções fecais de ácidos biliares e colesterol foram maiores no grupo das ervilhas, representando aumentos de 110 % e 92 %, respectivamente.

O grão de tremço integral aumentou a excreção fecal de colesterol e de ácidos biliares em 2,7 vezes em relação aos animais alimentados com colesterol e caseína (FONTANARI et al., 2012).

Ao que tudo indica, mesmo o feijão carioca tendo apresentado maior excreção de ácidos biliares, sua ação não é tão intensa quanto a de outras leguminosas, que são capazes de impedir a formação das micelas no lúmen intestinal, diminuindo sua solubilidade e consequentemente aumentando sua excreção pelas fezes (LEIFERT & ABEYWARDENA, 2007).

Provavelmente, outros componentes do feijão como a fibra insolúvel e os fitoesteróis não apresentaram capacidade de diminuir a solubilidades dos ácidos biliares e aumentar sua excreção fecal.

6. CONCLUSÕES

Os feijões das cultivares Pérola e Uirapuru não apresentaram efeito protetor no colesterol plasmático e no nível de esteatose hepática. No entanto foram capazes de manter altas as concentrações de HDL colesterol plasmático, mesmo com uma dieta rica em ácidos graxos saturados e colesterol.

O feijão carioca mostrou-se eficaz na proteção contra a inflamação parenquimatosa hepática severa. Este achado merece atenção e posteriores investigações.

7. REFERÊNCIAS

AKILIOGLU, HG; KARAKAYA, S. Changes in total phenols, total flavonoids, and antioxidant activities of common beans and pinto beans after soaking, cooking and *in vitro* digestion process. **Food Sci. Technol.** v. 19, n.3, 633-639, 2010.

APARICIO-FERNÁNDEZ, X; REYNOSO-CAMACHO, R; CASTAÑO-TOSTADO, E, et al. Antiradical capacity and induction of apoptosis on HeLa cells by *Phaseolus vulgaris* extract. **Plant Food Hum Nutr.** 63; 35-40, 2008.

ANDERSON, J.W.; STORY, L.; SIELING, B.;CHEN, W.J.L.; PETRO, M.S.; STORY, J.. Hypocholesterolemic effects of oat-bran or bean intake for hypercholesterolemic men. **Am. J Clin Nutr**, v. 40, p.1146-1155, 1984.

ANDERSON, J.W.; GUSTAFSON, N.J.; SPENCER, D.B.;TIETYEN, J.; BRYANT, C.A.. Serum lipid response of hypercholesterolemic men to single and divided doses of canned beans. **Am J Clin Nutr.** v. 51, p.1013-1019. 1990.

ANDERSON, J.W.; MAJOR, A.W. Pulses and lipaemia, short and long-term effect: Potential in the prevention of cardiovascular disease. **British Journal of Nutrition.** 88, suppl. 3, p.263-271, 2002.

ANTUNES, P.L.; BIHALVA, A.B.; ELIAS, M.C.; SOARES, G.J.D. Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L), cultivares rico 23, carioca, piratã-1 e rosinha G-2. **Revista Brasileira de Agrociência.** v1. n1, p.12-18, 1995.

AOAC—Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 17th ed. Gaithersburg, Md.: AOAC, 2005.

BASSO, R. Bioquímica do metabolismo dos lípides. *In*: SILVA, S.M.C.S.d.; MURA, J.D.P.. **Tratado de Alimentação, Nutrição & Dietoterapia**. São Paulo; Roca. p.55-63, 2007.

BAZZANO, L.A.; THOMPSON, A.M.; TEES, M.T.; NGUYEN, C.H.; WINHAM, D.M. Non-soy legume consumption lowers cholesterol levels A meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. 2009.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, v.37, n.8, p.911-17, 1959.

