UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos

APROVEITAMENTO DO AMIDO DE ALIMENTOS
ESTUDOS EM HUMANOS E ANIMAIS

ELIZABETE WENZEL DE MENEZES

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador :
Prof. Tit. Franco M. Lajolo

São Paulo
1992

13321

ELIZABETE WENZEL DE MENEZES

APROVEITAMENTO DO AMIDO DE ALIMENTOS
ESTUDOS EM HUMANOS E ANIMAIS

COMISSÃO JULGADORA

Tese para obtenção do grau de Doutor :

FRANCO MARIA LAJOLO
Presidente e Orientador

RUI CURI
1º Examinador

ÁLVARO OSCAR CAMPANA
2º Examinador

HÉLIO VANNUCCHI
3º Examinador

DIRCE MARIA SIGULEM
4º Examinador

São Paulo, 08 de 02 de 1993

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Franco M. Lajolo pela constante orientação nesse trabalho e permanente confiança no meu desempenho desde a minha iniciação científica, em 1980.

A todo pessoal do Laboratório de Química e Bioquímica e do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental pela colaboração.

À FINEP, à OEA e ao CNPq pelos auxílios financeiros.

Ao Prof. Hélio Vannucchi e Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto por possibilitarem a realização dos experimentos com humanos.

Ao Prof. S. R. Bloom, do Department of Medicine, Royal Postgraduate Medical School, Hammersmith Hospital, London, pela prestativa análise do GLP-1 7-36.

Ao Prof. Angelo R. Carpinelli pelas sugestões e análises de insulina.

Ao Prof. Carlos Barbério e à CRIESp pela utilização de seus equipamentos.

Aos colegas Marilene, Ursula e Flávio pelos oportunos comentários e amizade.

Às colegas Tulia, Bia e Oriana pela substituição nas aulas de Bromatologia Básica.

À colega Emília e a todos colegas da Unidade Metabólica pela colaboração nos ensaios com humanos.

*Um agradecimento especial ao
Fê e Luiz pela paciência e apoio.*

SUMÁRIO

	Pág.
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1.1 - Aproveitamento do amido; conceitos e medidas	3
2.1.2 - Resposta glicêmica e Índice Glicêmico em alimentos isolados	5
2.1.3 - Índice glicêmico em dietas mistas	7
2.1.4 - Controle hormonal da liberação de insulina	10
2.2 - Fatores que interferem no aproveitamento do amido	13
3 - OBJETIVOS	24
4 - MATERIAL	25
4.1 - Alimentos	25
4.2 - Enzimas utilizadas	25
4.3 - Reagentes	25
4.4 - Rações experimentais	25
5 - MÉTODOS	27
5.1 - Métodos físico-químicos e bioquímicos	27
5.1.1 - Determinação do amido disponível	27
5.1.2 - Determinação do teor de carboidrato disponível	27
5.1.3 - Hidrólise do amido "in vitro"	28
5.1.4 - Determinação do tempo de cocção dos feijões	28
5.1.5 - Determinação da fibra alimentar	28
5.1.6 - Isolamento dos grânulos de amido	29
5.1.7 - Tratamento do feijão com pepsina	30
5.1.8 - Isolamento da parede celular	30
5.1.9 - Tratamento do feijão com celulase/pectinase	31

	Pág.
5.1.10 - Microscopia óptica	31
5.1.11 - Quantificação do diâmetro dos grânulos de amido	31
5.1.12 - Atividade da α-amilase	32
5.1.13 - Atividade da maltase e invertase	32
5.1.14 - Determinação de insulina	32
5.1.15 - Determinação de proteínas	32
5.1.16 - Determinação de glicose	32
5.1.17 - Determinação do amido residual	33
5.1.18 - Determinação do peptídeo semelhante ao glucagon-1 7-36.....	33
5.2 - Métodos biológicos	33
5.2.1 - Ensaio de curta duração	34
5.2.1.2 - Ensaio de média duração	36
5.2.1.3 - Obtenção do sangue	38
5.2.1.4 - Obtenção dos órgãos e carcaça	38
5.2.1.5 - Preparação dos homogenatos do estômago e intestino delgado	38
5.2.2 - Ensaio com humanos	39
5.2.2.1 - Curta duração	39
5.3 - Métodos estatísticos	41
6 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
6.1 - Aproveitamento de diferentes fontes de amido. Estudo de curta duração em ratos	42
6.2 - Aproveitamento do amido proveniente do milho, arroz e feijão. Estudo de curta duração em humanos	45
6.3 - Efeito de diferentes tratamentos do feijão sobre o aproveitamento do amido. Estudo de curta duração em ratos	59

6.3.1 - Integridade da parede celular	60
6.3.2 - Organização física entre os grânulos de amido e a proteína	73
6.4 - Aproveitamento do amido do feijão. Estudo de média duração em ratos sob restrição energética	76
7 - CONCLUSÕES	95
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
9 - RESUMO	117
10 - ABSTRACT	118
11 - ANEXOS	119
12 - LISTA DE TABELAS	120
13 - LISTA DE FIGURAS	122

1 - INTRODUÇÃO

Durante a década de 70 as pesquisas sobre a importância da ação dos diversos componentes dos alimentos, à nível do trato gastrointestinal, voltaram-se principalmente para a fibra alimentar, procurando-se avaliar seus efeitos fisiológicos no intestino grosso e sua participação na prevenção e tratamento de doenças (Southgate, 1992).

Kritchevsky e cols. (1990) Stephen (1991) Cummings e Englyst (1991) comentam que desde 1980 começou a ficar claro que certos efeitos atribuídos à fração fibra alimentar eram, em parte, decorrentes do amido presente na maioria dos alimentos. Nessa década aumentou muito o interesse sobre a importância do amido para a saúde humana, sendo intensificada a exploração dos mecanismos pelos quais o amido atua nos vários níveis do trato gastrointestinal e no organismo como um todo.

Novas áreas de estudos foram iniciadas: estudos sobre a estrutura e propriedades funcionais do amido (Biliaderis, 1991) (Hoover e Sosulski, 1991) visando sua utilização em produtos alimentícios; investigações sobre a fermentação do amido ao longo do intestino grosso e suas implicações para saúde (McBurney, 1991) (Cummings e Englyst, 1991); estudos sobre o aproveitamento do amido, à nível do intestino delgado, envolvendo sua digestão e absorção (Jenkins e cols. 1981) (Wursch, 1989) (Wolever, 1990a).

O aproveitamento do amido tem sido avaliado através da sua velocidade de digestão e absorção que altera as respostas glicêmicas produzidas após a sua ingestão: o alimento digerido e absorvido lentamente produz reduzida resposta glicêmica pós-prandial, com redução na liberação da

insulina plasmática. No passado, o principal objetivo do processamento do amido era aumentar sua digestibilidade e absorção; atualmente, porém, passou a ser preconizado, em determinadas situações, o uso de alimentos com amido mais lentamente digeridos em função de seus efeitos benéficos para a saúde.

Do ponto de vista clínico, os efeitos sobre os níveis plasmáticos de insulina são de grande importância na prevenção e controle da diabetes e de hiperlipidemias. Feskens e cols. (1991) observaram, em estudos longitudinais, que o consumo habitual de carboidratos e massas está diretamente relacionado com a intolerância à glicose; ocorrendo o inverso com o consumo de leguminosas. Para o controle da diabetes Welch (1991) sugere a utilização de alimentos que produzam reduzidas respostas plasmáticas de glicose e insulina. Esses alimentos parecem, também, auxiliar no tratamento de hiperlipidemias, especialmente da hipertrigliceridemia (Jenkins e cols., 1985).

As informações necessárias para descrever com detalhes os fatores que influenciam no aproveitamento do amido, proveniente de diversas fontes, são bastante reduzidas e em algumas situações contraditórias, sendo que dentro de um mesmo alimento diversos componentes podem estar atuando simultaneamente. De um modo geral, os principais fatores descritos na literatura são: a forma física do alimento, o tipo de processamento do alimento, a natureza do amido, gelatinização e eventual retrogradação, a organização física do conteúdo celular, a presença da fibra alimentar e de fatores anti-nutricionais.

Dessa forma é necessário aprofundar o conhecimento sobre esses fatores que influem diretamente nas propriedades fisiológicas dos alimentos e estimular a inclusão dessas informações nas Tabelas de Composição de Alimentos (Wolever e cols., 1991).

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1.1 - Aproveitamento do amido; conceitos e medidas

No passado, as recomendações dietoterápicas para diabéticos enfatizavam o consumo de carboidratos "complexos" ou de polissacarídeos (Committee of the American Diabetes on Food and Nutrition. Special Report, 1979). Essas recomendações baseavam-se no princípio de que os mono e dissacarídeos, por não serem dependentes da ação da α -amilase, seriam mais rapidamente absorvidos e produziram maiores respostas glicêmicas, no caso indesejáveis.

O uso dessa terminologia tem persistido, apesar de se ter conhecimento de que a capacidade amilolítica do trato gastrointestinal não representa um fator limitante para a digestão do amido e sabe-se que a resposta glicêmica produzida após o consumo de certos polímeros de glicose é semelhante a da glicose (Wahlqvist e cols., 1978).

Crapo e cols. (1980) observaram que a resposta glicêmica decorrente da ingestão da batata por indivíduos normais foi igual a da dextrose. Já, o amido do pão e arroz produziram aumentos menores que a dextrose e a batata. Resultados semelhantes foram encontrados por Akerblom e Koivukangas (1977), em crianças diabéticas, concluindo que as diferenças observadas não estavam relacionadas com o tamanho da molécula e sim com outras características físicas ou químicas dos carboidratos.

Jenkins e cols. (1981) verificaram, em indivíduos normais, que as diversas fontes de carboidratos produzem respostas glicêmicas variadas e indicaram que a troca de carboidratos simples por complexos, baseada na

composição química, não permite prever a resposta fisiológica produzida. As grandes diferenças nas respostas glicêmicas não ocorrem, somente, entre os grupos de alimentos, mas também dentro de um mesmo grupo. Por exemplo, o pão feito com farinha de trigo integral produziu, em humanos, maiores níveis plasmáticos de glicose que o macarrão spaguetti de trigo integral. Dessa forma, pode-se observar diferentes níveis de aproveitamento do amido, não relacionados com o tamanho da molécula, entre as diversas fontes de carboidratos complexos.

O progresso nesse campo, durante os últimos anos, gerou profunda revisão de conceitos sobre a importância nutricional dos carboidratos (Osion, 1986) (Dobbing, 1989); surgindo, paralelamente a necessidade de métodos analíticos adequados para a classificação nutricional dos carboidratos.

Os estudos de balanço em humanos e animais experimentais visam avaliar a digestibilidade dos carboidratos à nível do intestino delgado, entretanto algumas dessas metodologias tem a desvantagem de não distinguirem a absorção no intestino delgado e a fermentação no intestino grosso (Asp, 1989). As seguintes metodologias têm sido utilizadas: a) modelo da ileostomia - esta metodologia permite a direta quantificação dos carboidratos e nutrientes que saem do intestino delgado, sendo realizada em indivíduos com intestino delgado totalmente removido (Cummings e Englyst, 1991). b) modelo da intubação - uma cânula é introduzida até o ileo terminal dos indivíduos e o teor de carboidrato é quantificado nos aspirados (Cummings e Englyst, 1991). c) supressão da flora bacteriana por antibióticos - englobam experimentos de balanço com ratos que receberam antibiótico de largo espectro para suprimir a flora intestinal (Björck e cols., 1987a). d) hidrogênio expirado - o carboidrato não absorvido é quantificado de forma indireta através do teor de H_2 expirado (Strocchi e Levitt, 1991)

(Cummings e Englyst, 1991).

2.1.2 - Resposta glicêmica e Índice Glicêmico em alimentos isolados

Por outro lado, o nível plasmático de glicose em humanos e animais, que reflete a absorção dos carboidratos à nível do intestino delgado, tem sido bastante utilizado para avaliar o aproveitamento destes (Asp, 1989). Esse método baseia-se na quantificação da resposta plasmática de glicose, após a ingestão de uma refeição teste, em intervalos de 10-15 minutos durante a primeira hora e em períodos maiores nas demais horas (Jenkins e cols., 1981).

O nível de glicose sanguínea é o resultado do equilíbrio dinâmico entre a absorção intestinal de carboidratos, síntese e degradação de glicogênio no fígado e gliconeogênese. Este equilíbrio por sua vez, é determinado pela resposta de insulina, sensibilidade periférica da insulina e pela liberação de uma série de outros hormônios. Dessa forma, a resposta glicêmica é influenciada por diversos fatores, além da velocidade de absorção intestinal do carboidrato, não podendo ser utilizada como uma medida absoluta (Asp, 1989).

A sistemática classificação dos alimentos de acordo com sua resposta glicêmica foi iniciada por Otto e cols. em 1973, sendo publicada em francês em 1980 (Otto e Niklas, 1980). Inicialmente os autores observaram as respostas glicêmicas produzidas por certos alimentos tratados individualmente. Posteriormente, incorporaram estes alimentos às dietas de diabéticos, em quantidades inversamente proporcionais às respostas glicêmicas individuais, visando manter a glicemia constante.

Em 1981, Jenkins e cols.(1981) introduziram o conceito do Índice Glicêmico (IG) que compreende uma metodologia para classificar a resposta

glicêmica produzida pelos alimentos. Segundo os autores, a diferença da glicose plasmática, relativa, pode refletir as diferenças na velocidade de digestão-absorção dos alimentos e outras características metabólicas.

O IG fornece informações suplementares sobre os alimentos contidos nas Tabelas de Composição de Alimentos. Desta forma, através da indexação dos resultados da resposta glicêmica, em relação a um padrão comum, os valores obtidos em diferentes indivíduos podem ser comparados e a experiência de diferentes investigadores reunidas. Inicialmente a glicose foi utilizada como padrão, mas atualmente está sendo utilizado o pão branco. O IG de um alimento pode ser definido como (Wolever e cols., 1991):

$$\text{Índice Glicêmico} = \frac{\Delta \text{ da área abaixo da curva glicêmica produzida por um alimento}}{\Delta \text{ da área abaixo da curva glicêmica produzida pelo padrão}} \times 100$$

Jenkins e cols. (1981), utilizando a metodologia do Índice Glicêmico, verificaram em vegetais altas percentagens de IG ($70 \pm 5\%$), seguido por cereais do desjejum ($65 \pm 5\%$), cereais e biscoitos ($60 \pm 3\%$), frutas ($50 \pm 5\%$), derivados do leite ($35 \pm 1\%$) e leguminosas ($31 \pm 3\%$).

Wolever (1990a) fez uma compilação dos valores de Índice Glicêmico já existentes; são resultados provenientes de diversos alimentos, testados após sua ingestão individual por diferentes voluntários e em diferentes centros. De um modo geral, os alimentos produtores de baixo Índice Glicêmico incluem os grãos inteiros de cereais integrais (em oposição aos grãos integrais triturados) (Jenkins e cols., 1986); as massas (Jenkins e cols., 1983b)

(Hermansen e cols., 1986) (Coulston e cols., 1987) e as leguminosas (Jenkins e cols., 1980) (Jenkins e cols., 1984) (Bornet e cols., 1987) (Voster e cols., 1987).

Baseando-se em estudos comparativos, Jenkins e cols. (1981) (1983c) sugeriram que o consumo de refeições mistas compostas por alimentos com baixo IG resultariam em menores respostas glicêmicas do que as refeições contendo alimentos com alto IG.

2.1.3 - Índice Glicêmico em dietas mistas

Colier e cols. (1986) verificaram a existência de correlação positiva entre o IG produzido individualmente por 5 alimentos (batata instantânea, pão branco, arroz, macarrão spaguetti e lentilha) e as respostas glicêmicas produzidas após a ingestão de refeições compostas por estes alimentos ($r = 0,9875$ $p < 0,01$).

Wolever e cols. (1988) observaram em indivíduos normais que o jantar contendo alimentos com baixos IG (cevada e lentilha) produziram respostas glicêmicas 61% menores que o jantar com a mesma composição, só que composto por alimentos produtores de altos IG (pão e batata instantânea). Esta diferença encontrada foi semelhante à prevista pelo IG individual dos alimentos.

Entretanto, Coulston e cols. (1984b), Coulston e cols. (1987) e Hollenbeck e cols. (1988) obtiveram resultados opostos, não evidenciando alterações nas respostas plasmáticas pós-prandiais com dietas elaboradas a partir do IG isolado dos alimentos.

Coulston e cols. (1984b) verificaram em indivíduos diabéticos não

insulino-dependente após a ingestão de refeições de arroz, macarrão spaguetti ou lentilha que as respostas plasmáticas foram semelhantes e somente um pouco menores para a batata. As respostas plasmáticas de insulina, para as quatro fontes, acompanharam o perfil da glicemia.

Couston e cols. (1984a) salientaram que os estudos utilizando o IG deveriam ser realizados com dietas padronizadas, contendo representativa proporção de lipídeos, proteínas e carboidratos, pois é dessa forma que os alimentos são habitualmente ingeridos. Paralelamente, os autores sugerem que esse índice deveria conter tanto a resposta plasmática de glicose como a de insulina, pois esta é de grande significado para a população não diabética.

A hiperinsulinemia tem sido relacionada com o aumento no soro de triglicérides, os quais constituem um fator de risco para doenças cardiovasculares em indivíduos susceptíveis (Jenkins e cols., 1987c). Acredita-se, também, que elevados níveis plasmáticos de insulina possam reduzir a sensibilidade dos receptores de insulina e proporcionem resistência à mesma, fator que parece ser crucial no desenvolvimento da diabetes e da obesidade (Welch, 1991) (Fesken e cols., 1991).

Hollenbeck e Coulston (1991) questionam a utilidade clínica do IG para a elaboração de dietas para diabéticos e acreditam que antes de ser preconizada sua utilização de forma generalizada, outros estudos devem ser realizados para esclarecerem as razões das variadas respostas glicêmicas produzidas pelas diferentes fontes de amido.

Wolever e cols. (1990a) alertam que o uso inadequado da metodologia para avaliar o Índice Glicêmico individual dos alimentos pode interferir na resposta glicêmica dos alimentos quando incorporados à refeição.

Por exemplo, no experimento realizado por Coulston e cols. (1984b) o cálculo da área abaixo da curva glicêmica foi feito de forma incorreta. Wolever e Jenkins (1986a) reanalisaram os resultados do estudo citado e verificaram a existência de correlação entre o IG produzido pelos alimentos administrados individualmente e o aumento da glicemia produzido pela refeição ($r = 0,987$ $p < 0,02$).

O estudo realizado por Coulston e cols. (1987) falhou ao manter o conceito do IG para a refeição mista, pois os alimentos não foram testados individualmente antes de serem incorporados à refeição. Segundo Wolever (1990a) é de grande importância saber, exatamente, o IG que o alimento produz individualmente para que se possa prever sua resposta em conjunto com outros elementos e de acordo com o processamento e cocção, as respostas glicêmicas podem variar; no estudo citado não foi mencionado o tempo de cocção do arroz e o tipo de processamento a que o feijão foi submetido.

Segundo Wolever e col. (1991) a controvérsia sobre a utilidade clínica da classificação dos alimentos pelo Índice Glicêmico é, em parte, decorrente de variáveis na metodologia que podem afetar marcadamente a interpretação das respostas glicêmicas e do IG obtido. Em ensaios de curta duração, dentro de certos limites, o IG individual dos alimentos pode prever as respostas glicêmicas produzidas por sua incorporação em dietas mistas. Em estudos mais prolongados, as dietas com baixo IG resultam em modesto controle do aumento da glicemia em pacientes diabéticos insulino-dependente e não insulino-dependente. Talvez, a maior importância terapêutica dos alimentos produtores de baixo IG esteja na capacidade de reduzirem a secreção de insulina e de diminuir a concentração plasmática de lípidos em pacientes com hiperlipidemias.

2.1.4 - Controle hormonal da liberação de insulina

Welch (1991) enfatizou a importância da utilização de alimentos com baixo Índice Glicêmico para comporem as refeições de diabéticos; lembrando que determinados componentes da dieta podem influenciar na liberação de insulina e de outros hormônios, como o glucagon e o polipeptídeo insulínico dependente de glicose (GIP). Variações nos níveis plasmáticos desses hormônios podem ser de fundamental importância no controle da diabetes.

A regulação da secreção de insulina das células β das ilhotas é bastante complexa, incluindo diversos mecanismos. A conexão entre a transmissão de sinais do trato gastrointestinal para as ilhotas pancreáticas foi chamada de eixo entero-insular por Unger e Eisentraut (1969) e compreende a estimulação das células das ilhotas pancreáticas por nutrientes, neurotransmissores e pela transmissão endócrina.