BONETT, L. P.; BAUMGARTNER, M. S. T.; KLEIN, A. C.; SILVA, L. I. Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus Vulgaris L.*). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 3, p. 235-246, 2007.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Aquisição alimentar domiciliar per capita. Brasil e Grandes Regiões**. Rio de Janeiro, 260p. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação Geral da Política Nacional de Alimentação e Nutrição. **Guia Alimentar para população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 210p, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema Único de Saúde. Indicadores e dados básicos. [homepage na internet] Brasil, 2010. Disponível em

<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2010/c08.def>> [Acesso em 20 de abril 2012].

BRIGIDE, P; CANNIATI-BRAZACA, SG. Avaliação dos efeitos da cocção e irradiação na composição do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alim Nutr**, v.22, n.1, 97-102, 2011.

BRUNT, EM; JANNEY, CG; DI BISCEGLIE, AM; NEUSCHWANDER-TETRI, BA; BACON, BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal of grading and staging the histological lesions. **Am J Gastroenterol**. 2467-2474, 1999.

CHAGAS, C.M.A.; ABDALLA, D.S.P; LIMA VERDE, S.M.M.; DAMASCENO, N.R.T..Influência do isolado protéico da soja e da caseína sobre a peroxidação lipídica. **Alim. Nutr**. v.6, n.3, p.309-316, 2006.

CHAU, C-F.; CHEUNG, P.C.K.Effects of the physico-chemical properties of three legume fibers on cholesterol absorption in hamsters. **Nutrition Research**. v.19,n.2, p.257-265, 1999.

DAMASCENO, N.R.T.; GOTO, H.; RODRIGUES, F.M.D.; DIAS, C.T.S.; OKAWABATA, F.S.; ABDALLA, D.S.P.; GIDLUND, M. Soy Protein Isolate Reduces the Oxidizability of LDL and the Generation of Oxidized LDL Autoantibodies in Rabbits with Diet-Induced Atherosclerosis. **J. Nutr**. v. 130, p.2641-2647, 2000.

DHANIA, S.P.; HEMA, C.G.. Small animal models of atherosclerosis. **Calicut Medical Journal**. v.6, n.4, p. 01-11, 2008.

DIETSCHY, J.M.; TURLEY, S.D.; SPADY, D.K. Role of liver in the maintenance of cholesterol and low density lipoprotein homeostasis in

different animal species, including humans. **Journal of Lipid Research**. V. 34, p.1637-1659, 1993.

DUANE, W.C. Effects of legume consumption on serum cholesterol, biliary acids, and sterol metabolism in humans. **Journal of Lipid Research**. V. 38, p. 1120-1128, 1997.

EMBRAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Microorganismos de importância agrícola. Documentos 44. Brasília, 2004.

EMBRAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa Arroz e Feijão. [Homepage na internet]. Brasília, 2010. Disponível em: < <http://www.cnpaf.embrapa.br/>> [acesso em 01 de abril 2012].

ESPOSITO, K.; MARFELLA, R.; CIOTOLA, M.; DI PABLO, C.; GIUGLIANO, G.; et al. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome. **JAMA**. v. 292, n.12, p. 1440-1446, 2004.

FAO – Food and Agriculture Organization/ WHO – World Health Organization. **Protein Quality Evaluation**. Food and Nutrition Paper, FAO, 1991.

FASSINI, PG; NODA, RW; FERREIRA, ES; SILVA, MA; NEVES, VA; DEMONTE, A. Soybean glycinin improves HDL-C and suppresses the effects of rosuvastatin on hypercholesterolemic rats. **Lipids on Health and Disease**. v.10, n.165, 01-07, 2011.

FERREIRA, PFC; ZAGO, VHS; D'ALEXANDRI, FL; PANZOLDO, NB; GIDLUND, MA; NAKAMURA, RT; SHREIBER, R; PARRA, ES; SANTIAGO, FD; NAKANDAKARE, ER; QUINTÃO, ECR; FARIA, EC.

Oxidized low-density lipoproteins and their antibodies: relationships with the reverse cholesterol transport and carotid atherosclerosis in adults without cardiovascular disease. **Clinica Chimica Acta.** 413; 1472-1478, 2012.

FONTANARI, G.G; BATISTUTI, JP; CRUZ, RJ; SALDIVA, PHN; ARÊAS, JAG. Cholesterol-lowering effect of whole lupin (*Lupinus albus*) seed and its protein isolate. **Food Chemistry.** 1521-1526, 2012.

FROTA, K.M.G.; MATIAS, A.C.G.; ARÊAS, J.A.G.. Influence of food components on lipid metabolism: scenarios and perspective on the control and prevention of dyslipidemias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v.30, suppl. 1, p. 7-14, 2010.

FROTA, K.M.G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P.H.N.; CRUZ, R.J.; ARÊAS, J.A.G. Cholesterol-Lowering Properties of Whole Cowpea Seed and its protein isolate in hamsters. **Journal of Food Science.** 73 (9); 235-240, 2008.

FRANCIS, GA. The complexity of HDL. **Biochimica et Biophysica Acta.** 1286-1293, 2010.

FUSTER, V. Aterosclerose, trombose e biologia vascular. *In*: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. **Cecil. Tratado de Medicina Interna.** Rio de Janeiro: Elsevier. p.442-448, 2005.

GAO, S; HE, L; DING, Y; LIU, G. Mechanisms underlying different responses of plasma triglyceride to high fat diets in hamster and mice: roles of hepatic MTP and triglyceride secretion. **Biochemical e Biophysical Research Communications.** 398, 619-626, 2010.

GASKINS, A.J.; ROVNER, A.J.; MUMFORD, S.L.; YEUNG, E.; BROWNE, R.W.; TREVISAN, M.; PERKINS, N.J. ET AL. Adherence to a Mediterranean diet and plasma concentrations of lipid peroxidation in premenopausal women. **Am J Clin Nutr.** v. 92, p. 1461-1467, 2010.

GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Atividade inibitória de tripsina do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): avaliação crítica dos métodos de determinação. **ALAN.** v.51, n.4, 2001.

GRAVEL, K.; LEMIEUX, S.; ASSELIN, G.; DUFRESNE, A.; LEMAY, A.; FOREST, J.C.; DODIN, S. Effects of pulse consumption in women presenting components of the metabolic syndrome: a randomized controlled trial. **Mediterr J Nutr Metab.** V.3,p. 143-151, 2010.

HEALTH CANADA. Eating well with Canada's food guide. [homepage na internet] Ottawa, Ontario, 2007 Disponível em <www.healthcanada.gc.ca/foodguide> [Acesso em 27 de dezembro de 2010].

IAPAR – Instituto Agrônômico do Paraná. Cultivar de Feijão IPR88 Uirapuru. Grupo preto de alta produtividade e ampla adaptação. [homepage na internet]. Disponível <http://www.iapar.br/arquivos/File/folhetos/feijao/ipr_uirapuru.html> [Acesso em 18 maio de 2012].

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Despesas, rendimentos e condições de vida. Rio de Janeiro, 222p, 2010.

ISHIMOTO, E.Y. **Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters.** São Paulo; 2008 [tese – Faculdade de Saúde pública/USP].

KABAGAMBE, E.K.; BAYLIN, A.; RUIZ-NARVAREZ, E.; SILES, X.; CAMPOS, H. Decreased consumption of dried mature beans is positively associated with urbanization and nonfatal acute myocardial infarction. **J. Nutr.** v.135, p. 1770-1775, 2005.

KAHLON, T.S.; CHIU, M.C.M.; CHAPMAN, M.H. Steam cooking significantly improves in vitro bile acid binding of beets, eggplant, asparagus, carrots, green beans, and cauliflower. **Nutrition Research.** V.27, p.750–755, 2007.

KATSANIDS, E; ADDIS, PB. Novel HPLC analysis of tocopherols, tocotrienols and cholesterol in tissue. **Free Rad Biol Med.** 27; 1137-1140, 1999.

KINGMAN, S.M.; WALKER, A.F.; LOW, A.G.; SAMBROOK, I.E.. Comparative effects of four legume species on plasma lipids and faecal steroid excretion in hypercholesterolaemic pigs. **British Journal of Nutrition.** v. 69, p. 409-421, 1993.