O eixo entero-insular contribui consideravelmente para a secreção total de insulina. Com a demonstração de que a ingestão de alimentos modifica a secreção de hormônios gastrointestinais, o eixo entero-insular passou a fornecer importantes explicações para o esclarecimento de determinadas patologias (como a aterosclerose, obesidade e diabetes), onde a secreção de insulina é desordenada (Morgan e cols., 1988).

As primeiras evidências sobre a ação insulínica dos hormônios gastrointestinais tiveram muitos equívocos. Moore e cols. (1906) observaram, em indivíduos diabéticos, que o duodeno tinha a capacidade de fornecer um excitante químico para a secreção endócrina do pâncreas.

McIntyre e cols. (1964) demonstraram que o aumento da secreção de insulina, no plasma humano, era maior quando a carga de glicose era administrada por via oral do que por via intravenosa. Esses autores concluíram que o significativo aumento da secreção de insulina, durante a absorção de glicose, era decorrente da liberação de uma substância produzida pela mucosa duodenal, que teria a capacidade de estimular a liberação de insulina em condições de hiperglicemia. Esse estímulo, transmitido por via oral, que potencializa a secreção de insulina passou a ser chamado de "efeito incretina".

Incretina, em seu significado original, refere-se somente a transmissores endócrinos para a liberação de insulina, portanto, compreende apenas uma parte do complexo sistema do eixo entero-insular. Basicamente, os pré-requisitos para que um transmissor endócrino seja considerado como uma incretina são os seguintes: ser liberado por nutrientes, especialmente carboidratos e; quando administrado por via exógena, a dose utilizada não pode ultrapassar os níveis fisiológicos (Creutzfeldt e Ebert, 1985).

A lista de peptídeos regulatórios gastrointestinais com atividade insulínica tem aumentado continuamente. Entretanto, muitos hormônios gastrointestinais, apesar de estimularem a liberação de insulina, não satisfazem as condições necessárias para serem considerados uma incretina. Atualmente, tem sido dada muita importância para dois hormônios gastrointestinais com atividade de incretina, o polipeptídeo insulínico dependente de glicose (GIP) e o polipeptídeo semelhante ao glucagon-1 7-36 (GLP-1 7-36) (Menezes e Carpinelli, 1990).

O GIP foi introduzido em 1969 como enterogastrona, por sua capacidade de inibir a secreção ácida, sendo na época denominado de polipeptídeo inibidor gástrico (GIP). Posteriormente, passou a ser chamado de

polipeptídeo insulíntrópico dependente de glicose (GIP) por sua capacidade de estimular a liberação de insulina (Brown, 1982). Menezes e Carpinelli (1990) relatam que inúmeras citações científicas demonstram a ação insulíntrópica do GIP, altamente purificado, tanto "in vitro" como "in vivo").

Há evidências de que a má absorção de carboidratos resulte na diminuição da liberação do GIP. Creutzfeldt e cols. (1976) observaram que após a ingestão de alimentos, por pacientes portadores de doença celíaca não tratada e com profunda má absorção, o aumento da liberação do GIP foi pouco significativo em relação aos indivíduos controle. Esse efeito pode ser explicado pela deficiente absorção de nutrientes, uma vez que, na doença celíaca o número de células portadoras do GIP não está diminuído.

Segundo Beck e cols. (1986) a ingestão de fibra, que interfere na absorção dos carboidratos, também interfere na liberação do GIP e de insulina. Assim, a absorção de nutrientes e não só a sua simples presença no trato gastrointestinal é necessária para estimular a liberação do GIP.

O GLP (polipeptídeo semelhante ao glucagon) está localizado tanto no pâncreas como no intestino delgado. No pâncreas existe principalmente na forma GLP-1 7-36, sendo considerado o mais potente estimulador da secreção de insulina entre todos os GLIs (imunoreagentes semelhantes ao glucagon) (Morgan e cols., 1988).

Recente estudo realizado por Kreyman cols. (1988) sugere que o GLP-1 7-36 é uma incretina fisiológica mais potente que o GIP; Morgan e cols. (1988) baseando-se nessa informação ressaltam a possível participação do GLP no eixo entero-insular, apesar das escassas informações sobre a ação dessas substâncias.

Dessa forma, Morgan e col. (1990) e Kreymann e cols. (1987) sugerem que a liberação de hormônios gastrointestinais, estimulada pelos componentes da dieta (principalmente os carboidratos), deva ser investigada.

2.2 - Fatores que interferem no aproveitamento do amido

As diferentes respostas glicêmicas produzidas pelos alimentos são decorrentes da presença de inúmeros fatores, contidos nos alimentos, que interferem na digestão e absorção do amido.

A cocção ou o processamento industrial do amido, que visa melhorar sua palatabilidade e aumentar a disponibilidade, pode provocar alterações nas qualidades reológicas e na estabilidade do amido, bem como, promover a interação do amido com outros componentes levando a modificações nas propriedades nutricionais do alimento (Wursch, 1989).

Desta forma, é impossível prever, apenas através da composição química do alimento, a resposta metabólica que este irá produzir.

A utilização de alimentos ricos em fibra alimentar tem sido encorajada na alimentação de indivíduos diabéticos por estar associada à redução da taxa de absorção de glicose. Desta forma, a presença de fibra alimentar nos alimentos constitui um dos fatores que podem interferir no aproveitamento do amido.

Jenkins e cols. (1987a) verificaram, em voluntários ileostomizados, que as dietas ricas em fibra têm a capacidade de aumentar as perdas de amido nos efluentes e proporcionar reduzidos aumentos glicêmicos. Essas estavam correlacionadas com o conteúdo de fibra alimentar ($r = 0,885$ $p < 0,001$), com a digestibilidade "in vitro" do alimento ($r = -0,867$ $p < 0,01$) e com as respostas

glicêmicas ($r = -0,611$ $p < 005$).

Entretanto, nem todos os tipos de fibra possuem efeitos semelhantes. A fibra insolúvel, como a do farelo de trigo, tem pouco ou nenhum efeito sobre a glicemia (Monnier e cols., 1978).

A inclusão de fibra solúvel (goma guar) em refeições de carboidratos reduz a concentração plasmática de glicose pós- prandial em humanos (Jenkins e cols., 1978. Esse efeito foi originalmente explicado como resultado da liberação do material viscoso do estômago para o intestino delgado. Verificou-se, entretanto, não existir correlação entre a redução de velocidade de esvaziamento gástrico e a resposta glicêmica (Eastwood e Morris, 1992).

Torsdottir e cols. (1984) verificaram que o aumento nas respostas plasmáticas de glicose e insulina produzidas pela ingestão de batata e arroz estão relacionadas com a velocidade de esvaziamento gástrico ($r=0,95$ $p<0,01$). Mas, para o feijão branco, que contém alto teor de fibra alimentar, não encontraram qualquer tipo de correlação entre esses parâmetros, mostrando que outros fatores presentes devem controlar as reduzidas respostas plasmáticas.

Jenkins e cols. (1980) (1983c) verificaram que as leguminosas tem a capacidade de produzir reduzido Índice Glicêmico, entretanto, não se sabe se este efeito é decorrente da presença de fibra solúvel, ou da forma física, tamanho de partícula, tipo de amido, fatores anti- nutricionais ou organização física do conteúdo celular. Os mecanismos que envolvem a utilização de carboidratos, em presença de fibra solúvel e insolúvel em muitos alimentos, são ainda desconhecidos e existem muitas controvérsias a respeito.

A forma física do alimento é considerada um dos principais determinantes da velocidade de digestão do amido. Segundo O' Dea e cols. (1980) o aumento da área superficial do amido resulta no aumento da velocidade de hidrólise "in vivo". Esses autores verificaram que o amido do arroz integral moido é muito mais acessível às enzimas hidrolíticas do que o amido do arroz integral inteiro, pois produz maiores aumentos plasmáticos de glicose e insulina em indivíduos normais." In vitro ", após 30 minutos de incubação com α -amilase pancreática, 71,8% do amido presente no arroz integral moido foi hidrolizado; enquanto que no arroz integral o teor foi bem menor (30,8%).

A trituração, antes da cocção, do feijão ("red kidney bean") ou de lentilha resultou no significativo aumento da hidrólise "in vitro " do amido (Wong e cols., 1985).

Os estudos "in vivo " sobre o aproveitamento do amido das leguminosas, que enfocam a forma física do alimento ingerido, apresentam resultados conflitantes.

Jenkins e cols. (1982), Golay e cols. (1986), Wursch e cols.(1988) verificaram que a homogeneização de sementes cozidas de leguminosas não tem a capacidade de aumentar as respostas glicêmicas produzidas. Já, O' Dea e Wong (1983) verificaram que a trituração da lentilha, antes da cocção, resultou no aumento da resposta glicêmica e no aumento da hidrólise "in vitro" em relação a lentilha inteira. Muitas vezes, o processamento utilizado não foi suficiente para romper a parede celular, gerando respostas glicêmicas diferentes das esperadas (Wolever, 1990a).

Wurch e cols.(1986) enfatizam que mudanças na estrutura da parede celular de certas leguminosas, produzidas pelo processamento, podem

alterar a digestibilidade do amido. A trituração do feijão branco, antes da cocção, provocou ruptura da parede celular; facilitando o entumescimento dos grânulos de amido e sua digestão.

A relação existente entre a presença de fatores anti-nutricionais nos alimentos e o aproveitamento do amido, também tem sido observada.

Estes compostos reduzem a disponibilidade de nutrientes, afetando o crescimento de animais experimentais e estão presentes em muitos alimentos, especialmente nas leguminosas.

Thompson (1988) descreve que os fatores anti-nutricionais presentes em alimentos, fontes de carboidratos, proporcionam efeitos benéficos para a saúde, pois podem participar na produção de reduzidas respostas glicêmicas. Essa autora sugere que os fatores anti-nutricionais contribuem para que certos alimentos, como as leguminosas, sejam digeridos e absorvidos lentamente e salienta que a completa eliminação desses fatores, durante o processamento, pode ser indesejável.

A adição ao pão de fitato (como fitato de sódio) (Yoon e cols., 1983) proporcionou a redução da velocidade de digestão do amido "in vitro" e "in vivo".

Os fitatos são estáveis ao calor, mas solúveis em água sendo perdidos durante a cocção (Cheryan, 1980). Estão presentes em grandes quantidades no trigo integral atuando como potentes quelantes de minerais.

Os fitatos têm a capacidade de inibir a atividade da α -amilase, enzima dependente de cálcio; surgindo diversas hipóteses para explicar esta diminuição de atividade: o fitato pode se complexar diretamente com a α -

amilase; ou sua complexação com o cálcio que pode levar à redução na disponibilidade desse mineral; ou pode ocorrer a complexação do fitato, diretamente com o amido (Thompson, 1989).

Os inibidores de α -amilase estão presentes em inúmeros alimentos crus: nas leguminosas (Marshall e Lauda, 1975), no trigo (Militzer e cols., 1946) e outros. Esses compostos são instáveis ao calor e desaparecem nos alimentos cozidos (Whitaker, 1989). O inibidor de α -amilase do trigo, quando isolado e purificado, tem a capacidade de reduzir a resposta plasmática de glicose e insulina pós-prandial em animais (Pulls e Keup, 1973). Efeitos semelhantes sobre o aproveitamento do amido foram observados por Menezes e Lajolo (1987) e Lajolo e cols.(1991) com o inibidor de α -amilase do feijão, em ratos normais e diabéticos.

Os compostos fenólicos estão presentes no feijão e em grande parte, na casca da semente. Estes compostos tem a capacidade de inibir a atividade de enzimas digestivas, especialmente a tripsina (Reddy e Pierson, 1985), a α -amilase e a maltase intestinal (Björck e Nyman, 1987b).

Extrato de taninos ou feijões com altas concentrações de taninos causam inibição da digestão do amido "in vitro" e "in vivo" em ratos (Reddy e Pierson, 1985). Segundo Thompson e cols. (1986) a adição de taninos purificados ao amido do trigo ou ao pão, nos níveis encontrados nas leguminosas, resultam na redução da velocidade de digestão do amido pela α -amilase salivar.

Thompson (1988) verificou que a remoção da casca do feijão aumentou a digestibilidade "in vitro" do amido do feijão, enquanto que com a adição da casca à farinha de feijão sem casca ocorreu diminuição da velocidade

de digestão. A autora sugere que compostos presentes na casca do feijão, como os compostos fenólicos, têm participação no aproveitamento do amido.

O grânulo de amido cru é menos digerido que o grânulo gelatinizado, pois a cocção aumenta a digestibilidade do amido, provavelmente pela desorganização granular e mudanças na cristalinidade do material. As respostas plasmáticas de glicose e insulina são significativamente maiores com a ingestão do amido cozido do que cru (Vaaler, 1984).

A digestibilidade "in vitro" do amido cru de leguminosas é geralmente menor do que a dos cereais. Entretanto, esta é substancialmente aumentada com o aquecimento (Socorro e cols., 1989).

Com o aumento do grau de gelatinização ocorre aumento da digestibilidade "in vitro" de produtos panificados (Wootton e Bamunuarachchi, 1980). Segundo Holm e cols. (1988) o grau de gelatinização do amido é um importante determinante para a resposta metabólica produzida e está positivamente correlacionado com a digestibilidade "in vitro".

Produtos com gelatinização incompleta, analisada por calorimetria diferencial exploratória, produzidos do trigo integral por variados processos industriais, possuem reduzida velocidade de hidrólise da α -amilase e produzem reduzidas respostas glicêmicas (Holm e cols., 1985). Também, os resultados de Ross e cols. (1987) em humanos, indicam que as diferenças nas respostas plasmáticas de glicose e insulina após a ingestão de produtos à base de trigo podem ser explicadas pelas diferenças existentes no grau de gelatinização.

Seravalli (1990) verificou que o feijão não macerado e cozido por 45 min produziu menores respostas glicêmicas em ratos e menor hidrólise "in vitro" que o feijão não macerado e cozido 90 ou 120 minutos, atribuindo esses

efeitos à incompleta gelatinização do amido do feijão.

Com a finalidade de manter a baixa digestibilidade "in vitro" de farinhas pré-cozidas de lentilha e feijões Tovar e cols. (1990b) alertam para a importância da temperatura de cocção utilizada no processamento, pois verificaram que a extensiva cocção (com a completa gelatinização do amido) aumentou significativamente a hidrólise "in vitro" dessas leguminosas.

Outro fator considerado no aproveitamento do amido é a natureza do amido. Somente dois polissacarídeos são capazes de sofrer hidrólise no intestino delgado humano (amilose e amilopectina). A amilopectina é mais rapidamente gelatinizada e hidrolisada pela α -amilase que a amilopectina (Sandstedt e cols., 1962).

O arroz com alto teor de amilose tem a capacidade de proporcionar menores respostas plasmáticas de glicose e insulina do que o arroz com baixo teor de amilose. (Goddard e cols., 1984).

O conteúdo de amilose e amilopectina nas leguminosas pode explicar, parcialmente, as reduzidas respostas glicêmicas produzidas por estes alimentos, cujos grânulos de amido contém 24- 65% de amilose (Hoover e Sosulki, 1991); enquanto que a maioria dos outros alimentos fontes de carboídratos contém, 25 - 30% de amilose (Biliaderis, 1991).

Recentemente, foi introduzido o conceito de amido resistente que inclui todo o amido e produtos de sua degradação que não são absorvidos pelo intestino delgado de indivíduos normais (Asp e Björck, 1992), sendo esse, mais um fator que pode interir no aproveitamento do amido.

O amido resistente não é degradado enzimaticamente no intestino delgado de ratos, mas é facilmente fermentado pela flora bacteriana (Björck e cols, 1987a).

Essa forma resistente de amido é produzida durante o aquecimento e armazenamento e acredita-se que seja formado, principalmente, por cadeias de amilose retrogradada (Russell e cols., 1989). (A retrogradação compreende a recristalinização das moléculas de amido).

Berry (1986) verificou que o conteúdo de amilose e amido resistente formado pelo repetitivo processo de autoclavagem - resfriamento do trigo estão positivamente correlacionados.

Siljeström e Björck (1990) observaram a formação de amido resistente em purês infantis à base de ervilha, milho, batata e feijão autoclavados. Os produtos com leguminosas apresentaram formação aumentada de amido resistente que foi atribuída à presença de maior percentagem de amilose presente.

Tem sido relatado que a amilose retrogradada produz reduzidas respostas plasmáticas de glicose e insulina (Lee e cols., 1985; em contraste com a amilose, a amilopectina retrogradada é completamente degradada pela α -amilase (Ring e cols., 1988).

Tovar e cols.(1990b) verificaram que o conteúdo de amido, quantificado após a solubilização da farinha pré-cozida de lentilha e feijão em NaOH 2N, foi bem maior que o teor de amido disponível. Este aumento foi decorrente da presença de significativas quantidades de amido resistente (3 - 9% do peso seco de amilose retrogradada). Cabe lembrar que o teor de amido resistente formado em vários tipos de pão, durante a panificação, é da ordem de

0 - 1,7% do teor de amido (Holm e Björck, 1992).

Uma vez que as leguminosas contêm apreciável quantidade de proteínas, elas poderiam representar um dos fatores que proporcionam as reduzidas respostas glicêmicas das leguminosas (O' Dea e Wong, 1983).

Tappy e cols. (1986) verificaram que quando a proteína e ou a fibra alimentar de leguminosas foram adicionadas ao purê de batatas, o efeito sobre a glicemia foi mínimo. Assim, a proteína adicionada não tem as mesmas funções estruturais que a proteína natural do grão.

Através da produção de hidrogênio expirado, Anderson e cols. (1981) verificaram que o amido do pão feito com trigo sem glúten é mais digerível que do pão com trigo normal. Estes dados estão de acordo com estudos de Jenkins e cols. (1987b) que observaram que o pão feito a partir de farinha de trigo livre de glúten é mais rapidamente digerido "in vitro" e produz respostas glicêmicas 20% maiores do que o pão de farinha de trigo comum; esses efeitos não foram revertidos pela a adição dessa proteína à farinha livre de glúten. Dessa forma, tem sido observado que a organização física entre os grânulos de amido e as proteínas presentes no alimento podem dificultar o aproveitamento do amido.

Através de microscopia óptica, Holm e cols. (1985) observaram que no trigo cozido ocorre a formação de numerosos agregados protéicos, encapsulando os grânulos de amido e no trigo cru, uma grande proporção de grânulos de amido estão envolvidos pela matriz protéica.

Após a incubação do trigo com pepsina os autores observaram aumento da disponibilidade do amido. No trigo cru ocorreu a degradação da matriz protéica e aumento na proporção de grânulos livres, fato que aumentou a

área superficial total do grânulo para a ação enzimática. O aumento da disponibilidade do amido pode ser decorrente, também, em parte, da remoção de finas camadas de proteína que aderem aos grânulos (não visível no microscópio óptico). Já, no trigo cozido ocorreu a desintegração dos agregados protéicos com o aumento da disponibilidade do amido pela liberação do amido gelatinizado, que é prontamente hidrolisado. Paralelamente, observaram que o tratamento prévio do trigo com pepsina resultou no maior aproveitamento do amido "in vivo", sendo observado em ratos aumento nos níveis plasmáticos de glicose e insulina.

Nas leguminosas, segundo Wong e cols. (1985) e Tovar e cols. (1990a), a melhora no aproveitamento do amido "in vitro" após a incubação com pepsina é decorrente da ação proteolítica na parede celular dos grãos, com a liberação das associações entre o amido e a proteína. Entretanto, Tovar e cols. (1990a) acreditam que a disponibilidade total do amido, após o tratamento com pepsina, só poderá ser atingida após a ruptura da parede celular.

Tovar e cols. (1990b) verificaram que entre as leguminosas ocorrem diferentes respostas "in vitro" frente ao tratamento com pepsina. O tratamento prévio das farinhas de leguminosas com pepsina proporcionou aumento na susceptibilidade enzimática do amido, sendo que o produto de hidrólise com α -amilase decresceu na seguinte ordem: lentilha > feijão marrom = feijão branco > feijão preto > feijão vermelho.

Esses autores sugerem que a presença da pepsina, durante a digestão gástrica, poderia afetar os reduzidos aumentos da glicemia pós-prandial proporcionados por estes alimentos e acreditam que o feijão ("red kidney bean") seja o material mais promissor para ser utilizado na alimentação do diabético, indicando que seu aproveitamento "in vivo" deva ser avaliado.

Pelas informações descritas verificamos que o estudo das respostas glicêmicas produzidas pelas diferentes fontes de amido, consumidas habitualmente pela população brasileira, seria de grande utilidade do ponto de vista clínico; verificamos, também, que são inúmeros os fatores envolvidos no aproveitamento do amido e que esses aspectos merecem outras investigações.

3 - OBJETIVOS

- Avaliar comparativamente o aproveitamento do amido do feijão em relação a outras fontes de carboidratos complexos de consumo habitual da população brasileira. Estudo em humanos, animais e "in vitro"
- Procurar explicações sobre os mecanismos envolvidos no aproveitamento desse polissacarídeo.