KUTOS, T.; GOLOB, T.; KAC, M.; PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chemistry.** 80, 231-235, 2003.

LEANÇA, CC; PASSARELLI, M; NAKANDAKARE, ER; QUINTÃO, ECR. HDL: o yin-yang da doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia.** v. 54, n.9, 777-784, 2010.

LEIFERT, WR; ABEYWARDENA, MY. Bioactives for cholesterol lowering: targeting of cholesterol absorption pathways. **Drug Discovery**. v.2, n.5, 597-602, 2007.

LEVY-COSTA, R.B.; SICHIERI, R.; PONTES, N.S.; MONTEIRO, C.A. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). **Revista de Saúde Pública**. v. 39, n.4, 530-540, 2005.

LIMA, E.S.; COUTO, R.D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **J. Bras Patol Med Lab**. v 42, N3, p. 169-178, 2006.

LLOYD-JONES, D.M.; HONG, Y.; LABARTHE, D.; MOZZAFARIAN, D.; APPEL, L.J. et al. Defining and setting national goals for cardiovascular health promotion and disease reduction. The American's Heart Association Strategic Impact Goal Through 2020 and Beyond. **Circulation**, p.586-613, 2010.

LONDERO, PMG; RIBEIRO, ND; POERSCH, NL; ANTUNES, IF; NORBERG, JL. Análise de frações de fibra alimentar em cultivares de feijão cultivadas em dois ambientes. **Ciência rural**. v.38, n.7, 2033-2036, 2008.

LOTTENBERG, AMP. Importância da gordura alimentar na prevenção e controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. 53/5; p.595-607; 2009.

LUJÁN, DLB; LEONEL, AJ; BASSINELLO, PZ; COSTA, NMB. Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade proteica, na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 28 (Supl): 142-149, 2008.

MANIERO, F. **Efeito em hamsters da suplementação dietética com gorduras ricas em ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou poliinsaturados sobre a transferência de lípidos para lipoproteína de alta densidade (HDL).** São Paulo, 2009. [tese- Faculdade de Medicina/USP].

MARTINS, JM; RIOTTOT, M; ABREU, MC; LANÇA, MJ; VIEGAS-CRESPO, *et al.* Dietary raw peas (*Pisum sativum* L.) reduce plasma total and LDL cholesterol and hepatic esterified cholesterol in intact and ileorectal anastomosed pigs fed cholesterol rich diets. **Nutriente Metabolism.** 3305-3312, 2004.

MENDONÇA, S; SALVIDA, PH; CRUZ, RJ; ARÊAS, JAG. Amaranth protein presents cholesterol-lowering effect. **Food Chemistry.** 738-742, 2009.

MENEZES, E.W. et al.. Perfil da ingestão de fibra alimentar e amido resistente pela população brasileira nas últimas três décadas. *In: Fibra dietética en Iberoamérica: tecnología y salud: Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos.* São Paulo: Editora Varela, p.165-178, 2000.

MENDES, G.A.N.. Efeito das fibras alimentares sobre o perfil lipídico. *In: SILVA, S.M.C.S.d.; MURA, J.D.P.. Tratado de Alimentação, Nutrição & Dietoterapia.* São Paulo; Roca. p.199-203, 2007.

MESSINA, M. Insights gained from 20 years of soy research. **The Journal of Nutrition.** 2289S-2295S, 2010.

MONTEIRO, C.A. Feijão, comida rápida e obesidade. [homepage na internet]. São Paulo: Jornal da Folha de São Paulo – Caderno Brasil de 13 junho 2010. Disponível em <http://www.fsp.usp.br/boletim.php?&lang=pt&style=homepage&articleId=061>

21419201033&visionId=04110805200417&unitId=09111928200359&homepage=on. [Acesso em 16 junho 2010].

MORRISON, WR; SMITH, LM. Preparation of fatty acids methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron fluoride methanol. **J Lipid Res.** 600-608, 1964.

MOURITSEN, O.G.; ZUCKERMANN, M.J. What's so especial about cholesterol. **Lipids.** v. 39, p.1101-1113, 2004.

NAKAMURA, Y; YABE, K; SHIMADA, K; SASAKI, K; Han, KH; OKADA, T; *et al.* Effect of fermented bean paste on serum lipids in rats fed a cholesterol-free diet. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** v.73, n.11, 2506-2512, 2009.

NAPPO, F; ESPOSITO, K; CIOFFI, M; GIUGLIANO, G; MOLINARI, AM; PAOLISSO, G; MARFELLA, R; GIUGLIANO, D. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. **Journal of the American College of Cardiology.** n.39, v.7; p.1145-1150, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of Laboratory Animal.** 4th Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. 192p, 1995.

OLFERT, E.; CROSS, B.M.; MCWILLIAN, A.A. Guide to care and use for experimental animal. 2 ed., v.1, **Canadian Council**, 1993.

OLIVEIRA, T.V; MANIERO, F; SANTOS, MHH; BYDLOWSKI, SP; MARANHÃO, RC. Impact of high cholesterol intake on tissue cholesterol content and lipid transfers to high-density lipoprotein. **Nutrition.** p.713-718, 2011.

OMS. Organização Mundial da Saúde. **Prevenção de doenças crônicas: um investimento vital**. Genebra: OMS, 2005.

PEREIRA, T; COELHO, CMM; SANTOS, JCP; BOGO, A; MIQUELLUTI, DJ. Diversidade no teor de nutrientes em grãos de feijão crioulo no Estado de Santa Catarina. **Acta Scientiarum Agronomy**. 477-485, 2011.

PIRES, C.V.; OLIVEIRA, M.G.A.; CRUZ, G.A.D.R.; MENDES, F.Q.; DE REZENDE, S.T.; MOREIRA, M.A. Composição aquímico-física de diferentes cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L). **Alim. Nutr.** V.16, n.2, p.157-162. 2005.

PIRES, CV; OLIVEIRA, MGA; ROSA, JC; COSTA, NMB. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.26,n.1, 179-187, 2006.

PLATE, A.Y.A; ARÊAS, J.A.G. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. **Food Chemistry** 2002; 76: 1-6.

PROLLA, IRD; BARBOSA, RG; VEECK, APL; AUGUSTI, PR; SILVA, LP; RIBEIRO, ND; EMANUELLI, T. Cultivar, harvest year, and storage conditions affecting nutritional quality of commom beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 30 (Supl 1): 96-102, 2010.

RÁMIREZ-CÁRDENAS, L; LEONEL, AJ; COSTA, NMB. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivaresde feijão comum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.28, n.1, 200-213, 2008.

RÁMIREZ-CÁRDENAS, L; LEONEL, AJ; COSTA, NMB; PIRES, FP. Zinc bioavailability in different beans as affected by cultivar type and cooking conditions. **Food Research International**. 43, 573-581, 2010.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; TAHEY, 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-76 A rodent diet. **J. Nutr.**, v.123, p.1939-1951, 1993.

RIBEIRO, ND; LONDERO, PMG; HOFFMAN-JUNIOR, L; POERSCH, NL; CARGNELUTTI FILHO, A. Dissimilaridade genética para teor de proteína e fibra em grãos de feijão dos grupos preto e de cor. **Revista Brasileira de Agrociência**. v.11, n.2, 167-173, 2005.

RIBEIRO, N.D.; LONDERO, P.M.G.; FILHO, A.C.; JOST, E.; POERCH, N.L.; MALLMAN, C.A. Composição de aminoácidos de cultivares de feijão e aplicações para o melhoramento genético. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. V. 42, n. 10, p. 1393-1399, 2007.

RIBEIRO, ND; LONDERO, PMG; FILHO, AC; JOST, E. Composição de aminoácidos de gerações precoces de feijão obtidas a partir de cruzamentos com parental de alto teor de metionina. **Bragantia**. v.69,n.1, 2010.