4 - MATERIAL

4.1 - Alimentos

Os alimentos utilizados no presente estudo, obtidos no comércio local foram: Feijão Carioca (*Phaseolus vulgaris*, L.), feijão Fradinho (*Vigna sinensis*, E.), arroz (*Oryzae sativa*), macarrão spaguetti e pão francês (à base de farinha de trigo (*Triticum vulgare*)), mandioca e farinha de mandioca crua (*Manihot utilissima*), canjica e fubá de milho (*Zea mays*).

4.2 - Enzimas utilizadas

Celulase (tipo I - *Aspergillus niger*-7377), Pectinase (*Aspergillus niger*-4625), Glicose oxidase-6125 (tipo II - *Aspergillus niger*), Peroxidase-8125 (tipo I-cavalo), Amiloglucosidase-3042 (*Aspergillus niger*), Protease-5380 (tipo VIII - bacteriana) e Pepsina (mucosa de estômago de porco-7012) da Sigma Chemical Co.. Alfa-amilase termoestável-Termamyl-120 L da Novo Indústrias.

4.3 - Reagentes

Albumina sérica bovina (2 x cristalizada), Ácido 3,5 di-Nitrossalicílico, Triton x-100 foram obtidos da Sigma; kit para determinação de insulina da Diagnostic Production Corporation, Los Angeles); Trasylol (aprotinin) da Bayer; os demais reagentes utilizados foram de grau analítico.

4.4 - Rações experimentais

As rações experimentais utilizadas no ensaio de média duração com animais foram formuladas da seguinte forma :

Ração de adaptação - com 30% de proteína (caseína); 5% de óleo de milho; 3,5% de mistura salina; 1,0% de mistura vitamínica; 0,2% de bitartarato de colina; 0,5% de metionina; 5% de fibra alimentar (celulose microcristalina) e amido de milho cozido q.s.p. 100%. As misturas salinas e vitamínicas foram preparadas conforme as necessidades de ratos (Institute of laboratory animal resources, 1979).

Ração de polenta - com semelhante distribuição da ração de adaptação com as seguintes modificações: o amido de milho cozido foi substituído pela polenta; o teor de proteína, lípidos e fibra alimentar presentes na polenta foram considerados para complementação do teor dos demais componentes.

Ração de feijão - com exceção do teor de fibra alimentar, a ração foi elaborada com semelhante distribuição da ração de adaptação com as seguintes modificações: o amido de milho cozido foi substituído pelo feijão cozido; o teor de proteína e lípidos presentes no feijão foram considerados para a complementação dos demais componentes. O teor de fibra alimentar considerado foi o contido no feijão (22,82%).

Ração controle - foi formulada para conter 12% de proteína (caseína) e 0,2% de metionina, os demais componentes com percentual semelhante ao da ração de adaptação.

5 - MÉTODOS

5.1 - Métodos físico-químicos e bioquímicos

5.1.1 - Determinação do amido disponível

A determinação do teor de amido disponível foi efetuada segundo Snow e O'Dea (1981) com modificações. Uma porção de amostra, contendo cerca de 200 mg de carboidratos (peso seco), foi homogeneizada no extrator tipo Potter-Elvehjem por 10 min, gelatinizada por 60 min em tampão acetato 0,2M pH 4,8, em banho maria fervente e o volume completado para 25 ml. Alíquotas de 1 ml foram retiradas e incubadas com 1 ml de solução de amiloglicosidase (140 U/ml) em tampão acetato 0,2M pH 4,8, a 50°C por 24 horas. A reação foi interrompida com 0,2 ml de ácido perclórico 0,6N. O extrato foi centrifugado a 22.853 g/15 min, o precipitado lavado com tampão fosfato 0,1M pH 7,0 e novamente centrifugado. Os dois sobrenadantes foram misturados e o volume completado para 5 ml com o mesmo tampão.

O teor de glicose livre foi determinado pelo método enzimático com glicose oxidase/peroxidase/ o-dianisidina (Bergmeyer e Bernet, 1974).

5.1.2 - Determinação do teor de carboidrato disponível

A quantidade de amido disponível, determinado pelo método Snow e O'Dea (1981) e descrito em 5.1.1, foi considerada como o teor de carboidrato disponível presente nos alimentos.

5.1.3 - Hidrólise do amido "in vitro"

A velocidade de hidrólise do amido "in vitro" foi adotada como sendo a percentagem de amido disponível hidrolisado após 30 min de incubação com amiloglucosidase. Este método foi descrito por Snow e O'Dea (1981) e baseia-se na técnica de quantificação do amido disponível (5.1.1).

As amostras contendo, exatamente, 200 mg de amido disponível foram dissolvidas em tampão acetato 0,2M pH 4,8 e incubadas a 50°C por 30 min com 1 ml de solução de amiloglucosidase (140 U/ml), preparada no mesmo tampão. A reação foi interrompida com 0,2 ml de ácido perclórico 0,6N. As etapas posteriores seguiram conforme descrito em 5.1.1.

5.1.4 - Determinação do tempo de cocção dos feijões

O tempo de cocção dos feijões, determinado pelo cozedor de Mattson, corresponde ao tempo suficiente para que 50% dos grãos estejam adequados para o consumo. O método foi desenvolvido por Mattson (1946) e (Jackson e Varrino-Marston 1981).

5.1.5 - Determinação da fibra alimentar

Os teores da fibra alimentar total, solúvel e insolúvel foram determinados por método enzimático (Prosky, 1988).

5.1.6 - Isolamento dos grânulos de amido

Feijão cru - Os grânulos de amido foram isolados dos feijões de acordo com Hohlberg e Stanley (1987), com algumas modificações.

As sementes de feijão cru com casca (200g) foram maceradas em 400 ml de água destilada por 18 horas a 4°C, posteriormente foram transferidas para o Waring blendor a 4°C e homogeneizadas com a água de maceração, por 10 min, em velocidade média (escala arbitrária do equipamento em nº 5).

O homogenato foi lavado, com água destilada através de tamis com abertura de 250 μ m e centrifugado a 36.321g por 10min. O precipitado foi ressuspenso com tampão fosfato 0,1M pH 7,0, com 5% NaCl, permanecendo 90 min sob agitação para extração das proteínas. O extrato foi novamente centrifugado a 36.321g por 20 min e o precipitado lavado com água destilada para nova centrifugação nas mesmas condições.

O precipitado final foi submetido à extração com solução saturada de tolueno por 1 hora sob agitação. A seguir a camada de tolueno foi retirada por sifonação e o extrato filtrado à vácuo. Finalmente, o resíduo foi lavado com acetona, filtrado e seco a 50°C por 15 horas.

Feijão cozido - As sementes de feijão foram maceradas em 400 ml de água destilada a 4°C por 18 h e cozidas de acordo com o tempo definido no cozedor de Mattson (5.1.3). Posteriormente, foram homogeneizadas no triturador Potter-Elvehjem a 4°C por 40 min, em pequenas alíquotas. Somente nestas condições é que ocorreu o rompimento da parede celular dos grãos, com o efetivo isolamento dos grânulos.

Os homogenatos foram misturados e lavados em água destilada através de tamis com abertura de 250 μm . Posteriormente, o isolamento dos grânulos seguiu conforme citado no isolamento dos grânulos de feijão cru.

5.1.7 - Tratamento do feijão com pepsina

Uma porção de feijão macerado, cozido e homogeneizado, (equivalente a 1 g de semente de feijão seca) foi diluída em água, o pH ajustado para 1,5 e incubada com 6,0 mg de pepsina (2690 U/mg sólido) por 60 min a 37°C. Posteriormente, o pH foi ajustado para 7,0 e as amostras foram secas em estufa ventilada a 50°C por 15 horas.

A quantidade de enzima a ser utilizada foi controlada de acordo com as características microscópicas da amostra após 30 min de incubação com amiloglucosidase (5.1.1). As condições de incubação com pepsina foram descritas por Seravalli (1990).

5.1.8 - Isolamento da parede celular

O isolamento da parede celular foi realizado de acordo com Hincks e Stanley (1987). Como foi utilizado o feijão inteiro, o material obtido corresponde à parede celular e casca da semente.

O feijão cru (200 g) foi macerado em 400 ml de água destilada a 4°C por 18 horas e homogeneizado no Waring blender a 4°C por 10 min. O homogenato foi lavado com água destilada através de tamis com abertura de 250 μm e as partículas maiores que 250 μm foram secas a 50°C por 15 horas.

5.1.9 - Tratamento do feijão com celulase/pectinase

O tratamento com celulase/pectinase de amostras de feijão macerado, cozido e homogeneizado baseou-se nos estudos de O'Neill e Selvendran (1985) com modificações.

O equivalente a 1 g de feijão seco foi incubado em tampão acetato 0,1M pH 5,0 com 50 mg de celulase (1300 U/mg de sólido) e 50 mg de pectinase (1,2 U/mg de sólido). O tempo de incubação foi de 20 horas a 37°C em presença de tolueno. Para que não houvesse desintegração total das células, a quantidade de enzimas utilizada e o tempo de incubação foram controlados por microscopia óptica. Posteriormente, o pH das amostras foi ajustado para 7,0 e as amostras secas a 50°C por 15 horas.

5.1.10 - Microscopia óptica

As amostras submetidas à microscopia óptica foram diluídas em água. As suspensões foram coradas com solução de iodo/iodeto de potássio (0,2% / 2%) em glicerol a 50%. As observações foram realizadas no microscópio óptico Carl Zeis Jena, com luz convencional e fotografadas com filme Kodakcolor Gold 200 ASA.

5.1.11 - Quantificação do diâmetro dos grânulos de amido

O tamanho médio dos grânulos de amido foi determinado através da quantificação do diâmetro de aproximadamente 100 grânulos presentes nas fotomicrografias (250 X).

5.1.12 - Atividade da α -amilase

A atividade da α -amilase no conteúdo do intestino delgado foi determinada pela reação com amido reduzido e interrompida com ácido 3,5 di-Nitrossalicílico (Bernfeld, 1955) (1 U corresponde a liberação de 1 μ mol de maltose / min).

5.1.13 - Atividade da maltase e invertase

A atividade da maltase e invertase no intestino delgado foi determinada conforme a técnica descrita por Dahlqvist (1964) (1 U corresponde a 1 μ mol de dissacarídeo hidrolisado / min).

5.1.14 - Determinação de insulina

A insulina plasmática foi determinada por radioimunoensaio (Kit - Diagnostic Production Corporation, Los Angeles).

5.1.15 - Determinação de proteínas

O teor de proteínas no conteúdo intestinal foi determinado pelo método de Lowry e cols. (1951).

5.1.16 - Determinação de glicose

A glicose plasmática foi determinada com glicose oxidase,

peroxidase e orto-dianisidina, segundo a técnica descrita por Bergmeyer e Bernt (1974).

5.1.17 - Determinação do amido residual

O amido residual no estômago e intestino delgado foi dosado pela técnica de Bernfeld (1955), após tratamento descrito por Lajolo e cols. (1984). A quantidade de amido foi calculada multiplicando-se a concentração de glicose por 0,9 e considerando-se a percentagem de recuperação da técnica.

5.1.18 - Determinação do peptídeo semelhante ao glucagon-1 7-36 (GLP-1 7-36).

O peptídeo semelhante ao glucagon-1 7-36 (glucagon-like peptide-1 7-36) (GLP-1 7-36) foi quantificado por radioimunoensaio (Kreymann e cols., 1987), no Hospital Hammersmith London, UK.

5.2 - Métodos biológicos

5.2.1 - Ensaio com animais

Os animais utilizados foram ratos machos (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*) da linhagem "Wistar", obtidos a partir de colônias mantidas no biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, recém desmamados e tratados com rações comerciais.

5.2.1.1 - Ensaio de curta duração

Nos ensaios de curta duração os animais receberam por sonda gástrica amido proveniente de diversas fontes ou do feijão submetido a diferentes tratamentos.

Os animais permaneceram 18 horas em jejum em gaiolas metabólicas individuais. Após este período foram administrados aos animais, por sonda gástrica, 200 mg de carboidrato disponível por 100 g de peso corporal (diluídos em 2 ml de solução fisiológica). Os alimentos antes de serem administrados aos animais, para qualquer tipo de tratamento utilizado, foram secos em estufa ventilada a 50°C por 15 horas, triturados no triturador de laboratório Janke e Kunbel por 5 min, passados pelo tamis com abertura de 250 μ m e armazenados. A trituração foi introduzida para que os alimentos pudessem ser administrados por sonda gástrica aos animais.

Após a administração do alimento foi coletado sangue da veia caudal (30,60,120 e 180 minutos) para a determinação dos níveis de glicose plasmática. Em cada experimento, amostras de sangue foram coletadas minutos antes do recebimento do alimento e os valores obtidos nesta coleta foram considerados o tempo zero.

Ensaio com diferentes fontes de amido - Os animais pesando $132,9 \pm 3,3$ g foram divididos em 9 grupos (6 animais por grupo). Nesse ensaio os alimentos foram submetidos ao seguinte tratamento: As duas variedades de feijão foram maceradas por 18 horas em água destilada, a 4°C e cozidas por 40 min sem pressão. O arroz e a mandioca foram cozidos por 30 min, a polenta e o macarrão por 20 min e a canjica por 69 min. O pão francês e a farinha de mandioca crua foram adquiridos prontos.

Ensaio com diferentes tratamentos do feijão - Os animais pesando $81,3 \pm 2,2$ g foram divididos em 6 grupos (6 a 7 animais por grupo). As amostras de feijão foram maceradas por 18 horas em água destilada a 4°C e cozidas por 48 min sem pressão. Posteriormente, o feijão foi triturado por 10 min no Waring blender e submetido aos diferentes tratamentos. A Tabela 1 contém a descrição e procedimento do tratamento utilizado para cada grupo experimental.

Tabela 1 - Descrição e procedimento do tratamento utilizado nos alimentos

Grupo	Tratamento do alimento	
	Descrição	Procedimento
Polenta	fubá de milho cozido	cocção do fubá por 20 min
Feijão	feijão cozido	cocção do feijão por 48 min
Amido	amido isolado de feijão cozido	cocção do feijão por 48 min -> isolamento do amido
Amido + P. Celular	amido isolado de feijão cozido + parede celular e casca	cocção do feijão por 48 min -> isolamento do amido + isolamento da parede celular e casca -> cocção por 48 min
Pepsina	feijão cozido tratada com pepsina	cocção do feijão por 48 min -> incubação c/ pepsina por 60 min

5.2.1.2 - Ensaio de média duração

O experimento foi constituído de duas fases: adaptação (7 dias) e experimental (13 dias).

Fase de adaptação - com a finalidade de adaptar os animais à restrição energética e condicioná-los a ingerir a ração no período de uma hora por dia, os animais receberam por 7 dias a ração de adaptação. Os animais (54 ratos machos, peso médio inicial de $75,7 \pm 8,2$ g) foram alojados em gaiolas metabólicas individuais. Em função do aporte energético da ração de adaptação (3,47 kcal/g) (14,52 kJ/g) os animais receberam 6 g/dia.

Fase experimental - Após a fase de adaptação (8º dia) os animais foram divididos em 3 grupos: controle (6 animais; $78,6 \pm 5,6$ g), polenta (24 animais; $80,6 \pm 4,2$ g) e feijão (24 animais; $80,6 \pm 3,4$ g). Esta fase teve duração de 13 dias.

Com a finalidade de se observar o crescimento dos animais, sem restrição energética, foi introduzido o grupo controle. Este grupo recebeu a ração "ad libitum" com amido proveniente do amido de milho cozido (3,17 kcal/g) (13,26 kJ/g).

O grupo polenta e feijão receberam a ração com amido proveniente do fubá de milho e feijão cozidos, respectivamente. O fubá foi cozido por 20 min, seco em estufa ventilada a 50°C, por 15 horas, triturado com granulometria menor que 250 μ m e incorporado à ração. O feijão foi macerado por 18 horas a 4°C e cozido por 48 min sem pressão. Posteriormente, o tratamento foi semelhante ao do fubá.

Em função do aporte energético da ração de polenta (3,35 kcal/g) (14,01 kJ/g) os animais receberam 6 g/dia e para a ração de feijão (2,86 kcal/g) (11,96 kJ/g) receberam 7 g/dia. Para todas as rações o teor de carboidratos foi quantificado pelo método enzimático (descrito em 5.1.2) que representa o teor de carboidrato disponível e não por diferença.

Nas duas fases, a coleta de material fecal foi iniciada 24 horas após a administração da ração, feita em intervalos de 48 horas e finalizada 24 horas após a última ingestão do mesmo tipo de ração. O material fecal foi seco em estufa ventilada a 50°C até peso constante. O controle de ganho de peso, consumo de ração e excreção fecal foram feitos durante 7 dias na fase de adaptação e 13 dias na experimental.

No último dia da fase experimental todos os 54 animais permaneceram em jejum por 18 horas, após terem recebido a ração por uma hora.

Após o período de jejum os animais do grupo feijão (24 animais) foram divididos em 4 grupos de seis animais. Um grupo recebeu solução fisiológica por sonda gástrica, os valores obtidos com esse grupo foram tomados como tempo zero. Os outros três grupos receberam por sonda gástrica a ração de feijão diluída em solução fisiológica (200 mg de amido disponível/2ml/animal). Os animais foram sacrificados após 30, 60 e 180 min da administração da ração; sendo coletado o estômago, o intestino delgado e a carcaça dos animais. Paralelamente, no grupo de animais, que seriam sacrificados após 3 horas da administração da dieta, foi retirado sangue da via caudal para determinação da glicose sanguínea (coletadas amostras após 30, 60, 120 e 180 min). Tratamento semelhante foi realizado com os 24 animais do grupo polenta, só que esses animais receberam por sonda gástrica a ração de polenta diluída em solução

fisiológica (200 mg de amido disponível/2ml/animal) ou somente solução fisiológica (2ml/animal).

O grupo controle (8 animais) permaneceram 18 horas em jejum e receberam solução fisiológica por sonda gástrica. Os valores obtidos com esse grupo constituem o tempo zero sem restrição energética.

5.2.1.3 - Obtenção do sangue

Para a determinação da glicose plasmática o sangue foi coletado em alíquotas de 100 μ l da veia caudal, desproteinizado com ácido perclórico 0,34 N e centrifugado a 5.713g/10 min.

5.2.1.4 - Obtenção dos órgãos e carcaça

Com os animais anestesiados com éter, as extremidades do estômago e do intestino delgado foram amarradas. Imediatamente após a retirada dos órgãos, estes foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -20°C.

Após a retirada das demais vísceras, a carcaça foi limpa, pesada e seca em estufa ventilada a 105°C por 36 horas até peso constante.

5.2.1.5 - Preparação dos homogenatos do estômago e intestino delgado.

Após o descongelamento do intestino delgado, o conteúdo intestinal foi lavado com solução fisiológica gelada e centrifugado sob

refrigeração a 5.713g/20 min. A atividade da α -amilase e o teor de proteína foram determinados no sobrenadante e o teor de amido residual no precipitado. O mesmo tratamento foi realizado no estômago, sendo determinado o teor de amido residual no precipitado.

A parede do intestino delgado, exatamente 15 cm, foi invertida, cortada em pequenos pedaços, homogeneizada no triturador Potter-Elvehjem a 4°C por 3 minutos e centrifugada sob refrigeração a 13129g/15 min. A atividade da maltase e invertase e o teor de proteínas foram determinados no sobrenadante.

5.2.2 - Ensaio com humanos

5.2.2.1 - Curta duração

Os experimentos com humanos foram realizados na Unidade Metabólica do Hospital das Clínicas, Disciplina de Nutrologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP e o protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital.

Participaram dos estudos 12 indivíduos saudáveis (baseando-se em evidências clínicas e laboratoriais), do sexo masculino, com idade variando entre 22 e 42 anos ($33,3 \pm 5,8$) e Índice de massa corporal (I.M.C. - Kg/m²) de $24,8 \pm 2,9$. Os voluntários apresentaram tolerância normal à glicose (Anexo 1).

Antes de cada teste os indivíduos permaneceram 10 horas em jejum e cada teste foi realizado em um intervalo mínimo de 5 dias. No primeiro dia experimental os indivíduos receberam 50g de glicose (via oral) para a realização do teste de tolerância à glicose (GTT). Nos demais dias experimentais as dietas foram distribuídas aleatoriamente e após sua ingestão foi coletado sangue

venoso (15, 30, 45, 60, 120 e 180 min) para a determinação de glicose plasmática (tubo com oxalato de sódio), de insulina plasmática (tubo heparinizado) e de GLP-1 7-36 plasmático (tubo heparinizado com 20.000 KIU/ml de aprotinin).

As dietas ingeridas no primeiro experimento foram : arroz, feijão, arroz com feijão (3:1) e polenta. Cada alimento foi cozido (arroz e milho por 20 min; feijão por 39 min, após 12 horas de maceração) e congelado em porções individuais contendo exatamente 50g de carboidrato disponível.