ROY, F.; BOYE, J.I.; SIMPSON, B.K. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: pea, chickpea and lentil. **Food Research International**, v. 43 p. 432-442, 2010.

RUSSEL J.C.; PROCTOR, S.D. Small animal models of cardiovascular disease: tools for the study of the roles of metabolic syndrome, dyslipidemia and atherosclerosis. **Cardiovasc. Pathol.**, v.5, p.318-330, 2006.

SACKS, F.M.; LICHTENSTEIN, A.; VAN HORN, L.; HARRIS, W.; KRIS-ETHERTON, P.; WINSTON, M. Soy protein, isoflavones and cardiovascular health: an American Heart Association Science Advisory for Professionals from the Nutrition Committee. **Circulation**. v. 113, p. 1034-1044. 2006.

SCHAFFER, JE. Lipotoxicity: when tissues overeat. **Current Opinion on Lipidology**. 14; 281-287, 2003.

SHUTLER, SM; BIRCHER, GM; TREDGER, JA; MORGAN, LM; WALKER, NA; LOW, AG. The effect of daily baked bean (*Phaseolus vulgaris*) consumption on the plasma lipid levels of young, normo-cholesterolaemic men. **British Journal of Nutrition**. 61; 257-265, 1989.

SOARES, RAM. **Identificação de peptídeos hipocolesterolemizantes do isolado proteico do grão de amaranto (*Amaranthus cruentus* L. BRS-Alegria)**. São Paulo, 2008 [dissertação – Faculdade de Saúde Pública/USP].

SPADY, DK; KEARNEY, DM; HOBBS, HH. Polyunsaturated fatty acids up-regulate hepatic scavenger receptor B1 (SR-B1) expression and HDL cholesteryl ester uptake in hamster. **Journal of Lipid Research**. 40; 1384-1394, 1999.

SPIELMANN, J; SHUKLA, A; BRANDSCH C; HIRCHE, F; STANGL, GI; EDER, K. Dietary lupin protein lowers triglyceride concentrations in liver and plasma in rats by reducing hepatic gene expression of sterol regulatory element-binding protein-1c. **Annals of Nutrition & Metabolism**. 387-392, 2007.

SPIES, JR. Determination of tryptophan in protein. **Anal. Chem.**, v.39, n.9, p.1412-1415, 1967.

SUTIVISEDSEK, N; MOSER, BR; SHARMA, BK; Evangelista, RL; CHENG, HN; LESCH, WC; TANGSRUD, RR, BISWAS, A. Physical properties and fatty acid profiles of oils from black, kidney, great northern and pinto beans. **J Am Oil Chem Soc.** 193-200, 2011.

SPADY, D.K.; DIETSCHY, J.M. Interaction of dietary cholesterol and triglycerids in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in hamster. **Journal of Clinical Investigation.** p.300-309, 1988.

SPOSITO, A.C.; CARAMELLI, B.; FONSECA, F.A.H.; BERTOLAMI, M.C.. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia.** v.88, supl. 1, p. 03-19, 2007.

TERPSTRA, A.H.M.; LAPRE, J.A.; VRIES, H.T.; BIENEN, A.C. Dietary pectin with high viscosity lowers plasma cholesterol ester transfer protein activity in hamsters. **J. Nutr.**, v. 128, n. 11, p. 1944-1949, 1998.

TOLEDO, TCF; CANNIATI-BRAZACA, SG. Avaliação química e nutricional do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) cozido por diferentes métodos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v. 28, n. 2, 355-360, 2008.

TORRUCO-UCO, J; CHEL-GUERRERO, L; MARTÍNEZ-AYALA, A; DÁVILA-ORTÍZ, G. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of protein hydrolysates from *Phaseolus lunatus* and *Phaseolus vulgaris* seeds. **Food Science and Technology.** 42, 1597-1604, 2009.

TRINIDAD, T.P.; MALLILIN, A.C.; LOYOLA, A.S.; SAGUM, R.S.; ENCABO, R.R. The potential health benefits of legumes as a good

source of dietary fiber. **British Journal of Nutrition.** v.103, n.4, p. 569-574, 2010.