As dietas ingeridas no segundo experimento foram : polenta, feijão com casca e feijão sem casca. Cada alimento foi cozido (milho por 20 min, feijão com casca por 40 minutos, após 12 horas de maceração e feijão sem casca por 40 min, sem maceração) e congelado em porções individuais contendo exatamente 50g de carboidrato disponível. Para que todas as dietas contivessem semelhante teor de proteína foi acrescentada caseína à dieta de polenta (Tabela 2).

Tabela 2 - Conteúdo de proteína e carboidrato disponível nas dietas experimentais no segundo experimento com humanos*

Dieta	Carboidrato Disponível (g)	Proteína (g)
Polenta + proteína	50	22,26
Feijão com casca	50	23,82
Feijão sem casca	50	21,26

* Os valores analíticos representam a média de 3 determinações.

5.3 - Métodos estatísticos

Os resultados obtidos nos ensaios biológicos foram submetidos à análise de variância simples (teste das comparações múltiplas de Tukey). Utilizou-se o pacote de programas estatísticos Statgraphics (Statistical Graphics System by Statistical Graphics Corporation), USA, STSC Inc., 1985.

6 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 - Aproveitamento de diferentes fontes de amido. Estudo de curta duração em ratos

Inicialmente foram estudadas em ratos as respostas glicêmicas produzidas por diferentes fontes de amido de consumo habitual da população brasileira.

Através da área produzida abaixo da curva glicêmica, após 180 minutos da administração do alimento, observou-se que as fontes de carboidratos complexos estudadas foram diferentemente aproveitadas pelos animais, pois produziram diferentes respostas glicêmicas (Tabela 3). As duas variedades de feijão e a mandioca produziram as menores áreas; já, a polenta, arroz, pão e macarrão as maiores e a canjica e farinha de mandioca áreas intermediárias.

Esses resultados estão de acordo com os de diversos autores que têm estudado o aproveitamento de carboidratos complexos, em humanos, na última década (Osion, 1986), (Wursch, 1989), (Wolever e cols., 1991).

Observou-se que a percentagem de hidrólise do amido "in vitro", após a incubação dos alimentos por 30 min com amiloglucosidase (Tabela 4), está positivamente correlacionada com a área produzida abaixo da curva glicêmica ($r = 0,818624$ $p < 0,01$) e com o aumento máximo da glicemia acima do basal ($r = 0,783556$ $p < 0,01$).

Resultados semelhantes foram evidenciados, anteriormente, em nosso laboratório com outros alimentos (Seravalli, 1990). A correlação entre a

Tabela 3 - Glicose plasmática, em ratos, após a administração de diferentes fontes de amido*

Grupo	Glicose plasmática (nmol/l)						Área (nmol x min/l)
	Peso (g)	Tempo (min)					
		0	30	60	120	180	
Polenta	130,2 ± 7,5	3,3 ± 0,2	6,6 ± 1,0	7,7 ± 0,5	5,4 ± 0,5	4,6 ± 0,6	1068,0 ± 70,5 ^a
Arroz	133,4 ± 6,0	3,3 ± 0,2	6,1 ± 0,7	7,2 ± 1,2	5,6 ± 0,6	4,9 ± 1,2	1029,3 ± 80,9 ^{ad}
Pão	137,2 ± 5,0	3,3 ± 0,2	6,5 ± 1,3	7,4 ± 0,6	4,8 ± 0,9	4,1 ± 0,5	992,5 ± 107,6 ^{ad}
Macarrão	128,3 ± 9,5	3,3 ± 0,2	5,3 ± 0,4	6,2 ± 0,6	5,2 ± 0,1	4,4 ± 0,4	931,1 ± 41,5 ^{ad}
Canjica	135,7 ± 7,0	3,3 ± 0,2	5,4 ± 0,9	6,0 ± 0,9	5,5 ± 0,4	4,0 ± 0,4	903,0 ± 112,5 ^{bd}
Farinha de mandioca	131,0 ± 8,2	3,3 ± 0,2	6,1 ± 0,7	6,2 ± 0,6	4,4 ± 0,8	3,8 ± 0,2	884,8 ± 81,4 ^{bd}
Mandioca	134,4 ± 6,5	3,3 ± 0,2	5,6 ± 0,5	5,9 ± 0,4	4,5 ± 0,5	4,2 ± 0,4	872,0 ± 31,8 ^{ce}
Feljão Carioca	138,2 ± 5,5	3,3 ± 0,2	5,0 ± 0,9	5,4 ± 0,4	4,6 ± 0,5	4,2 ± 0,6	844,7 ± 59,2 ^{ce}
Feljão Fradinho	129,2 ± 7,2	3,3 ± 0,2	4,3 ± 0,5	5,7 ± 0,7	4,7 ± 0,4	4,2 ± 0,2	844,6 ± 57,8 ^{ce}

* Valores médios ± desvio padrão de 6 animais por grupo.

a,b,c... Valores nas mesmas colunas verticais, com letras diferentes, diferem estatisticamente $p < 0,05$.

Tabela 4 - Hidrólise do amido "in vitro", de diferentes fontes de amido, após 30 minutos de incubação com amiloglucosidade*

Alimento	Amido hidrolisado (%)
Polenta	67,2 ± 2,0
Arroz	62,1 ± 2,9
Pão	64,0 ± 2,4
Macarrão	70,2 ± 0,3
Canjica	48,5 ± 2,0
Farinha de mandioca	43,3 ± 1,9
Mandioca	43,9 ± 1,4
Feijão Carioca	19,0 ± 0,9
Feijão Fradinho	17,1 ± 1,9

* Os valores analíticos representam a média de 3 determinações.

velocidade de hidrólise do amido "in vitro" e as respostas glicêmicas para as leguminosas foi de $r = 0,83$ $p < 0,01$ e para os cereais e tubérculos de $r = 0,95$ $p < 0,01$

Essas correlações foram realizadas com a finalidade de observar se as respostas glicêmicas produzidas nos animais estavam relacionadas com as respostas "in vitro", pois a literatura cita sempre a correlação existente entre a hidrólise "in vitro" e respostas glicêmicas obtidas em humanos. O'Dea e cols. (1981) verificaram que a resposta glicêmica em humanos está fortemente correlacionada com os produtos de digestão liberados após 30 min de incubação "in vitro". Jenkins e cols. (1983a) chegaram a semelhantes conclusões, após 1 ou 5h de digestão "in vitro".

A partir dos resultados observados foram selecionados três alimentos (milho, arroz e feijão) para serem estudados em humanos.

6.2 - Aproveitamento do amido proveniente do milho, arroz e feijão. Estudo de curta duração em humanos

Esse estudo foi realizado com o objetivo de serem comparados os resultados sobre as respostas glicêmicas obtidas com animais e humanos e se estudar, especificamente, o aproveitamento do amido proveniente do feijão.

Foram realizadas dois experimentos com indivíduos saudáveis. No primeiro (I) os voluntários receberam exatamente 50 g de carboidrato disponível proveniente do milho (polenta), arroz, arroz com feijão e feijão e no segundo (II) proveniente do milho (polenta) e feijão com e sem casca.

Através da Tabela 5 e Figura 1 observa-se que a ingestão de feijão pelos indivíduos proporcionou reduzido aumento da glicemia pós- prandial; produzindo área abaixo da curva glicêmica menor do que a produzida pela polenta, arroz e arroz com feijão.

Verificou-se que as respostas glicêmicas obtidas com humanos foram semelhantes às encontradas com animais, existindo correlação positiva entre a hidrólise "in vitro" das fontes de carboidratos estudadas (Tabela 4) (Tabela 6) e a área de glicose produzida abaixo da curva glicêmica (Tabela 3) (Tabela 5) para os dois grupos ($r = 0,818624$ $p < 0,01$ em animais e $r = 0,933617$ $p < 0,01$ em humanos).

Dessa forma, a existência da estreita relação entre as respostas glicêmicas produzidas em animais, em humanos e a velocidade de hidrólise "in vitro" nos permite a reprodução das respostas obtidas com humanos em animais e a utilização da hidrólise do amido "in vitro" para a seleção prévia de alimentos.

Deve-se considerar que os alimentos utilizados tanto para humanos como para animais, foram tratados de forma diferente para serem administrados. Para humanos foram somente cozidos; já, para os animais, após a cocção, os alimentos foram secos a 50°C por 15 horas e triturados com granulometria menor que 250 μm ; tal procedimento foi necessário para que pudessem ser administrados por sonda gástrica aos animais.

Apesar do tratamento descrito, modificando sua forma física, o feijão produziu reduzidos aumentos da glicose plasmática tanto em humanos como em animais.

A quantificação dos níveis plasmáticos de glicose para a avaliação do aproveitamento de carboidratos complexos em humanos constitui apenas

Tabela 5 - Glicose plasmática após ingestão de polenta, arroz e feijão em indivíduos normais *

Grupo	Glicose plasmática (nmol/l)							Área (nmol x min/l)
	Tempo (min)							
	0	15	30	45	60	120	180	
Polenta	4,9 ± 0,4 ^a	7,2 ± 0,9 ^{ac}	7,6 ± 1,0 ^{ac}	7,1 ± 0,6 ^a	6,8 ± 1,6 ^a	5,0 ± 0,8 ^a	4,9 ± 0,5 ^a	1066,9 ± 107,3 ^a
Arroz	4,8 ± 0,4 ^a	5,7 ± 0,6 ^b	6,4 ± 0,8 ^b	5,9 ± 0,6 ^b	6,0 ± 1,7 ^a	5,5 ± 1,3 ^a	4,9 ± 0,3 ^a	1011,1 ± 127,8 ^a
Arroz com feijão	4,8 ± 0,2 ^a	6,2 ± 0,9 ^{bc}	6,6 ± 0,7 ^{bc}	5,9 ± 0,9 ^b	5,3 ± 1,0 ^a	5,1 ± 0,4 ^a	5,1 ± 0,4 ^a	972,5 ± 91,7
Feijão	4,8 ± 0,3 ^a	5,4 ± 0,6 ^b	5,8 ± 0,5 ^b	5,8 ± 0,8 ^b	5,3 ± 0,3 ^a	4,9 ± 0,5 ^a	4,7 ± 0,4 ^a	915,4 ± 69,7 ^b

* Valores médios ± desvio padrão de 7 indivíduos por grupo

a,b,... Valores nas mesmas colunas verticais, com letras diferentes, diferem estatisticamente $p < 0,05$.

Figura 1 - Glicose e insulina plasmática, em 7 indivíduos normais, após a ingestão de polenta, arroz e feijão.

Tabela 6 - Hidrólise do amido "in vitro" das dietas experimentais, após 30 minutos de incubação com amiloglucosidase *

Dieta	Amido hidrolisado (%)
Polenta (I)	60,3 $\pm$ 2,4
Polenta com proteína(II)	66,2 $\pm$ 1,5
Arroz (I)	60,1 $\pm$ 4,4
Arroz com feijão (I)	53,3 $\pm$ 1,8
Feijão com casca (I)	15,1 $\pm$ 0,6
Feijão com casca (II)	13,3 $\pm$ 1,2
Feijão sem casca (II)	10,9 $\pm$ 1,2

* Os valores analíticos representam a média de 3 determinações.
(I) e (II) referem-se ao número do experimento com humanos.

num dos parâmetros necessários para a seleção dos alimentos na elaboração de cardápios e dietas.

Segundo Coulston e cols. (1984a) o Índice Glicêmico (IG), que compara o aumento da área abaixo da curva glicêmica produzida por um alimento em relação ao alimento controle (pão), ignora totalmente as respostas plasmáticas de insulina; apesar de seu significado clínico na população não diabética. A hiperinsulinemia tem sido considerada um fator de risco para o desenvolvimento de doenças coronarianas (Hillson e cols., 1984), bem como, contribui para a hipertrigliceridemia (Farquhar e cols., 1966). Segundo Welch (1991) e Fesken e cols. (1991) elevados níveis plasmáticos de insulina podem estar relacionados com o desenvolvimento de intolerância à glicose.

Desta forma, foram avaliados além dos níveis plasmáticos de glicose, os níveis de insulina após 15, 30, 45, 60, 120 e 180 minutos da ingestão de cada dieta.

Na Tabela 7 e Figura 1 pode-se observar que as respostas plasmáticas de insulina, produzidas pelos alimentos estudados, foram diferentes das respostas glicêmicas.

A área abaixo da curva plasmática de insulina foi estatisticamente diferente tanto para a dieta de feijão ($16561,4 \pm 2567,0$) como de arroz com feijão ($16585,2 \pm 2961,4$) em relação a de polenta ($35982,2 \pm 7874,0$) e arroz ($32119,8 \pm 8001,2$) (Tabela 7). Os níveis de insulina plasmática após 15, 30, 45 e 60 min da ingestão de feijão e após 30, 45 e 60 min da ingestão de arroz com feijão também foram diferentes (Tabela 7). Essas diferenças não foram observadas para a glicose plasmática; somente a dieta de feijão apresentou diferença estatística na área de glicose produzida abaixo da curva glicêmica (Tabela 5).

Tabela 7 - Insulina plasmática após a ingestão de polenta, arroz e feijão em indivíduos normais*

Grupo	Insulina plasmática (pmol/l)							Área (pmol x min/l)
	Tempo (min)							
	0	15	30	45	60	120	180	
Polenta	55,8 ± 11,6 ^a	225,8 ± 40,2 ^a	403,6 ± 101,2 ^a	353,6 ± 90,0 ^a	313,8 ± 88,0 ^a	112,2 ± 29,0 ^a	77,18 ± 17,3 ^a	35982,2 ± 7874,0 ^a
Arroz	49,0 ± 5,8 ^a	214,5 ± 47,7 ^a	287,6 ± 62,9 ^b	271,7 ± 68,1 ^a	241,7 ± 68,0 ^a	160,8 ± 40,8 ^a	47,06 ± 12,6 ^a	32119,8 ± 8001,2 ^a
Arroz com feijão	55,8 ± 12,6 ^a	159,5 ± 35,0 ^{ac}	173,7 ± 45,1 ^c	127,8 ± 33,4 ^b	83,6 ± 20,8 ^b	71,7 ± 14,9 ^a	60,02 ± 8,8 ^a	16585,2 ± 2961,4 ^b
Feijão	50,7 ± 10,3 ^a	85,0 ± 20,0 ^{bc}	107,8 ± 15,6 ^c	142,8 ± 36,0 ^b	112,5 ± 22,8 ^b	83,9 ± 13,9 ^a	62,06 ± 16,3 ^a	16561,4 ± 2567,0 ^b

* Valores médios ± desvio padrão de 7 indivíduos por grupo

a,b... Valores nas mesmas colunas verticais, com letras diferentes, diferem estatisticamente $p < 0,05$.

Dessa forma, a adição do feijão ao arroz teve a capacidade de reduzir o aumento da insulina plasmática, apesar do aumento observado na glicemia. Esses resultados mostram a capacidade do feijão em proporcionar reduzidas respostas de insulina plasmática pós-prandial.

O'Dea e Wong, 1983 observaram que a lentilha triturada, antes da cocção, proporcionou maiores aumentos na glicemia em relação a lentilha cozida inteira, mas, os níveis de insulina plasmática foram semelhantes. Esses autores sugerem que existam outros fatores nas leguminosas, além da velocidade de digestão do amido, que podem contribuir para a magnitude da resposta de insulina.

Alimentos produtores de baixos IG (Jenkins e cols., 1985), em especial as leguminosas (Jenkins e cols., 1983d) tem sido recomendados para tratamento de indivíduos com hipertrigliceridemia, apesar de não serem conhecidos os mecanismos envolvidos na redução dos níveis de triglicérides séricos e nem na reduzida produção de insulina e glicose plasmática.

No segundo experimento com humanos foi estudado o efeito da ingestão do feijão com e sem casca sobre as respostas plasmáticas de glicose, insulina e GLP-1 7-36. Nesse ensaio, o teor de proteína da polenta foi igualado aos níveis presentes no feijão.

Wolever e cols. (1990a) verificaram que a proteína adicionada aos carboidratos tem a capacidade de diminuir as respostas plasmáticas de glicose e aumentar a secreção de insulina em humanos. Os autores salientam que esse efeito depende da quantidade e tipo de proteína adicionada e das características dos indivíduos submetidos ao estudo.

Segundo Nuttall e cols. (1984) a adição de 30 ou 50 g de proteína a uma carga de 50 g de glicose em indivíduos diabéticos não insulino dependente proporcionou aumento da secreção de insulina e a resposta glicêmica foi reduzida com a adição de 50 g de proteínas.

Nas condições em que nossos estudos foram realizados, onde a dieta de feijão continha 23,82 g proteína/ 50g carboitrato disponível e a dieta de polenta 22,26 g proteína / 50 g carboitrato disponível (Tabela 2) foi observado que a proteína, nesses níveis, não afetou as características das respostas plasmáticas de glicose (Tabela 8) e de insulina (Tabela 9) entre a polenta e o feijão.

Através da Tabela 8 e Figura 2 pode-se observar, mais uma vez, o reduzido aumento da glicemia após 15, 30 e 45 min da ingestão do feijão em relação da polenta e na área produzida abaixo da curva glicêmica após 180 min.

Paralelamente, o feijão sem casca produziu respostas glicêmicas estatisticamente diferentes da polenta e iguais do feijão com casca, mostrando que a casca do feijão não tem qualquer efeito sobre a glicemia.

As respostas plasmáticas de insulina seguiram o mesmo perfil das respostas de glicose. Na Tabela 9 e Figura 2 verifica-se o reduzido aumento da insulina plasmática com a dieta de feijão com e sem casca em relação a de polenta.

Thompson (1988) observou que a remoção da casca do feijão tem a capacidade de aumentar a velocidade de digestão do amido "in vitro", enquanto que a readição da casca à farinha de feijão sem casca tem efeito inverso. Entretanto, nossos resultados de hidrólise "in vitro" foram próximos tanto para feijão com casca como sem casca (Tabela 6).

Tabela 8 - Glicose plasmática após a ingestão de polenta e feijão com e sem casca em indivíduos normais*

Grupo	Glicose plasmática (nmol/l)							Área (nmol x min/l)
	Tempo (min)							
	0	15	30	45	60	120	180	
Polenta	4,6 ± 0,6 ^a	6,6 ± 1,7 ^a	7,1 ± 1,5 ^a	6,2 ± 1,1 ^a	5,8 ± 0,7 ^a	5,2 ± 0,6 ^a	5,2 ± 0,3 ^a	1020,3 ± 101,9 ^a
Feijão com casca	4,4 ± 0,7 ^a	4,6 ± 0,5 ^b	4,8 ± 0,8 ^b	4,9 ± 0,5 ^b	4,9 ± 0,6 ^a	4,8 ± 0,5 ^a	4,7 ± 0,4 ^a	862,6 ± 74,4 ^b
Feijão sem casca	4,3 ± 0,6 ^a	4,6 ± 0,4 ^b	4,9 ± 0,4 ^b	5,0 ± 0,3 ^b	4,8 ± 0,3 ^a	5,0 ± 0,1 ^a	4,8 ± 0,2 ^a	886,7 ± 33,7 ^b

* Valores médios ± desvio padrão de 5 indivíduos por grupo

a,b,c,... Valores nas mesmas colunas verticais, com letras diferentes, diferem estatisticamente $p < 0,05$.

Figura 2 - Glicose e insulina plasmática, em 5 indivíduos normais, após a ingestão de polenta e feijão com e sem casca.

Tabela 9 - Insulina plasmática após a ingestão de polenta e feijão com e sem casca em indivíduos normais *

Grupo	Insulina plasmatica (pmol/l)							Área (pmol x min/l)
	Tempo (min)							
	0	15	30	45	60	120	180	
Polenta	59,1 ± 5,1 ^a	289,0 ± 30,2 ^a	323,0 ± 37,7 ^a	200,6 ± 48,1 ^a	139,4 ± 30,0 ^a	105,4 ± 26,9 ^a	60,4 ± 9,5 ^a	25503,4 ± 4430,2 ^a
Feijão com casca	66,2 ± 10,9 ^a	97,2 ± 22,4 ^b	119,0 ± 18,4 ^b	123,8 ± 14,6 ^b	110,2 ± 17,0 ^a	92,5 ± 21,4 ^a	72,8 ± 7,1 ^a	17533,8 ± 2531,6 ^b
Feijão sem casca	63,9 ± 17,3 ^a	93,8 ± 12,9 ^b	115,3 ± 17,3 ^b	123,8 ± 21,8 ^b	117,6 ± 19,4 ^a	108,8 ± 20,3 ^a	67,3 ± 11,9 ^a	18436,8 ± 1924,7 ^b

* Valores médios ± desvio padrão de 5 indivíduos por grupo

a,b,c,... Valores nas mesmas colunas verticais, com letras diferentes, diferem estatisticamente $p < 0,05$.