US DEPARTMENT OF AGRICULTURE. MyPyramid, 2006. Disponível em: <<http://www.mypyramid.gov>>. Acesso em 12 de janeiro de 2011.

US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Dietary Guidelines Advisory Committee. **Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans**, Washington DC, 2010. 445p. Disponível em: <<http://www.cnpp.usda.gov/dgas2010-dgacreport.htm>> Acesso em 02 de fevereiro de 2011.

VAN DER MEER, R.; VRIES, H.; DE GLATZ, J.F.C. T-butanol extraction of feces: rapid procedure for enzymatic determination of fecal bile acids. In: **Cholesterol metabolism in health and disease studies in the netherlands**. Wageningen: Posen and Looijen. p. 113-119, 1985.

VAZ, LCMA. **Efeito da ingestão de proteína de amaranto no metabolismo do colesterol em ratos**. São Paulo, 2010. [dissertação- Faculdade de Saúde Pública/USP].

VILLANUEVA, MJ; YOKOYAMA, WH; HONG, YJ; BARTTLEY, GE; RUPÉREZ, P. Effect of high fat diets supplemented with okara soybean by-product on lipid profiles of plasma, liver and faeces in Syrian hamsters. **Food Chemistry.** 72-79, 2011.

WANDER, A.E. Produção e consume de feijão no Brasil, 1975-2005. **Informações Econômicas**, São Paulo, v37, n2, p.08-21, 2007.

WANG, DQH. Regulation of intestinal cholesterol absorption. *Annual Review of Physiology*. 69, 221-248.2007.

WEIGAND, K.W.; DAGGY, B.P.. Effects of dietary cholesterol and fasting on hamster plasma lipoproteins. **Eur J Clin Chem Clin Biochem**. V.29, n.07, p.425-428, 1991.

WHITE, JA; HART, RJ; FRY, JC. An evaluation of the waters Pico-Tag system for the amino acid analysis of food materials. **J Auto Chem**. v. 8, n.4, 170-177, 1986.

WINHAM, D.M.; HUTCHINS, A.M. Baked bean consumption reduces serum cholesterol in hypercholesterolemic adults. **Nutrition Research**. V.27, p.380-386, 2007.

WINHAM, D.M.; HUTCHINS, A.M.; JOHNSTON, C.S. Pinto bean consumption reduces biomarkers for heart disease risk. **Journal of the American College of Nutrition**. V. 26, n3, p. 243-249, 2007.

WINHAM, D.; WEBB, D.; BARR, A. Beans and good health. **Nutrition Today**. V.43, n.5, p. 201-209, 2008.

WRIGHT, S. M.; SALTER, A.M. Effects of soybean on plasma cholesterol and bile acid excretion in hamster. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 119b, n. 2, p. 247-254, 1998.

ANEXO

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470

CEP 05403-000 - São Paulo - Brasil

e-mail: cpq-imt@usp.br

Telefone: (55-11) 3061-7193 e 3061-8650 FAX: (55-11) 3064-5132 e 3062-2174

São Paulo, 06 de outubro de 2010.

Ilmo (a) Sr (a)
José Alfredo Gomes Arêas
(aos cuidados de Jéssica Mascaretti Dias)

Em reunião na presente data, a Comissão de Pesquisa e Ética e Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa, do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, analisou e **aprovou**, no que diz respeito aos aspectos de natureza da ética em experimentação animal, o projeto de pesquisa classificado sob número **CPE-IMT 2010/082** e intitulado "Efeito de três variedades de feijão (espécie *Phaseolus vulgaris*) no metabolismo lipídico em hamsters", sob sua responsabilidade.

Atenciosamente

Dr. Jorge Casseb

Presidente da Comissão de Pesquisa e Ética do IMT

Dra. Luciana Regina Meireles Jaguaribe Ekman

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa

Jéssica Mascaretti Dias

- Endereço para acessar este CV:
<http://lattes.cnpq.br/9450659688157076>
- Última atualização do currículo em 10/09/2012

Nome

Jéssica Mascaretti Dias

Nome em citações bibliográficas

DIAS, J. M.