Portanto, como já foi dito, os fatores contidos na casca do feijão parecem não interferir no aproveitamento "in vivo" e "in vitro" do amido do feijão.

Sendo o GLP-1 7-36 (polipeptídeo semelhante ao glucagon-1 7-36) considerado o mais potente estimulador da secreção de insulina entre todos os GLIs (imunoreagentes semelhantes ao glucagon) (Morgan, 1988) foi observada sua liberação frente à ingestão do amido proveniente do feijão e da polenta.

Pelos níveis plasmáticos de GLP-1 7-36 (Tabela 10) verificou-se que tanto a polenta como o feijão com e sem casca estimulam a liberação desse hormônio gastrointestinal em relação ao jejum, mas não pode ser verificada qualquer diferença na liberação decorrente dos diferentes alimentos.

Talvez outros hormônios gastrointestinais possam explicar as respostas plasmáticas de insulina obtidas com a ingestão do feijão, como por exemplo, o GIP (polipeptídeo insulínico dependente de glicose) que é considerado um importante hormônio insulínico presente no trato gastrointestinal. Inúmeros trabalhos científicos demonstraram a ação insulínica do GIP, altamente purificado, tanto "in vivo" como "in vitro" (Brown, 1982).

Existem hipóteses sobre a possibilidade do GIP ser o agente causal da hiperinsulinemia observada na obesidade (Creutzfeldt, 1978) e em outras patologias (Brown, 1982). Essas ações metabólicas do GIP podem estar relacionadas com as respostas plasmáticas de insulina observadas em nossos estudos, necessitando investigações a respeito.

Outra função atribuída ao GIP é a sua possível capacidade de inibir a extração hepática de insulina (Brown, 1982). Sabe-se que a insulina é extraída do sangue, em mais de 50%, durante sua simples passagem pelo fígado

Tabela 10 - GLP-1 7-36 plasmático após a ingestão de polenta e feijão com e sem casca em indivíduos normais*

Grupo	GLP-1 7-36 plasmático (pmol/l)						
	Tempo (min)						
	0	15	30	45	60	120	180
Polenta	12 ± 2	18 ± 2	24 ± 5	24 ± 3	20 ± 5	18 ± 2	17 ± 4
Feijão com casca	13 ± 2	17 ± 4	25 ± 4	25 ± 5	25 ± 4	21 ± 3	16 ± 3
Feijão sem casca	13 ± 3	18 ± 3	21 ± 5	26 ± 4	27 ± 6	20 ± 3	18 ± 4

* Valores médios ± desvio padrão de 4 indivíduos por grupo.

(Rojdmark, 1978); assim, qualquer alteração na velocidade de extração hepática pode alterar significativamente os níveis de insulina plasmáticos. Dessa forma, elevados níveis séricos de insulina podem não refletir necessariamente um aumento da velocidade de secreção de insulina (Creutzfeldt e Ebert, 1985).

Atualmente, considera-se necessária para a adequada avaliação da secreção de insulina a quantificação simultânea de insulina e de peptídeo-C (Bonser e Garcia-Webb, 1984). O peptídeo-C, contrariamente à insulina, não é degradado no fígado e sim nos rins e, a liberação de insulina e peptídeo-C, das células B para o sangue portal, é realizada em quantidades equimolares (Polonsky e Rubinstein, 1984). Assim sendo, a razão molar desses componentes consideram as possíveis alterações na velocidade de extração hepática de insulina.

Dessa forma, parece interessante avaliar o efeito produzido pela ingestão do feijão sobre a liberação de certos hormônios gastrointestinais com ação insulínica e quais os possíveis mecanismos hormonais que estão sendo utilizados para produzir a reduzida liberação de insulina no plasma.

6.3 - Efeito de diferentes tratamentos do feijão sobre o aproveitamento do amido. Estudo de curta duração em ratos

Esse estudo foi realizado com a finalidade de elucidar parte dos fatores, presentes nos alimentos, que podem interferir no aproveitamento do amido.

O feijão foi escolhido como modelo de estudo pois: representa um alimento de grande consumo entre a população brasileira; apresenta reduzido aproveitamento de seu amido (efeito já evidenciado nos experimentos com animais e humanos); pode servir de parâmetro para explicar a utilização do

amido proveniente de outros alimentos.

Basicamente foram realizados diferentes tratamentos no feijão cozido visando verificar a importância da integridade da parede celular e da organização física entre os grânulos de amido e a proteína sobre a disponibilidade do amido.

Inicialmente foi realizado um experimento com animais que receberam, por sonda gástrica, o feijão submetido aos diversos tratamentos. A descrição e o procedimento do tratamento utilizado estão presentes na Tabela 1 (5.2.1.1). Os resultados obtidos "in vivo" referem-se à resposta plasmática de glicose e área produzida abaixo da curva glicêmica. Paralelamente, para cada uma das dietas foi realizada a hidrólise do amido "in vitro" e a micrografia. Essas informações serão discutidas em conjunto para cada tratamento a que o feijão foi submetido.

6.3.1 - Integridade da parede celular

Na Tabela 11 e Figura 3 pode-se evidenciar o reduzido aproveitamento do amido no grupo de animais que recebeu feijão em relação ao que recebeu polenta; ocorrendo diferenças nas respostas glicêmicas (30 e 60 min após administração da dieta) e na área produzida abaixo da curva glicêmica. Também, pode-se verificar reduzida percentagem de hidrólise "in vitro" do amido do feijão, após 30 min de incubação com amiloglicosidade ($12,9 \pm 0,4\%$) (Tabela 12).

Tabela 11 - Glicose plasmática em ratos após a administração de dietas com diferentes tratamentos do feijão*

Grupo	Glicose plasmática (nmol/l)						Área (nmol x min/l)
	Peso (g)	Tempo (min)					
		0	30	60	120	180	
Polenta	80,0 ± 1,0	3,6 ± 0,4	6,3 ± 0,4 ^{ad}	7,8 ± 0,6 ^a	5,3 ± 0,4 ^a	4,6 ± 0,4 ^a	1051,7 ± 36,0 ^a
Amido**	83,0 ± 1,4	3,6 ± 0,4	6,7 ± 0,5 ^a	6,6 ± 0,5 ^{bd}	5,1 ± 0,4 ^a	4,6 ± 0,3 ^a	998,1 ± 46,6 ^a
Amido com** parede celular	81,4 ± 2,7	3,6 ± 0,4	5,9 ± 0,8 ^{bdf}	6,9 ± 0,8 ^{ad}	5,3 ± 0,5 ^a	4,9 ± 0,5 ^a	1002,0 ± 72,7 ^a
Pepsina	81,0 ± 2,1	3,6 ± 0,4	6,5 ± 0,4 ^{ad}	6,5 ± 0,3 ^{bdf}	4,9 ± 0,5 ^a	4,7 ± 0,2 ^a	981,3 ± 41,5 ^a
Feijão	80,1 ± 1,4	3,6 ± 0,4	5,2 ± 0,3 ^{cef}	5,7 ± 0,4 ^{cef}	4,9 ± 0,4 ^a	4,5 ± 0,4 ^a	900,9 ± 40,7 ^b

* Valores médios ± desvio padrão de 6 a 7 animais por grupo

** Amido isolado de feijão cozido

a,b,c... Valores nas mesmas colunas verticais, com letras diferentes, diferem estatisticamente p < 0,05.

Figura 3 - Glicose plasmática em ratos após a administração de dietas com diferentes tratamentos do feijão.

Tabela 12 - Hidrólise do amido "in vitro", das dietas com diferentes tratamentos do feijão, após 30 minutos de incubação com amiloglucosidade*

Dieta	Amido hidrolisado (%)
Polenta	68,0 ± 2,0
Feijão	12,9 ± 0,4
Amido**	70,2 ± 2,4
Amido com parede celular**	59,6 ± 1,9
Pepsina	31,7 ± 0,8

* Os valores analíticos representam a média de 3 determinações.

** Amido isolado de feijão cozido

Verifica-se pela estrutura microscópica do feijão (Figura 4A e 4B) que a estrutura tecidual do grão foi totalmente desintegrada e que grande parte das células apresentam a parede celular íntegra. O processo mecânico utilizado no tratamento das amostras resultou no rompimento da parede celular de algumas células, ocorrendo a liberação de parte dos grânulos de amido.

Cabe salientar que o procedimento utilizado na preparação das amostras (5.2.1.1), para que essas amostras pudessem ser administradas aos animais, não afetou as respostas glicêmicas. O reduzido aumento da glicemia, após a administração do feijão aos animais, foi semelhante ao observado no experimento com humanos, onde o feijão foi somente cozido (Tabela 11) (Tabela 5).

Schweizer e cols. (1988) utilizando diversos alimentos (feijão, arroz parbolizado e macarrão) e Tovar e cols. (1990a) com feijão cozido manifestaram a necessidade de um rigoroso processo de homogeneização, com ruptura da

Figura 4 - Micrografia de feijão cozido triturado e seco. 4A (125 X); 4B (250 X).

Ausência de estrutura tecidual e presença da maior parte das células com parede celular íntegra (PC).

parede celular, para aumentar a velocidade de hidrólise "in vitro" dos alimentos e possivelmente afetar seu aproveitamento "in vivo".

Tal procedimento foi utilizado no isolamento dos grânulos de amido de feijão cozido; para garantir o completo rompimento da parede celular (Figura 5A e 5B), as amostras foram homogeneizadas no triturador Potter - Elvehjem por 40 min.

No grupo de animais aos quais foi administrado o amido isolado do feijão cozido foi possível observar o efetivo aproveitamento desse amido. Esses animais apresentaram maiores níveis de glicose plasmática (30 e 60 min) e maior área abaixo da curva glicêmica que os animais que consumiram o feijão cozido (Tabela 11) (Figura 3). Paralelamente, o amido isolado de feijão cozido apresentou alta percentagem de hidrólise "in vitro" ($70,2 \pm 9,4\%$) (Tabela 12).

Com a finalidade de explicar essas diferenças obtidas "in vivo" foram feitas comparações entre as características das amostras de amido isolado de feijão cozido, que foram administradas aos animais e das amostras de feijão submetidas a outros tratamentos (analisadas somente "in vitro").

Figura 5 - Micrografia do amido isolado de feijão cozido. 5A (125 X); 5B (250 X).
Micrografia de amido isolado de feijão cozido submetido a 2ª
cocção. 5C (125X); 5D (250X).

As diferenças estruturais, observadas por microscopia óptica, dos grânulos cozidos antes e depois de seu isolamento mostram que a parede celular pode interferir no processo de gelatinização.

O amido isolado de feijão cozido (48 min) apresentou-se parcialmente gelatinizado (Figura 5A e 5B). Já, o amido isolado de feijão cru, logo após sua cocção (48 min), apresentou-se completamente gelatinizado (Figura 6A); a forma cristalina dos grânulos foi perdida, eles entumeceram, sofreram ruptura e solubilizaram-se formando um gel. A única estrutura identificável no gel é a membrana que envolve o grânulo, chamada de "membrelle" por Rockland e cols. (1977).

Hahn e cols. (1977) e Rockland e cols. (1977) estudando a gelatinização, em meio aguoso, do amido de cotilédones de feijão-de-lima ("Phaseolus lunatus") verificaram que a gelatinização total do amido intracelular é atingida somente aos 100°C, com a máxima expansão dos grânulos e para o amido extracelular ocorre já aos 79°C. Hoover e Sosulski (1991) relataram que a temperatura de gelatinização do amido extracelular de diversas leguminosas, obtidas por calorimetria diferencial exploratória e outras metodologias, variam entre 67°C e 87°C.

Dessa forma, a temperatura necessária para a gelatinização dos grânulos de amido envolvidos pela parede celular é maior do que para os grânulos isolados, fato que pode dificultar sua completa gelatinização.

Hoover e Sosulski (1991) verificaram que as leguminosas autoclavadas apresentam digestibilidade "in vitro" muito maiores que as cozidas e atribuíram esse efeito à extensão do entumescimento, gelatinização e destruição da estrutura cristalina do grânulo.

Figura 6 - Micrografia de amido isolado de feijão cru logo após a coção. 6A (125X). Amido completamente gelatinizado.

Segundo Thorne e cols. (1983) e Wursch e cols. (1986) a parede celular pode interferir no processo de gelatinização limitando o entumescimento dos grânulos de amido e o transporte de água necessária para a completa gelatinização. A limitação física, proporcionada pela presença da parede celular, no entumescimento dos grânulos pode ser observada através do tamanho dos grânulos de amido do feijão submetidos a uma segunda cocção (Figura 5C e 5D).

O amido isolado de feijão cozido apresentou diâmetro médio de $27,68\mu$ de largura e $44,92\mu$ de comprimento. Após a segunda cocção o diâmetro médio passou para $41,60\mu$ e $67,20\mu$, respectivamente (Tabela 13). Esse aumento no tamanho dos grânulos mostra que a parede celular dificultou o entumescimento dos grânulos. Entretanto, é de importância observar, até que ponto, o aumento dos grânulos obtido com a segunda cocção pode afetar a utilização do amido "in vivo" do amido; conforme sugerido por Thorne e cols. (1983).

Tabela 13 - Tamanho dos grânulos de amido isolado de feijão cozido submetido a segunda cocção*

Tratamento	Variação do diâmetro	
	Largura (μ)	Comprimento (μ)
Amido isolado de feijão cozido (48 min)	16 - 44 ($27,68 \pm 0,78$)	20 - 60 ($44,92 \pm 11,60$)
Amido isolado de feijão cozido + 2ª cocção (48 min)	24 - 64 ($41,60 \pm 11,10$)	32 - 104 ($67,20 \pm 16,80$)

* Os valores correspondem a medida de 100 a 120 grânulos.

Dessa forma, a presença da parede celular íntegra no feijão cozido inteiro, associada à possibilidade de sua interferência no entumescimento e na gelatinização do grânulo de amido, pode explicar, em parte, as reduzidas respostas glicêmicas observadas com a ingestão desse alimento.

Com o objetivo de se verificar, até que ponto, os componentes os componentes da parede celular e casca do feijão pudessem interferir no aproveitamento "in vivo" do amido foi introduzido um grupo experimental que recebeu o amido isolado do feijão cozido, acrescido de parede celular e casca.

A dieta de amido isolado de feijão cozido acrescido de parede celular e casca apresentou menor percentagem de hidrólise "in vitro" ($59,6 \pm 1,9\%$) do que a dieta composta só de amido isolado de feijão cozido ($70,2 \pm 2,4\%$) (Tabela 12). Paralelamente, foi observado significativo retardo no aumento da glicemia pós prandial, após 30 min da administração da dieta, $5,9 \pm 0,8$ nmol/l e $6,7 \pm 0,5$ nmol/l, respectivamente (Tabela 11).

A princípio, os efeitos observados podem ser explicados pela presença dos fatores anti-nutricionais nas leguminosas. O feijão contém naturalmente uma série desses fatores, tais como: inibidores de alfa-amilase e proteases, fitatos, taninos e saponinas que podem interferir no aproveitamento dos nutrientes (Whitaker, 1989; Thompson, 1989; Björck e Nyman, 1987b).

Apesar da cocção destruir ou reduzir os níveis dos fatores descritos, Thompson (1988) sugeriu que quantidades residuais dos fatores anti-nutricionais podem diminuir a velocidade de digestão e absorção dos carboidratos e, explicar, em parte, o reduzido aumento da glicemia após a ingestão de determinadas fontes de carboidratos complexos. A autora observou correlação negativa entre a concentração de anti-nutrientes provenientes de leguminosas e a velocidade de hidrólise "in vitro" do amido e, entre a resposta glicêmica produzida em humanos.

Entretanto, foi possível verificar que os fatores que poderiam proporcionar tais efeitos, não foram suficientes para produzir retardo na glicemia após 60 minutos de sua ingestão. Também, as áreas abaixo das curvas glicêmicas, após 180 minutos da administração da dieta, não apresentaram diferença significativa para os dois grupos estudados (amido isolado de feijão cozido de $998,1 \pm 46,6$ nmol x min/l e acrescido de parede celular e casca de $1002,0 \pm 72,7$ nmol x min/l) (Tabela 11).

Também, foi observado que a fibra alimentar, constituída pela parede celular e casca de feijão, quando acrescidas ao amido isolado de feijão não tem condições de impedir o aumento da glicemia. Isto é, o isolamento dessa fração proporcionou modificações estruturais em que o amido tornou-se mais disponível. Tais resultados mostram, mais uma vez, a importância da integridade da parede celular para a manutenção do reduzido aproveitamento do amido do feijão.

Ainda procurando demonstrar a participação da parede celular no processo de aproveitamento do amido do feijão, foi estudado o efeito do tratamento do feijão cozido com celulase e pectinase.

Sob o aspecto microscópico, observou-se que o tratamento do feijão com essas enzimas alterou a forma característica das células do feijão e que a parede celular foi totalmente hidrolisada (Figura 7A e 7B). Tais alterações estruturais podem explicar a maior percentagem de hidrólise do amido "in vitro" observada no feijão tratado com celulase e pectinase ($22,9 \pm 0,7\%$) em relação ao amido de feijão cozido ($12,9 \pm 0,4\%$) (Tabela 12) e sugerem maior aproveitamento "in vivo" do amido do feijão.

Figura 7 - Micrografia de feijão cozido tratado com celulase/ pectinase. 7A (125 X); 7B (250 X). Ausência de estrutura tecidual e de parede celular.

Apesar dos resultados positivos sobre a hidrólise do amido "in vitro", das características microscópicas das células e da garantia de que as enzimas utilizadas fossem isentas de contaminação com outras enzimas, verificou-se um alto teor de redutores após o tratamento das amostras (cerca de 9,9% do peso seco). Esse aumento de redutores foi decorrente da hidrólise da celulase e de outros polímeros contidos na parede celular dos grãos de feijão.

Dessa forma, a dieta tratada com celulase e pectinase não pode ser administrada aos animais. Oportunamente, os estudos "in vivo" com essa dieta deverão ser concluídos, após a devida eliminação dos redutores presentes.

6.3.2 - Organização física entre os grânulos de amido e a proteína

Pela Tabela 12 pode-se observar que o tratamento do feijão cozido com pepsina proporcionou aumento na percentagem de hidrólise "in vitro", passando de $12,9 \pm 0,41\%$ para $31,7 \pm 0,8\%$ após 30 min de incubação com pepsina. Dessa forma, alterações da proteína presente no conteúdo celular e ou na parede celular podem facilitar a ação da amiloglucosidase junto aos grânulos de amido.

Esses resultados "in vitro" estão de acordo com os encontrados por Wong e cols. (1985) e Tovar e cols. (1990) os quais observaram em leguminosas que alterações proteolíticas na parede celular, decorrentes do tratamento com pepsina, produziram alterações nas associações físicas entre o amido e a proteína e conseqüentemente melhoraram a disponibilidade do amido.

Através de microscopia óptica Seravalli (1990) verificou que o tratamento do feijão cozido com pepsina (60 min), seguido de incubação com amiloglucosidase (30 e 60 min) proporcionou diminuição de intensidade de coloração dos grânulos de amido em relação aos grânulos do feijão não tratado

com pepsina; salientando que o tratamento prévio com pepsina tem a capacidade de diminuir o número de grânulos no interior das células de feijão.

Os efeitos "in vivo" do tratamento do feijão cozido com pepsina podem ser observados na Tabela 11. A quantidade de glicose plasmática liberada após 30 e 60 min da administração da dieta ($6,5 \pm 0,4$ e $6,5 \pm 0,3$ nmol/l) e a área abaixo da curva glicêmica ($981,3 \pm 41,5$ nmol x min/l) foram estatisticamente diferentes do grupo que recebeu feijão não tratado ($5,2 \pm 0,3$; $5,7 \pm 0,4$ e $900,9 \pm 40,7$, respectivamente). Esses resultados confirmam "in vivo" o aumento da digestibilidade observado "in vitro" com o tratamento do feijão cozido com pepsina.

A maior parte dos estudos "in vivo" sobre o efeito da pepsina no aproveitamento do amido foram realizados em outros alimentos e não com leguminosas. Jenkins e cols. (1987b) observaram que o pão livre de glúten foi digerido mais rapidamente "in vitro" e produziu aumento 20% maior nas respostas glicêmicas que o pão de trigo comum; tais efeitos não foram revertidos pela adição de glúten à farinha isenta de glúten. Com relação ao feijão, Hildebrandt e Marlett (1991) verificaram, em ratos colectomizados, que o tratamento prévio com pepsina não teve qualquer efeito sobre a utilização do amido.

Nas condições experimentais descritas pode-se observar, através da incubação prévia do feijão cozido com pepsina, a possível participação da organização física entre os grânulos de amido e a proteína no aproveitamento do amido. Deve-se considerar, também, que além do aspecto físico observado pode estar ocorrendo uma interação física, mais estreita entre a proteína e o amido, decorrente do processo de cocção.

Apesar dos resultados evidenciarem melhora no aproveitamento do amido, após o tratamento do feijão cozido com pepsina, sua ingestão não

Tabela 14 - Informações sobre o aproveitamento do amido em diversos alimentos

Alimento ^a	Modelo experimental	Hidrólise ^b "in vitro" (%)	Área abaixo da curva ^c plasmática de glicose (nmol x min/l)	Área abaixo da curva ^c plasmática de insulina (pmol x min/l)
Arroz	humanos	60,1 ± 4,4	1011,1 ± 127,8	32119,8 ± 8001,2
Arroz	animais	62,1 ± 2,9	1029,3 ± 80,9	-
Arroz + feijão	humanos	53,3 ± 1,8	972,5 ± 91,7	16585,2 ± 2961,4
Canjica	animais	48,5 ± 2,0	903,0 ± 112,5	-
Farinha de mandioca	animais	43,3 ± 1,9	884,8 ± 81,4	-
Feijão Carioca				
feijão	animais	19,0 ± 0,9	844,7 ± 59,2	-
feijão	animais	12,9 ± 0,4	900,9 ± 40,7	-
feijão	humanos	15,1 ± 0,6	915,4 ± 69,7	16561,4 ± 2567,0
feijão	humanos	13,3 ± 1,2	862,6 ± 74,4	17533,8 ± 2531,6
feijão sem casca	humanos	10,9 ± 1,2	886,7 ± 33,7	18436,8 ± 1924,7
feijão tratado c/ pepsina	animais	31,7 ± 0,8	981,3 ± 41,5	-
amido isolado de feijão cozido	animais	70,2 ± 2,4	998,1 ± 46,6	-
amido isolado de feijão cozido + parede celular	animais	59,6 ± 1,9	1002,0 ± 72,7	-
Feijão Fradinho	animais	17,1 ± 0,9	844,6 ± 57,8	-
Macarrão	animais	70,2 ± 0,3	931,1 ± 41,5	-
Mandioca	animais	43,9 ± 1,4	872,0 ± 31,8	-
Pão	animais	64,0 ± 2,4	992,5 ± 107,6	-
Polenta	animais	67,2 ± 2,0	1068,0 ± 70,5	-
Polenta	humanos	60,3 ± 2,4	1066,9 ± 107,3	35982,2 ± 7874,0
Polenta + proteína	humanos	66,2 ± 1,5	1020,3 ± 101,9	25503,4 ± 4430,2

^a alimentos cozidos^b 30 min de incubação com amiloglicosidase^c até 180 min da ingestão do alimento.

proporcionou níveis plasmáticos de glicose semelhantes aos obtidos com a polenta ou com qualquer outro tratamento a que o feijão foi submetido. Esse fato, mostra que além da proteína natural das leguminosas outros fatores estão interferindo no aproveitamento do amido.

Deve-se considerar que todos esses fatores não atuam de forma isolada e sim simultaneamente, dessa forma acredita-se que a potencialização desses efeitos resultem no menor aproveitamento de amido observado no feijão inteiro.

A Tabela 14 reúne informações observadas em ensaios de curta duração "in vivo" (com animais e humanos) e "in vitro" que podem auxiliar na seleção de alimentos, fontes de amido, para a elaboração de dietas.

6.4 - Aproveitamento do amido do feijão. Estudo de média duração em ratos sob restrição energética

Esse experimento de média duração foi realizado com a finalidade de verificar a persistência ou não do reduzido aproveitamento do amido do feijão nos animais adaptados a essa fonte de amido.

O estudo foi constituído de duas fases (adaptação e experimental). Na fase experimental os animais do grupo polenta e feijão receberam a ração sob restrição energética e do grupo controle "ad libitum". Durante essa fase foi avaliada a curva de crescimento dos animais, excreção fecal diária e a percentagem de tecido adiposo acumulado.

No 14º dia da fase experimental os animais receberam, por sonda gástrica, uma porção de ração e após 30, 60 e 180 min de sua administração foi coletado material biológico para avaliação dos seguintes parâmetros biológicos: glicemia, atividade específica da maltase e invertase na mucosa do intestino

delgado, atividade específica da alfa-amilase no conteúdo do intestino delgado e teor de amido residual no conteúdo do estômago e intestino delgado.

Tanto na fase de adaptação (para todos os animais) como na experimental (para os grupos polenta e feijão) as rações forneciam diariamente quantidades de energia próximas das necessidades energéticas de manutenção (Tabela 15).

A energia de manutenção foi calculada pela fórmula: $E = 110 \text{ kcal/kg}^{0,75}$, correspondendo a quantidade de energia digerível fornecida para garantir o metabolismo basal, atividade física e termogênese; não considerando as necessidades energéticas para o crescimento, reprodução e lactação (National Research Council, 1978).

A ingestão de quantidades de energia próximas da energia de manutenção foi utilizada com a finalidade de se visualizar melhor as diferenças existentes entre o aproveitamento do amido do feijão em relação ao da polenta.

Nos sete dias do período de adaptação os animais cresceram em média $3,5 \pm 1,8\text{g}$ (peso inicial de $75,7 \pm 8,2$ e final $80,6 \pm 6,9$) e as necessidades energéticas de manutenção foram em média de $75,3 \pm 2,2\%$ da energia fornecida (20,83 kcal/dia; 87,13 kJ/dia) (Figura 8) (Tabela 16).

Na fase experimental, a partir do dia 10 (Figura 8), os animais do grupo controle ("ad libitum") já apresentavam peso estatisticamente diferente dos animais dos demais grupos. Através do consumo médio de ração ($12,5 \pm 2,2\text{g}$) dos animais do grupo controle, com ingestão diária de 39,54 kcal (165,39 kJ), verificou-se que os animais do grupo polenta e feijão foram submetidos a uma restrição energética de 49%; sendo que esses dois grupos ingeriram 20,14 kcal/dia (84,25 kJ/dia) e 20,05 kcal/dia (83,87 kJ/dia), respectivamente (Tabela 15).

Tabela 15 - Teor de nutrientes ingeridos diariamente e sua distribuição energética

Ração	Ração*	Proteína		Lípides		Carboidrato disponível		Fibra alimentar			Energia Total		
	g	g	kcal	g	kcal	g	kcal	g	g	g	kcal	kJ	% **
Adaptação	6,0	1,80	7,20	0,32	2,68	2,69	10,77	0,27	0	0,24	20,83	87,13	53
Controle	12,5	1,46	5,85	0,51	4,62	7,27	29,07	0,53	0	0,55	39,54	165,39	100
Polenta	6,0	1,82	7,30	0,36	3,24	2,40	9,60	0,29	0,01	0,27	20,14	84,25	51
Feijão	7,0	2,01	8,04	0,37	3,33	2,17	8,68	1,60	0,16	1,37	20,05	83,87	51

* A quantidade de ração ingerida corresponde exatamente a fornecida, exceto para o grupo controle "ad libitum" (12,5±2,2g)

** % de energia ingerida em relação ao controle.

Figura 8 - Curva de crescimento de animais alimentados com ração de polenta ou feijão (sob restrição energética) ou controle ("ad libitum"). Diferenças estatísticas entre os três grupos (* $p < 0,05$). Valores médios $\pm$ desvio padrão de 24 animais para os grupos polenta e feijão e de 6 para o controle.

A partir do dia 13 (Figura 8), os animais dos três grupos apresentaram peso estatisticamente diferente, diferença que persistiu até o final do experimento. No início da fase experimental o peso médio dos animais foi de 80,6g e as necessidades energéticas de manutenção de 83% do valor energético fornecido pelas rações de polenta e feijão. (Tabela 16). No final da fase experimental os pesos foram de $106,71 \pm 3,8$ e $95,5 \pm 4,8$ e as necessidades energéticas de manutenção de 102 e 95% do valor energético fornecido, respectivamente.

Paralelamente, no final da fase experimental (dia 20) observou-se diferenças significativas na deposição de tecido adiposo para os três grupos. O grupo de animais que recebeu a ração de feijão apresentou $10,1 \pm 1,7\%$ de lípidos na carcaça seca, o de polenta $18,8 \pm 2,2\%$ e o controle $25,8 \pm 3,6\%$ (Figura 9).

Os resultados obtidos nesse ensaio de médiaduração mostram que os animais do grupo feijão, sob restrição energética de 49% em relação ao controle, ganharam menos peso que os animais do grupo polenta. Uma vez que os dois grupos receberam rações isoenergéticas, seguramente o reduzido aproveitamento do amido, a nível gastrointestinal, está relacionado com o menor ganho de peso observado.

A hipótese da menor utilização do amido do feijão, na fase de digestão e absorção, pode ser reforçada pensando em outras possíveis explicações, a nível metabólico, para as diferenças de peso obtidas entre os grupos feijão e polenta.

Sabe-se que a liberação de insulina plasmática está associada ao aumento de atividade do sistema nervoso autônomo e este mecanismo é estimulado pelo aumento da glicose plasmática, tanto no homem como em animais (Landsberg e Young, 1983). Segundo MacDonald (1989) o aumento da estimulação do sistema nervoso autônomo está relacionado com o aumento na

Tabela 16 - Necessidades energéticas de manutenção dos animais

Grupo	Necessidade energética de manutenção (N.E.M.) (% N.E.M. em relação energia fornecida)												
	Dia do experimento												
	1	2	3	7	8	10	12	13	14	16	17	19	20
Adaptação	15,88 (76%)	15,11 (73%)	15,35 (74%)	16,33 (78%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle	-	-	-	-	16,33 (42%)	18,91 (48%)	19,71 (50%)	20,32 (52%)	20,82 (53%)	21,71 (55%)	22,10 (56%)	22,62 (57%)	22,99 (58%)
Polenta	-	-	-	-	16,64 (83%)	17,58 (87%)	18,29 (91%)	18,81 (93%)	19,05 (95%)	19,62 (97%)	19,84 (97%)	19,94 (99%)	20,54 (102%)
Feijão	-	-	-	-	16,64 (83%)	17,67 (88%)	18,06 (90%)	18,07 (90%)	18,20 (91%)	18,38 (92%)	18,64 (93%)	18,79 (94%)	18,97 (95%)

Figura 9 - Peso seco e percentagem de lípidos na carcaça dos animais adaptados à ração de polenta ou feijão (sob restrição energética) ou controle ("ad libitum"). Valores médios $\pm$ desvio padrão de 6 animais por grupo. ($a \neq b \neq c$, $d \neq f \neq g$ $p < 0,05$)

velocidade de termogênese e, conseqüentemente com a menor eficiência na utilização energética do carboidrato. Dessa forma, se considerarmos que os reduzidos níveis de glicose plasmática (Tabela 17), obtidos com a ingestão da ração de feijão, produzam baixos níveis de insulina plasmática*, conforme evidenciado no experimento com humanos (Figura 1); o amido do feijão pode ser considerado, do ponto de vista metabólico, um nutriente eficientemente utilizado.

Essa idéia deve ser melhor investigada, avaliando-se o teor de insulina plasmática e outros hormônios envolvidos com a termogênese, conforme sugerido por Shetty (1990). Entretanto, pode-se evidenciar que apesar do possível eficiente aproveitamento energético do amido do feijão, a nível metabólico; os efeitos na sua utilização, a nível da digestão e absorção, parecem ser mais significativos para as alterações encontradas no peso dos animais.

Verificou-se que no período de 13 dias em que os animais receberam ração de polenta e feijão sob restrição energética, durante o qual poderia ter ocorrido uma possível adaptação do organismo em relação ao aproveitamento de carboidratos, não houve alterações nas respostas plasmáticas produzidas após a ingestão das rações por sonda gástrica.

Os reduzidos níveis plasmáticos de glicose observados nos experimentos agudos anteriores (Tabela 3) (Tabela 11) persistiram nos animais submetidos ao experimento de média duração (Figura 10). A Tabela 17 mostra a diferença estatística entre a glicose plasmática produzida após 30, 60, 120 e 180 min da administração da ração de feijão e de polenta.

Com relação a atividade de dissacaridases na mucosa intestinal observou-se que a restrição energética, a que os animais foram submetidos, não afetou os níveis basais de maltase e invertase. Os valores de atividade específica

* O teor de insulina plasmática neste experimento não pode ser quantificado por problemas no armazenamento das amostras.

Tabela 17 - Glicose plasmática nos animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética*

Grupo	Glicose plasmática (nmol/l)					Área (nmol x min/l)
	Tempo (min)					
	0	30	60	120	180	
Polenta	3,2 ± 0,4 ^a	4,1 ± 0,2 ^a	4,3 ± 0,5 ^a	4,2 ± 0,3 ^a	3,6 ± 0,4 ^a	714,9 ± 20,2 ^a
Feijão	3,2 ± 0,2 ^a	3,4 ± 0,4 ^b	3,6 ± 0,5 ^b	3,4 ± 0,2 ^b	3,2 ± 0,3 ^a	610,6 ± 19,0 ^b

* Valores médios ± desvio padrão de 6 animais por grupo

a,b... Valores nas mesmas colunas verticais, com letras diferentes, diferem estatisticamente $p < 0,05$.

Figura 10 - Glicose plasmática em animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética.

dessas enzimas, após 18 h de jejum, foram semelhantes para os grupos controle, polenta e feijão (Figura 11). A atividade de maltase e invertase pode ser expressa através da atividade específica (U maltase/mg proteína e U invertase/mg proteína), pois não houve diferença significativa nos níveis de proteína da mucosa intestinal entre os três grupos estudados.

Após a administração da ração de polenta e feijão, por sonda gástrica, observou-se aumento na atividade específica da maltase para o grupo feijão e da invertase para os dois grupos (Figura 11). Essas respostas estão de acordo com os dados encontrados na literatura; sendo descrito que o nível e tipo de carboidrato presente na dieta interferem na atividade das carboidrases intestinais (Reiser e Lewis, 1986) (Levin, 1989).

Paralelamente, observou-se que o aumento da atividade específica das dissacaridases estudadas foi significativamente maior para os animais que receberam o amido do feijão. Entretanto, este efeito, que poderia aumentar a capacidade de hidrólise e absorção do amido proveniente do feijão, não afetou as reduzidas respostas glicêmicas produzidas por esta fonte de amido.

Foi analisada, também, a atividade específica da α -amilase pancreática presente no conteúdo do intestino delgado. Observou-se que a restrição energética não afetou os níveis basais dessa enzima para os três grupos estudados (controle, polenta e feijão) e que a liberação dessa enzima, em resposta às rações administradas por sonda, foi semelhante tanto para a ração de polenta como de feijão (Tabela 18). Esses resultados mostram que os níveis da α -amilase secretadas não estão envolvidos com o aproveitamento do amido presente nessas fontes de carboidratos.

Figura 11 - Atividade específica da maltase e invertase no intestino delgado nos animais adaptados à ração de polenta e feijão (sob restrição energética) e controle ("ad libitum"). Valores médios $\pm$ desvio padrão de 24 animais por grupo para polenta e feijão e 6 animais para o controle. (Para o mesmo tempo $a \neq b$ $p < 0,05$). (1 U corresponde a 1 μ mol de dissacarídeo hidrolisado/min).

Tabela 18 - Atividade específica da α -amilase no conteúdo intestinal nos animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética e controle ("ad libitum")*

Grupo	U / mg proteína			
	tempo (min)			
	0	30	60	180
Controle	4,20 $\pm$ 0,67	-	-	-
Polenta	4,74 $\pm$ 0,61	6,25 $\pm$ 0,64	8,05 $\pm$ 0,46	5,95 $\pm$ 0,66
Feijão	4,80 $\pm$ 0,48	6,61 $\pm$ 0,81	7,98 $\pm$ 1,06	5,70 $\pm$ 0,63

* Valores médios $\pm$ desvio padrão de 24 animais por grupo para polenta e feijão e 6 animais para controle. (1 U corresponde a liberação de 1 μ mol de maltose/min).

Nesses mesmos animais observou-se maior teor de amido residual no intestino delgado do grupo que recebeu ração de feijão, após 30, 60 e 180 min (Tabela 19), evidenciando a lenta digestão e absorção do amido do feijão em relação ao da polenta. Tais efeitos podem explicar, em parte, o reduzido aumento da glicemia observada nestes animais (Figura 10).

A incompleta digestão e absorção do amido tem sido considerada como uma explicação parcial para as diferentes respostas glicêmicas produzidas por diversas fontes de amido (Jenkins e cols., 1987a). Os elevados níveis de carboidratos não absorvidos das leguminosas (13 a 22%) relatados por Wolever e cols. (1986b), Jenkins e cols. (1987a) e Levitt e cols. (1987) favorecem essa explicação, uma vez que esses alimentos produzem reduzidos aumentos nos níveis de glicose pós-prandial (Jenkins e cols., 1980 e 1981). Entretanto, Schweizer e cols. (1990) verificaram que os estudos de Wolever e cols. (1986b), Jenkins e cols. (1987a) e Levitt e cols. (1987) não distinguem analiticamente o amido de outros carboidratos que escapam da digestão e absorção no intestino

Tabela 19 - Teor de amido residual nos animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética *

Grupo	Peso (g)	Carboidrato disponível administrado (mg)	Tempo (min)	Amido residual (mg)		
				Estômago	Intestino delgado	Total
F 0	95,8 ± 6,4	-	0	1,09 ± 0,10 ^a	2,23 ± 0,20 ^a	3,32 ± 0,10 ^a
P 0	111,2 ± 5,2	-	0	1,06 ± 0,17 ^a	1,74 ± 0,13 ^a	2,81 ± 0,23 ^a
F 30	100,2 ± 3,5	200	30	90,80 ± 12,02 ^a	13,64 ± 1,75 ^a	104,52 ± 11,83 ^a
P 30	112,0 ± 2,8	200	30	92,70 ± 12,28 ^a	4,69 ± 0,23 ^b	97,30 ± 12,60 ^a
F 60	100,0 ± 3,0	200	60	64,08 ± 7,46 ^a	41,85 ± 7,60 ^a	105,93 ± 3,66 ^a
P 60	111,2 ± 13,8	200	60	81,22 ± 12,12 ^b	18,36 ± 0,99 ^b	99,58 ± 12,89 ^a
F 180	100,2 ± 5,8	200	180	2,95 ± 0,42 ^a	18,49 ± 2,53 ^a	21,45 ± 1,91 ^a
P 180	112,0 ± 3,5	200	180	2,87 ± 0,33 ^a	9,78 ± 0,52 ^b	12,65 ± 0,84 ^b

* Valores médios ± desvio padrão de 6 animais por grupo.

a,b... Valores nas mesmas colunas verticais, com letras diferentes para o mesmo tempo, diferem estatisticamente $p < 0,05$

F (grupo feijão) P (grupo polenta)

delgado. Dessa forma, consideram todo o carboidrato não absorvido como amido, ocorrendo uma superestimação no teor de amido não absorvido.

Schweizer e cols., (1990) verificaram em efluentes de ileostomizados que o real teor de amido não absorvido é da ordem de 9,0 a 10,9% para o feijão e de 1,7% para batata. No nosso caso, onde a quantidade de amido administrado corresponde ao amido disponível, encontrou-se 11% de amido residual em relação ao administrado para a ração de feijão e 6% para a de polenta (Figura 12).

Cabe lembrar que esse valor de amido residual representa o teor médio após 180 min da ingestão e que inclui o eventual amido resistente formado e oligossacarídeos presentes nas amostras.

Bornet e cols. (1989) citaram que a retrogradação da amilose, após cocção do feijão, pode constituir uma importante fonte de amido resistente, o qual pode ser lentamente digerido e produzir reduzidos aumentos nos níveis plasmáticos de glicose e insulina. Em nossos estudos o efeito da presença de amido resistente sobre as respostas plasmáticas foi excluído, pois o teor de carboidrato administrado aos animais foi sempre calculado a partir do teor de amido disponível.

Outro fator que deve ser considerado para elucidar o reduzido aproveitamento do amido do feijão é o conteúdo de fibra alimentar presente na semente.

A elevada excreção fecal (Tabela 20), observada nos animais que consumiram ração de feijão, pode ser explicada pelo conteúdo de fibra alimentar total presente nessa ração. Esses animais consumiram cerca de 5,5 vezes mais fibra alimentar que os animais do grupo polenta (Tabela 15).

Figura 12 - Percentagem de amido residual em relação ao ingerido em animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética.

Tabela 20 - Excreção fecal média dos animais durante a fase experimental com ração de polenta e feijão sob restrição energética e controle ("ad libitum")*

Grupo	Ganho de peso (g)	Ração ingerida (g/dia)	Matéria seca fecal	
			g/dia	mg/g ração
Controle	46,9 ± 10,2	12,5	0,75 ± 0,11 ^a	60,23 ± 9,43 ^a
Polenta	26,3 ± 3,1	6,0	0,26 ± 0,03 ^b	42,83 ± 5,65 ^b
Feijão	15,7 ± 3,1	7,0	1,23 ± 0,15 ^c	175,97 ± 21,99 ^c

* Valores médios ± desvio padrão de 24 animais por grupo para polenta e feijão e 6 animais para o controle a, b, c... Valores nas mesmas colunas verticais, com letras diferentes, diferem estatisticamente $p < 0,05$.