Sexo Feminino

Endereço Profissional

Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição.

Av. Dr. Arnaldo, 715

Cerqueira César

01246-904 - Sao Paulo, SP - Brasil

Fax: (11) 30617705

URL da Homepage: <http://www.nutricao.fsp.usp.br/funcionais>

2010

Mestrado em andamento em Pós graduação em Nutrição em Saúde Pública.

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Efeito de três variedades de feijão no metabolismo lipídico em hamsters, Orientador: José Alfredo Gomes Arêas.

2008 - 2009

Especialização em Saude Publica. (Carga Horária: 1800h).

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Barra de cereais desenvolvida por uma cooperativa popular no contexto da economia solidária.

Orientador: Maria Elisabeth Machado Pinto e Silva.

Bolsista do(a): Secretaria Estadual de Saúde.

2003

Graduação em Nutrição.

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

José Alfredo Gomes Arêas

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1C

- Endereço para acessar este CV:
<http://lattes.cnpq.br/5885518243056121>
- Última atualização do currículo em 25/06/2012

Nome

José Alfredo Gomes Arêas

Nome em citações bibliográficas

ARÊAS, J. A. G.; Areas, J. A. G.; Arêas, J. A. G.;

Sexo Masculino

Endereço Profissional

Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição.

Av. Dr. Arnaldo, 715

Cerqueira César

01246-904 - São Paulo, SP - Brasil

Telefone: (11) 30617858

Fax: (11) 30617705

URL da Homepage: <http://www.nutricao.fsp.usp.br/funcionais>

1986

Livre-docência.

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Título: Interrelação entre estrutura e textura de isolados proteicos de pulmão bovino, Ano de obtenção: 1986.

Palavras-chave: Propriedades Funcionais; Interação lípide-proteína; Extrusão termoplástica; Espectroscopia de Alimentos; Atividade de água; Proteínas alimentares.

Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Tecnologia de Alimentos / Especialidade: Aproveitamento de Subprodutos.

Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Tecnologia de Alimentos / Especialidade: Tecnologia de Produtos de Origem Animal.

Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Ciência de Alimentos / Especialidade: Propriedades Funcionais de

Alimentos.

Setores de atividade: Nutrição e Alimentação; Produção Animal, Inclusive Serviços Veterinários; Fabricação de Equipamentos de Instrumentação Médico-Hospitalares, Instrumentos de Precisão e Ópticos, Equipamentos Para Automação Industrial, Cronômetros e Relógios.

1990 - 1993

Pós-Doutorado.

University of Oxford.

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.

Grande área: Ciências Biológicas / Área: Biofísica / Subárea: Biofísica Molecular.

Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Ciência de Alimentos / Especialidade: Propriedades Funcionais de Alimentos.

Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Ciência de Alimentos / Especialidade: Química, Física, Físico-Química e Bioquímica dos Alim. e das Mat-Primas Alimentares.

1980 - 1983

Doutorado em Food Science.

University of Nottingham, NOTTINGHAM, Inglaterra.

Título: Influence of Lipid-protein Interactions on Characteristics of Extruded Offal Protein, Ano de obtenção: 1983.

Orientador: Ralston A Lawrie.

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.

Palavras-chave: Food Protein; Extrusion of Protein; Recovery of Abattoir; Functional Properties; Novel Products; Protein Upgrade.

Grande área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Tecnologia de Alimentos / Especialidade: Aproveitamento de Subprodutos.

Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Ciência de Alimentos / Especialidade: Química, Física, Físico-Química e Bioquímica dos Alim. e das Mat-Primas Alimentares.

Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos /

Subárea: Ciência de Alimentos / Especialidade: Propriedades Funcionais de Alimentos.

Setores de atividade: Nutrição e Alimentação; Produção Animal, Inclusive Serviços Veterinários; Produtos e Processos Biotecnológicos.