Wolever (1990b) observou que o conteúdo de fibra alimentar total está significativamente relacionado com o Índice Glicêmico produzido por diversos alimentos, mas não verificou qualquer correlação com o teor de fibra solúvel; sugerindo que a avaliação do conteúdo de fibra alimentar total poderia representar um parâmetro de interesse para determinar potenciais efeitos metabólicos da dieta de carboidratos. Nishimune e cols. (1991) sugeriram, também que o conteúdo de fibra total poderia proporcionar adequada previsão do Índice Glicêmico produzido por um alimento.

Se analisarmos em conjunto as respostas glicêmicas produzidas pelos animais que consumiram a ração de feijão (Tabela 17), considerando o elevado teor de fibra alimentar total presente na ração (Tabela 15) e os resultados já discutidos, com animais que receberam amido isolado acrescido de parede celular e casca (Tabela 11) observa-se, mais uma vez, a importância da fibra alimentar no processo de utilização do amido do feijão, desde que a integridade da parede celular tenha sido mantida.

A Tabela 21 resume os parâmetros avaliados nesse ensaio de média duração (13 dias), mostrando o reduzido aproveitamento do amido do feijão em relação ao da polenta apesar da adaptação dos animais e essas fontes de carboidratos.

Tabela 21 - Parâmetros avaliados no aproveitamento do amido em animais adaptados à ração de polenta ou feijão sob restrição energética

	Polenta	Feijão
Ganho de ^a peso (g)	>	<
Deposição de ^a lípidos na carcaça (%)	>	<
Excreção fecal ^a (g/dia)	<	>
Aumento da ^b glicose plasmática (nmol x min/l)	>	<
Aumento da ^b liberação de maltase (U/mg proteína)	0	>
Aumento da liberação ^b de invertase (U/mg proteína)	<	>
Aumento da ^b liberação de α -amilase (U/mg proteína)	=	=
Amido residual ^b no estômago e intestino delgado (% ; 180 min)	<	>

^a referem-se aos valores obtidos com os animais em jejum, após 13 dias com as rações de polenta ou feijão

^b referem-se aos animais após receberem a ração de polenta ou feijão por sonda gástrica

Os sinais >, < ou = referem-se às comparações entre os resultados obtidos com os grupos de animais que receberam polenta e feijão.

7 - CONCLUSÕES

7.1 - Em ensaio curta duração com animais evidenciou-se que:

- as variadas fontes de amido produziram diferentes respostas glicêmicas, decrescendo na seguinte ordem: polenta = arroz = pão = macarrão > canjica = farinha de mandioca > mandioca = feijão Carioca = feijão Fradinho.

7.2 - Em ensaio de curta duração com humanos evidenciou-se que :

- o feijão proporcionou menores níveis plasmáticos de glicose que a polenta, arroz e arroz com feijão;
- a dieta que continha feijão (no caso do arroz com feijão ou do feijão isolado) proporcionou menor liberação de insulina plasmática;
- a polenta e o feijão estimularam de forma semelhante a liberação do GLP-1 7-36;
- a casca do feijão não interferiu nas respostas plasmáticas de glicose e insulina.

7.3 - Verificou-se a existência de correlação positiva entre a hidrólise "in vitro" dos alimentos e as respostas glicêmicas obtidas em animais ($r = 0,818624$ $p < 0,01$) e em humanos ($r = 0,933617$ $p < 0,01$), possibilitando o uso do teste em "screening".

7.4 - Em ensaio de média duração com animais, sob restrição energética de 49% em relação ao grupo controle, evidenciou-se que:

- O aproveitamento do amido proveniente do feijão foi menor que o da polenta, apesar do aumento na atividade específica das dissacaridases no intestino delgado. Os animais que consumiram ração de feijão apresentaram menor ganho de peso, menor depósito de tecido adiposo, menor resposta plasmática de glicose e maior percentagem de amido residual no estômago e intestino delgado.

7.5 - Compostos presentes na parede celular e casca do feijão não podem explicar o reduzido aproveitamento do amido.

7.6 - A integridade da parede celular é um importante fator que interfere no aproveitamento do amido do feijão, podendo atuar como uma barreira física que dificulta o entumescimento, a completa gelatinização dos grânulos e a ação de enzimas hidrolíticas sobre o amido.

7.7 - A organização física entre os grânulos de amido e as proteínas existentes nas sementes de feijão podem interferir, parcialmente, no aproveitamento do amido.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. AKERBLOM, H.K. & KOIVUKANGAS, T. Comparisson of post-prandrial glycemia in diabetic children after breakfast meals containing as the starch component of carbohydrates either bread or potato. **Diabetologia**, New York, **13**: 377, 1977.
2. ANDERSON, I.H.; LEVINE, A.S.; LEVITT, M.D. Incomplete absorption of the carbohydrate in all-purpose wheat flour. **N. Engl. J. Med.**, Boston, **304**: 891-2, 1981.
3. ASP, N.-G. & BJÖRCK, I. Resistant starch. **Trends Food Sci. Technol.**, New York, **3**: 111-4, 1992.
4. ASP, N.-G. Bioavailability of food carbohydrates as related to analytical methods. In: SOUTHGATE, D.A.T.; JOHNSON, I.T.; FENWICK, G.R. **Nutrient availability: chemical and biological aspects**. Cambridge, Royal Society of Chemistry, 1989. p. 301-9.
5. BECK, B.; VILLAUME, C.; DEBRY, G. Long-term influence of a wheat-bran supplemented diet on secretion of gastrointestinal hormones and on nutrient absorption in healthy man. **Hum. Nutr. Clin. Nutr.**, London, **40C**: 25-33, 1986.
6. BERGMEYER, M.V.; BERNET, E. Determination of glucose with glucose oxidase and peroxidase. In: BERGMEYER, H.U., **Methods of enzymatic analysis**, 2. ed., New York, Academic Press, 1974. p. 1204-12.

* De acordo com a norma NB66/78 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI), 1990.

7. BERNFELD, P. Amylase α and β . **Methods Enzymol.**, New York, **1**: 149-54, 1955.
8. BERRY, C.S. Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fiber **J. Cereal Sci.**, London, **4**: 301-14, 1986.
9. BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, Ottawa, **69**: 60-78, 1991.
10. BJÖRCK, I.M. & NYMAN, M.E. "In vitro" effects of phytic acid and polyphenols on starch digestion and fiber degradation. **J. Food Sci**, Chicago, **52**(6): 1588-94, 1987b.
11. BJÖRCK, I.M.; NYMAN, M.E.; PEDERSON, B.; SILJESTROM, M.; ASP, N.G.; EGGUM, B.O. Formation of enzyme resistant starch during autoclaving of wheat starch: studies "in vitro" e "in vivo". **J. Cereal Sci.**, London, **6**: 159-72, 1987a.
12. BONSER, A.M. & GARCIA-WEBBER, P. C-Peptide measurement: methods and clinical utility. **CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.**, Cleveland, **19**: 297-52, 1984.
13. BORNET, F.R.J.; COSTAGLIOLA, D.; RIZKALLA, S.W.; BLAYO, A.; FONTVIEILLE, A-M.; HÅARDT, M-J.; LETANOUX, M.; TCHOBROUTSKY, G.; SLAMA, G. Insulinogenic and glycemic index is of six starch-rich foods taken alone and in mixed meal by type 2 diabetics. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **45**: 588-95, 1987.

14. BORNET, F.R.J.; FONTVIEILLE, A-M.; RIZKALLA, S.W.; COLONNA, P.; BLAYO, A.; MERCIER, C.; SLAMA, G. Insulin and glycemic responses in healthy humans to native starches processed in different ways: correlation with in vitro α -amylase hydrolysis. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **50**: 315-23, 1989.
15. BROWM, J.C. Gastric inhibitory polypeptide **Monogr. Endocrinol.**, Berlin, **24**: 1-88, 1982.
16. CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **CRC. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Cleveland, **13**: 297-35, 1980.
17. COLLIER, G.R.; WOLEVER, T.M.S.; WONG, G.S.; JOSSE, R.G. Prediction of glycemic response to mixed meals in non-insulin dependent diabetic subjects. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **44**: 349-52, 1986.
18. COMMITTEE OF THE AMERICAN DIABETES ASSOCIATION ON FOOD AND NUTRITION SPECIAL REPORT. Principles of nutrition and dietary recommendations for individuals with diabetes mellitus: 1979, **Diabetes Care**, New York, **2**: 520-3, 1979.
19. COULSTON, A.M.; HOLLENBECK, C.B.; LIU, G.C.; WILLIAMS, R.A.; STARICH, G.; MAZZAFERRI, E.L.; REAVEN, G.M. Effect of source of dietary carbohydrate on plasma glucose, insulin, and gastric inhibitory polypeptide responses to test meals in subjects with non insulin-dependent diabetes mellitus. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **40**: 965-70, 1984b.

20. COULSTON, A.M.; HOLLENBECK, C.B.; REAVEN, G.M. Utility of studies measuring glucose and insulin responses to various carbohydrate - containing foods. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **39**: 163-6, 1984a.
21. COULSTON, A.M.; HOLLENBECK, C.B.; SWISLOCKI, A.L.M.; REAVEN, G.M. Effect of source of dietary carbohydrate on plasma glucose and insulin responses to mixed meals in subjects with NIDDM. **Diabetes Care**, New York, **10**: 395-400, 1987.
22. CRAPO, P.A.; KOLTERMAN, O.G.; WALDECK, N.; REAVEN, G.M.; OLEFSKY, J.M. Postprandial hormonal responses to different types of complex carbohydrate in individuals with impaired glucose tolerance. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **33**: 1723-8, 1980.
23. CREUTZFELDT, W. & EBERT, R. New developments in the incretin concept. **Diabetologia**, New York, **28**: 565-73, 1985.
24. CREUTZFELDT, W.; EBERT, R.; ARNOLD, R.; FRERICHs, H.; BROWN, J.C. Gastric inhibitory polypeptide (GIP), gastrin and insulin: response to test meal in coeliac disease and after duodeno-pancreatectomy. **Diabetologia**, New York, **12**: 279-86, 1976.
25. CREUTZFELDT, W.; EBERT, R.; WILLMS, B.; FRERICHs, H.; BROWN, J.C. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) and insulin in obesity: increased response to stimulation and defective feedback control of serum level. **Diabetologia**, New York, **14**: 15-24, 1978.
26. CUMMINGS, J.H. & ENGLYST, H.N. Measurement of starch fermentation in the human large intestine. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, Ottawa, **69**: 121-9, 1991.

27. DAHLQVIST, A. Method for assay of intestinal disaccharidases, **Anal. Biochem.**, Baltimore, **7**: 18-25, 1964.
28. DOBBING, J. **Dietary starches and sugars in man: a comparison**, New York, Springer-Verlag, 1989. 255p.
29. EASTWOOD, M.A. & MORRIS, E.R. Physical properties of dietary fiber that influence physiological function: a model for polymers along the gastrointestinal tract. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **55**: 436-42, 1992.
30. FARQUHAR, J.W.; FRANK, A.; GROSS, R.C.; REAVEN, G.M. Glucose, insulin and triglyceride response to high and low carbohydrate diets in man. **J. Clin. Invest.**, New York, **45**: 1648-56, 1966.
31. FESKENS, E.J.M.; BOWLESS, C.H.; KROMHOUT, D. Carbohydrate intake and body mass index in relation to the risk of glucose intolerance in an elderly population. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **54**: 136-40, 1991.
32. GODDARD, M.S.; YONG, G.; MARCUS, R. The effect of amylose content on insulin and glucose response to ingested rice. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **39**: 388-92, 1984.
33. GOLAY, A.; COULSTON, A.M.; HOLLENBECK, C.B.; KAISER, L.L.; WURSCH, P.; REAVEN, G. Comparison of metabolic effects of white beans processed into two different physical forms. **Diabetes Care**, New York, **9**: 260-6, 1986.
34. HAHN, D.M.; JONES, F.T.; AKHAVAN, I.; ROCKLAND, L.B. Light and scanning electron microscope studies on dry beans: intracellular gelatinization of starch in cotyledons of large lima beans (*Phaseolus lunatus*). **J. Food Sci.**, Chicago, **42**(5): 1208-12, 1977.

35. HERMANSEN, K.; RASMUSSEN, O.; ARNFRED, J.; WINTHER, E.; SCHMITZ, O. Differential glycaemic effects of potato, rice and spaghetti in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients at constant insulinaemia. **Diabetologia**, New York, **29**: 358-61, 1986.
36. HILDEBRANDT, L. & MARLETT, J. Starch bioavailability in the upper gastrointestinal tract of colectomized rats. **J. Nutr.**, Philadelphia, **121**: 679-86, 1991.
37. HILLSON, R.M.; HOCKADAY, T.D.R.; MANN, J.I.; NEWTON, D.J. Hyperinsulinemia is associated with development of electrocardiographic abnormalities in diabetes. **Diabetes Res.**, Edinburg, **1**: 143-9, 1984.
38. HINCKS, M.J. & STANLEY, D.W. Lignification: evidence for a role in hard-to-cook beans. **J. Food Biochem.**, Westport, **11**: 41-58, 1987.
39. HOHLBERG, A.I. & STANLEY, D.W. Hard-to-cook defect in black beans. Protein and starch considerations. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, **35**: 571-76, 1987.
40. HOLLENBECK, C.B. & COULSTON, A.M. The clinical utility of the glycemic index and its application to mixed meals. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, Ottawa, **69**: 100-7, 1991.
41. HOLLENBECK, C.B.; COULSTON, A.M.; REAVEN, G. Comparisson of plasma glucose and insulin responses to mixed meals of high-, intermediate-, and low-glycemic potential. **Diabetes Care**, New York, **11**: 323-29, 1988.

42. HOLM, J. & BJÖRCK, I. Bioavailability of starch in various wheat-based bread products: evaluation of metabolic responses in healthy subjects and rate and extend of "in vitro" starch digestion. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **55**: 420-9, 1992.
43. HOLM, J.; BJÖRCK, I.; ASP, N.-G.; SJÖBERG, L.-B.; LUNDQUIST, I. Starch availability "in vitro" and "in vivo" after flaking, steam-cooking and popping of wheat. **J. Cereal Sci.**, London, **3**: 193-206, 1985.
44. HOLM, J.; LUNDQUIST, I.; BJÖRCK, I.; ELLIASSON, A.-C.; ASP, N.-G. Degree of starch gelatinization, digestion rate of starch in vitro, and metabolic response in rats. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **47**: 1010-6, 1988.
45. HOOVER, R. & SOSULSKI, F.W. Composition, structure, functionality, and chemical modification of legume starches: a review. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, Ottawa, **69**: 79-92, 1991.
46. INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCES. Committee on laboratory animal diets. A report. **Nutr. Abstr. Rev. Ser. B**, Slough, **49**: 413-9, 1979.
47. JACKSON, G.M. & VARRIANO - MARSTON, E. Hard-to-cook phenomenon in beans: effects of accelerated storage on water absorption and cooking time. **J. Food Sci.**, Chicago, **46**(3): 799-803, 1981.
48. JENKINS, D.J.A.; CUFF, D.; WOLEVER, T.M.S.; KNOWLAND, D.; THOMPSON, L.; COHEN, Z.; PROKIPCHUK, E. Digestibility of carbohydrate foods in an ileostomate: relationship to dietary fiber, "in vitro" digestibility, and glycemic response. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, **82**(8): 709-17, 1987a.

49. JENKINS, D.J.A.; GHAFARI, H.; WOLEVER, T.M.S.; TAYLOR, R.H.; JENKINS, A.L.; BARKER, H.M.; FIELDEN, H.; BOWLING, A.C. Relationship between rate of digestion of foods and postprandial glycaemia. **Diabetologia**, New York, **22**: 450-5, 1983a.
50. JENKINS, D.J.A.; THORNE, M.J.; CAMELON, K.; JENKINS, A.L.; RAO, A.V.; TAYLOR, R.; THOMPSON, L.U.; KALMUSKY, J.; REICHERT, R.; FRANCIS, T. Effect of processing on digestibility and the blood glucose response: a study of lentils. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **36**: 1093-101, 1982.
51. JENKINS, D.J.A.; THORNE, M.J.; WOLEVER, T.M.S.; JENKINS, A.L.; RAO, A.V.; THOMPSON, L.U. The effect of starch-protein interaction in wheat on the glycemia response and rate of in vitro digestion. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **45**: 946-51, 1987b.
52. JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; JENKINS, A.L.; GIORDANO, C.; GIUDICI, G.; THOMPSON, L.U.; KALMUSKY, J.; JOSSE, R.G.; WONG, G. Low glycemic response to traditionally processed wheat and rye products: bulgur and pumpernickel bread. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **43**: 516-20, 1986.
53. JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; JENKINS, A.L.; LEE, R.; WONG, G.S.; JOSSE, R. Glycemic response to wheat products: reduced response to pasta but no effect of fiber. **Diabetes Care**, New York, **6**: 155-9, 1983b.

54. JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; JENKINS, A.L.; THORNE, M.J.; LEE, R.; KALMUSKY, J.; REICHERT, R.; WONG, G.S. The glycaemic index of foods tested in diabetic patients: a new basis for carbohydrate exchange favouring the use of legumes. **Diabetologia**, New York, **24**: 257-64, 1983c.
55. JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; KALMUSKY, J.; GIUDICI, S.; GIORDANO, C.; WONG, G.S.; BIRD, J.N.; PATTEN, R.; HALL, M.; BUCKLEY, G.; LITTLE, J.A. Low glycemic index carbohydrate foods in the management of hyperlipidemia. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **42**: 604-17, 1985.
56. JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; KALMUSKY, J.; GUIDICI, S.; GIORDANO, C.; PATTEN, R.; WONG, G.S.; BIRD, J.; HALL, M.; BUCKLEY, G.; CSIMA, A.; LITTLE, J.A. Low glycemic index diet in hiperlipidemia: Use of traditional starchy foods. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **46**: 66-71, 1987c.
57. JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; LEEDS, A.R.; GASSULL, M.A.; DILAWARI, J.B.; GOFF, D.V.; METZ, G.L.; ALBERTI, K.G.M.M. Dietary fibre, fibre analogues and glucose tolerance: Importance of viscosity. **Br. Med. J.**, London, **1**: 1392-4, 1978.
58. JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; TAYLOR, R.H.; BARKER, H.M.; FIELDEN, H. Exceptionally low blood glucose response to dried beans: comparisson with other carbohydrate foods. **Br. Med. J.**, London, **30**: 578-80, 1980.

59. JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; TAYLOR, R.H.; BARKER, H.; FIELDEN, H.; BALDWIN, J.M.; BOWLING, A.; NEWMAN, H.C.; JENKINS, A.; GOFF, D.V. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **34**: 362-6, 1981.
60. JENKINS, D.J.A.; WOLEVER, T.M.S.; WONG, G.S.; KENSHOLE, A.; JOSSE, R.G.; THOMPSON, L.U.; LAM, K.Y. Glycemic responses to foods: possible differences between insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetics. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **40**: 971-81, 1984.
61. JENKINS, D.J.A.; WONG, G.S.; PATTEN, R.; BIRD, J.; HALL, M.; BUCKLEY, G.C.; MCGUIRRE, V.; REICHERT, R.; LITTLE, J.A. Leguminous seeds in the dietary management of hyperlipidemia. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **38**: 567-73, 1983d.
62. KREYMAN, B.; GHATEI, M.A.; WILLIAMS, G.; BLOOM, S.R. Glucagon - like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man. **Lancet**, London, **5**: 1300-1303, 1987.
63. KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C.; ANDERSON, J.W. **Dietary fiber. Chemistry, physiology and health effects**. New York, Plenum Press, 1990. p.499.
64. LAJOLO, F.M.; FINARDI-FILHO, F.; MENEZES, E.W. Amylase inhibitors in "Phaseolus vulgaris" beans. **Food Technol.**, Chicago, **45**(9): 119-21, 1991.
65. LAJOLO, F.M.; MANCINI FILHO, J.; MENEZES, E.W. Effect of a bean "Phaseolus vulgaris" α -amylase inhibitor on starch utilization. **Nutr. Rep. Int.**, Los Altos, **30**(1): 45-54, 1984.

66. LANDSBERG, L. & YOUNG, J.B. The role of sympathetic nervous system and catecholamines in the regulation of energy metabolism. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **38**: 1018-24, 1983.
67. LEE, P.C.; BROOKS, S.P.; KIM, O.; HEITLINGER, L.A.; LEBENTHAL, E. Digestibility of native and modified starches: In vitro studies with human and rabbit pancreatic amylases and in vivo studies in rabbits, **J. Nutr.**, Philadelphia, **115**: 93-103, 1985.
68. LEVIN, R.J. Dietary carbohydrate and the kinetics of intestinal functions in relation to hexose absorption. In: DOBBING, J. **Dietary starches and sugars in man: a comparison**, New York, Springer-Verlag, 1989. p. 87-117.
69. LEVITT, M.D.; HIRSCH, P.; FETZER, C.A.; SHEAHAN, M.; LEVINE, A.S. H₂ excretion after ingestion of complex carbohydrates. **Gastroenterology**, New York, **92**: 383-9, 1987.
70. LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, **193**: 265-75, 1951.
71. MACDONALD, I. The effects on energy input and output of dietary starches and sugars. In: DOBBING, J.; **Dietary starches and sugars in man: a comparison**, New York, Springer-Verlag, 1989. p. 181-92.
72. MARSHALL, J.J. & LAUDA, C.M. Purification and properties of phaseolamin, an inhibitor of α -amylase, from kidney bean, "Phaseolus vulgaris". **J. Biol. Chem.**, Baltimore, **250**(20): 8030-7, 1975.

73. MATTSON, S. The cookability of yellow peas. **Acta Agric. Suec.**, Stockholm, **2**: 185-231, 1946.
74. McBURNEY, M.I. Passage of starch into the colon of humans: quantification and implications. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, Ottawa, **69**: 130-6, 1991.
75. McINTYRE, N.; HOLDSWORTH, C.D.; TURNER, D.S. New Interpretation of oral glucose tolerance. **Lancet**, London, **2**: 20-1, 1964.
76. MENEZES, E.W. & CARPINELLI, A.R. Hormônios gastrointestinais com atividade de incretina. In: VANNUCCHI, H.; & LAJOLO, F.M. **Cadernos de nutrição**, Ribeirão Preto, SBAN, 1990. p. 21-39.
77. MENEZES, E.W. & LAJOLO, F.M. Inhibition of starch digestion by a black bean α -amylase inhibitor, in normal and diabetic rats. **Nutr. Rep. Int.**, Los Altos, **36**(6): 1185-95, 1987.
78. MILITZER, W.; KEDA, C.; KREEN, E. The preparation and properties of an amylase inhibitor of wheat. **Arch. Biochem.**, New York, **9**: 309-20, 1946.
79. MONNIER, L.; PHAN, T.C.; AGUIRRE, L.; ORSETTI, A.; MIROUZE, J. Influence of indigestible fibers on glucose tolerance, **Diabets Care**, New York, **1**: 83-8, 1978.
80. MOORE, B.; EDIE, E.S.; ABRAM, J.H. On the treatment of diabetes mellitus by acid extract of duodenal mucous membranes. **Biochem. J.**, London, **1**: 28-38, 1906.

81. MORGAN, L.M.; FLATT, P.R.; MARKS, V. Nutrient regulation of the entero-insular axis and insulin secretion. **Nutr. Res. Rev.**, Cambridge, **1**: 79-97, 1988.
82. MORGAN, L.M.; TREDGER, J.A.; WRIGHT, J.; MARKS, V. The effect of soluble-and insoluble-fibre supplementation on post-prandial glucose tolerance, insulin and gastric inhibitory polypeptide secretion in healthy subjects. **Br. J. Nutr.**, London, **64**: 103-10, 1990.
83. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Nutrient requirements of laboratory animals**. Washington, 1978. 95p.
84. NISHIMUNE, T.; YAKUSHIJI, T.; SUMIMOTO, T.; TAGUCHI, S.; KONISHI, Y.; NAKAHARA, S.; ICHIKAWA, T.; KUNITA, N. Glycemic response and fiber content of some foods. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **54**: 414-9, 1991.
85. NUTTALL, F.Q.; MOORADIAN, A.D.; GANNON, M.C.; BILLINGTON, C.; KREZOWSKI, P. Effect of protein ingestion on the glucose and insulin response to a standardized oral glucose load. **Diabetes Care**, New York, **7**: 465-76, 1984.
86. O'DEA, K.; NESTEL, P.J.; ANTONOFF, L. Physical factors influencing postprandial glucose and insulin responses to starch. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **33**: 760-5, 1980.
87. O'DEA, K.; SNOW, P.; NESTEL, P.J. Rate of starch hydrolysis "in vitro" as a predictor of metabolic responses to complex carbohydrate "in vivo". **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **34**: 1991-3, 1981.

88. O'DEA, K. & WONG, S. The rate of starch hydrolysis in vitro does not predict the metabolic responses to legumes in vivo. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **38**: 382-7, 1983.
89. O'NEILL, M.A. & SELVENDRAN, R.R. Structural analysis of the xyloglucan from "Phaseolus coccineus" cell-walls using cellulase- derived oligosaccharides **Carbohydr. Res.**, Amsterdam, **145**: 59-66, 1985.
90. OSLON, R.E. The nutritional re-emergence of starch food. The eleventh Marabou Symposium. **Nutr. Rev.**, New York, **44**(2): 33-92, 1986.
91. OTTO, H. & NIKLAS, L. Different glycemic responses to carbohydrate-containing foods. Implications for the dietary treatment of diabetes mellitus. **Med. Hyg.**, Geneve, **38**: 3424-9, 1980.
92. POLONSKY, K.S. & RUBINSTEIN, A.H. C-Peptide as a measure of the secretion and hepatic extraction of insulin: pitfalls and limitations. **Diabetes**, New York, **33**: 486-94, 1984.
93. PROSKY, L.; ASP, N.- G.; FURDA, I.; DEVRIES, J.W.; SCHWEIZER, T.S.; HARLAND, B.F. - Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and foods products: interlaboratory study. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, Washington, **71**: 1017-1023, 1988.
94. PULS, W. & KEUP, U. Influence of an α -amylase inhibitor (BAY d 7791) on blood glucose serum insulin and NEFA in starch loading tests in rats, dogs and man. **Diabetologia**, New York, **9**: 97-101, 1973.
95. REDDY, N.R. & PIERSON, M.D. Dry bean tannins: a review of nutritional implications, **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, Chicago, **62**(3): 541-9, 1985.

96. REISER, S. & LEWIS, C.G. Effect of the type of dietary carbohydrate on small intestinal functions **Prog. Biochem. Pharmacol.**, Basel, **21**: 135-59, 1986.
97. RING, S.G.; GEE, J.M.; WHITTAM, M.; ORFORD, P.; JOHNSON, I.T. Resistant starch: its chemical form in foodstuffs and effect on digestibility "in vitro". **Food Chem.**, Barking, **28**: 97-109, 1988.
98. ROCKLAND, L.B.; JONES, F.T.; HAHN, D.M. Light and scanning microscope studies on dry beans: extracellular gelatinization of lima bean starch in water and a mixed salt solution **J. Food Sci.**, Chicago, **42**(5): 1204-12, 1977.
99. ROJDMARK, S.; BLOOM, G.; CHOU, M.C.Y.; FIELD, J.B. Hepatic extraction of exogenous insulin and glucagon in the dog. **Endocrinology**, Baltimore, **102**(3): 806-13, 1978.
100. ROSS, S.W.; BRAND, J.C.; THORBURN, A.W.; TRUSWELL, A.S. Glycemic index of processed wheat products. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **46**: 631-5, 1987.
101. RUSSEL, P.L.; BERRY, C.S.; GREENWELL, P. Characterization of resistant starch from wheat and maize. **J. Cereal Sci.**, London, **9**: 1-15, 1989.
102. SANDSTEDT, R.M.; STRAHAN, D.; UEDA, S.; ABBOT, R.C. The digestibility of high amylose corn starches. The apparent effect of ae gene on susceptibility to amylase action. **Cereal Chem.**, St. Paul, **39**: 123-31, 1962.

103. SCHWEIZER, T.F.; ANDERSSON, H.; LANGKILDE, A.M.; REIMANN, S.; TORSDOTTIR, I. Nutrient excreted in ileostomy effluents after consumption of mixed diets with beans or potatoes. II. Starch, dietary fibre and sugars. **Eur. J. Clin. Nutr.**, London, **4**: 567-75, 1990.
104. SCHWEIZER, T.F.; REIMANN, S.; WÜRSCH, P. Definition and measurement of a starch digestion index and a study of factors determining starch digestion rates of foods. **Food Sci. Technol.**, New York, **21**: 352-7, 1988.
105. SERAVALLI, E.A.G. **Digestibilidade "in vitro" e sua correlação com a resposta glicêmica produzida por alimentos contendo amido.** São Paulo, 1990. 106p. [Dissertação - Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo].
106. SHETTY, P.S. Physiological mechanisms in the adaptative response of metabolic rates to energy restriction. **Nutr. Res. Rev.**, Cambridge, **3**: 49-74, 1990.
107. SILJESTRÖM, M. & BJÖRCK, I. Digestible and undigestible carbohydrates in autoclaved legumes, potatoes and corn. **Food Chem.**, Barking, **38**: 145-52, 1990.
108. SNOW, P. & O'DEA, K. Factors affecting the rate of starch hydrolysis in food. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **34**: 2721-7, 1981.
109. SOCORRO, M.; LEVY-BENSHIMOL, A.; TOVAR, J. "In vitro" digestibility of cereal and legume "Phaseolus vulgaris" starches by bovine, porcine and human pancreatic α -amylases. **Starch/Staerke**, Weinheim, **41**: 69-71, 1989.

110. SOUTHGATE, D.A.T. The dietary fibre hypothesis: a historical perspective.
In: SCHWEIZER, T.F. & EDWARDS, C.A. **Dietary fibre: a component of food**. New York, Springer-Verlag, 1992. p. 3-20.
111. STEPHEN, A.N. Starch and dietary fibre: their physio-logical and epidemiological interrelationships, **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, Ottawa, **69**: 116-20, 1991.
112. STROCCHI, A. & LEVITT, M.D. Measurement of starch absorption in humans. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, Ottawa, **69**: 108-10, 1991.
113. TAPPY, L.; WÜRSCH, P.; RANDIN, J.P.; FELBER, J.P.; JÉQUIER, E. Metabolic effect of pre-cooked instant preparations of bean and potato in normal and in diabetic subjects. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **43**: 30-6, 1986.
114. THOMPSON, L.U. Antinutrients and blood glucose. **Food Technol.**, Chicago, **42**(4): 123-32, 1988.
115. THOMPSON, L.U. Nutritional and physiological effects of phytic acid. In: KINSELA, J.E. & SOUCIE, W.G. **Food protein**. Champaign, American Oil Chemists ' Society, 1989. p. 410-31.
116. THOMPSON, L.U.; PRICE, G.; MANG, G. Effect of phytic acid and tannins on the rate of protein and starch digestion. **Cereal Foods World**, St. Paul, **31**: 596, 1986.
117. THORNE, M.J.; THOMPSON, L.; JENKINS, J.A. Factors affecting starch digestibility and the glycemic response with special reference to legumes. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **38**: 481-8, 1983.

118. TORSDOTTIR, I.; ALPSTEN, M.; ANDERSSON, D.; BRUMMER, R.J.M.; ANDERSSON, H. Effect of different starch food in composite meals on gastric emptying rate and glucose metabolism I. Comparisons between potatoes, rice and white beans. **Hum. Nutr. Clin. Nutr.**, London, **38C**: 329-38, 1984.
119. TOVAR, J.; BJÖRCK, I.M.; ASP, N-G. Starch content and α -amylolysis rate in precooked legume flours. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, **38**: 1818-23, 1990b.
120. TOVAR, J.; BJÖRCK, I.M.; ASP, N.-G. Analytical and nutritional implications of limited enzymic availability of starch in cooked red kidney beans. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, **38**: 488-93, 1990a.
121. UNGER, R.H. & EISENTRAUT, A.M.D. Entero-insular axis. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, **123**: 261-6, 1969.
122. VAALER, S.; HANSSEN, K.F.; AAEGENAES, O. The effect of cooking upon the blood glucose response to ingested carrots and potatoes. **Diabetes Care**, New York, **7**: 221-3, 1984.
123. VOSTER, H.H.; TONDER, E.; KOTZÉ, J.P.; WALKER, A.R.P. Effects of graded sucrose additions on taste preference, acceptability, glycemic index, and insulin response to butter beans. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **45**: 575-79, 1987.
124. WAHLQVIST, M.L.; WILMSHURT, E.G.; MURTON, C.R.; RICHARDSON, E.N. The effect of chain length on glucose absorption and the related metabolic response. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **31**: 1998-2001, 1978.

125. WELCH, R.W. Diet components in the management of diabetes. **Proc. Nutr. Soc.**, Cambridge, **50**: 631-9, 1991.
126. WHITAKER, J.R. α -Amylase inhibitors of higher plants and microorganisms. In: KINSELA, J.E. & SOUCIE, W.G. **Food protein**. Champaign, American Oil Chemists ' Society, 1989, p. 354-80.
127. WOLEVER, T.M.S. Relationship between dietary fiber content and composition in foods and glycemic index. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **51**: 72-5, 1990b.
128. WOLEVER, T.M.S.; COHEN, Z.; THOMPSON, L.U. Ileal loss of available carbohydrate in man: comparisson of a breath hydrogen method with direct measurement using a human ileostomy model. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, **81**: 115-22, 1986b.
129. WOLEVER, T.M.S.; JENKINS, D.J.A. The use of the glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **43**: 167-72, 1986a.
130. WOLEVER, T.M.S.; JENKINS, D.J.A.; COLLIER, G.R.; LEE, R.; WONG, G.S.; JOSSE, R.G. Metabolic response to test meals containing different carbohydrate foods. 1. Relationship between rate of digestion and plasma insulin response. **Nutr. Res.**, Lons Angeles, **8**: 573-81, 1988.
131. WOLEVER, T.M.S.; JENKINS, D.J.A.; JENKINS, A.L.; JOSSE, R.G. The glycemic index: methodology and clinical implications. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **54**: 846-54, 1991.
132. WOLEVER, T.M.S.; The glycemic index. **World Rev. Nutr. Diet.**, New York, **62**: 120-85, 1990a.

133. WONG, S.; TRAIANEDES, K.; O'DEA, K. Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in legumes. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **42**: 38-43, 1985.
134. WOOTTON, M. & BAMUNUARACHCHI, A. Application of differential scanning calorimetry to starch gelatinization III. Effect of sucrose and sodium chloride. **Starch/Starke**, Weinheim, **32**: 126-9, 1980.
135. WURSCH, P. Starch in human nutrition **World Rev. Nutr. Diet.**, Basel, **60**: 199-256, 1989.
136. WURSCH, P.; ACHESON, K.; KOELLREUTER, B.; JÉQUIER, E. Metabolic effects of instant bean and potato over 6 hours. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **48**: 1418-23, 1988.
137. WURSCH, P.; DEL VEDOMO, S.; KOELLREUTTER, B. Cell structure and starch nature as key determinants of the digestion rate of starch in legume. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **43**: 25-9, 1986.
138. YOON, J.H.; THOMPSON, L.U.; JENKINS, D.J.A. The effect of phytic acid on "in vitro" rate of starch digestibility and blood glucose response. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, **38**: 835-42, 1983.

9 - RESUMO

Foram realizados ensaios de curta e média duração em animais e humanos visando avaliar o aproveitamento do amido do feijão em relação a outras fontes de carboidratos complexos, de consumo habitual da população brasileira. Em animais, o aumento da glicose plasmática decorrente da ingestão de diferentes fontes de amido decresceu na seguinte ordem: polenta= arroz= pão= macarrão > canjica= farinha de mandioca > mandioca= feijão Carioca= feijão Fradinho. Em humanos, o feijão com casca ou sem casca produziu menores respostas plasmáticas de glicose que a polenta, arroz, arroz com feijão; as respostas de insulina plasmática foram reduzidas para todas as dietas que continham feijão e tanto a polenta como o feijão estimularam de forma semelhante a liberação do GLP-1 7-36. Pudemos evidenciar a persistência do reduzido aproveitamento do amido do feijão, em relação ao da polenta, apesar da adaptação dos animais a essas fontes de carboidratos por 13 dias. Observamos por microscopia óptica e ensaios "in vivo" que a parede celular íntegra e a organização física entre os grânulos de amido e proteína podem explicar, em parte, o reduzido aproveitamento do amido do feijão.

10 - ABSTRACT

Short- and middle-term assays in animals and humans were carried out to determine the utilization of bean starch as compared to usual Brazilian starchy foods. The order of glycemic response was: polenta = rice = bread = macaroni > hominy = cassava flour > cassava = Carioca bean = Fradinho bean. Beans with or without seed coat produced in human a glycemic response lower than polenta, rice and rice plus bean; the insulin response was reduced for all diets containing beans; the secretion of glucagon-like peptide-1 7-36 was the same either for polenta or bean diet. The reduced utilization of bean starch for polenta and bean diet was confirmed in middle-term assays (13 days). The optic microscopy and "in vivo" observations suggested that existence of whole cell walls and starch-protein associations may explain the lower blood response.

11 - ANEXOS

Anexo 1 - Teste de tolerância à glicose (GTT) em indivíduos normais

Indivíduo	Glicose plasmática (nmol/l)						
	Tempo (min)						
	0	15	30	45	60	120	180
1	3,9	7,1	8,7	8,7	6,6	3,2	3,9
2	4,9	7,1	7,0	7,4	6,3	4,1	4,0
3	4,8	6,9	8,3	5,1	4,9	3,7	4,4
4	4,7	5,6	7,3	6,6	4,6	4,2	4,3
5	4,6	6,0	7,3	9,1	8,8	6,3	3,1
6	4,7	7,6	7,7	8,7	7,3	5,6	4,0
7	5,1	8,7	9,8	9,2	8,5	4,1	4,7
8	3,9	7,0	8,7	8,7	6,6	3,2	3,9
9	4,8	5,9	5,2	6,7	5,0	5,7	4,1
10	4,2	6,2	7,3	5,9	5,6	3,7	4,8
11	4,9	7,4	8,8	9,2	8,9	4,2	4,1
12	4,7	5,9	6,3	5,7	5,7	4,4	4,2

12 - LISTA DE TABELAS

	Pág
Tabela 1 - Descrição e procedimento do tratamento utilizado nos alimentos	35
Tabela 2 - Conteúdo de proteína e carboidrato disponível nas dietas experimentais no segundo experimento com humanos.....	40
Tabela 3 - Glicose plasmática, em ratos, após a administração de diferentes fontes de amido	43
Tabela 4 - Hidrólise do amido "in vitro" de diferentes fontes de amido, após 30 minutos de incubação com amiloglucosidade	44
Tabela 5 - Glicose plasmática após a ingestão de polenta, arroz e feijão em indivíduos normais	47
Tabela 6 - Hidrólise do amido "in vitro" das dietas experimentais, após 30 minutos de incubação com amiloglucosidase	49
Tabela 7 - Insulina plasmática após a ingestão de polenta, arroz e feijão em indivíduos normais	51
Tabela 8 - Glicose plasmática após a ingestão de polenta e feijão com e sem casca em indivíduos normais	54
Tabela 9 - Insulina plasmática após a ingestão de polenta e feijão com e sem casca em indivíduos normais	56
Tabela 10 - GLP-1 7-36 plasmático após a ingestão de polenta e feijão com e sem casca em indivíduos normais	58

Tabela 11 -	Glicose plasmática em ratos após a administração de dietas com diferentes tratamentos do feijão	61
Tabela 12 -	Hidrólise do amido "in vitro" das dietas com diferentes tratamentos do feijão, após 30 minutos de incubação com amiloglucosidase	63
Tabela 13 -	Tamanho dos grânulos de amido isolado de feijão cozido submetido a segunda cocção	69
Tabela 14 -	Informações sobre o aproveitamento do amido em diversos alimentos...	75
Tabela 15 -	Teor de nutrientes ingeridos diariamente e sua distribuição energética...	78
Tabela 16 -	Necessidades energéticas de manutenção dos animais.....	81
Tabela 17 -	Glicose plasmática nos animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética	84
Tabela 18 -	Atividade específica de α -amilase do conteúdo intestinal nos animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética e controle ("ad libitum")	88
Tabela 19 -	Teor de amido residual nos animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética	89
Tabela 20 -	Excreção fecal média dos animais durante a fase experimental com ração de polenta e feijão sob restrição energética e controle ("ad libitum").....	92
Tabela 21 -	Parâmetros avaliados no aproveitamento do amido em animais adaptados à ração de polenta ou feijão sob restrição energética	94

13 - LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 - Glicose e insulina plasmática, em 7 indivíduos normais, após a ingestão de polenta, arroz e feijão	48
Figura 2 - Glicose e insulina plasmática, em 5 indivíduos normais, após a ingestão de polenta e feijão com e sem casca	55
Figura 3 - Glicose plasmática em ratos após a administração de dietas com diferentes tratamentos do feijão	62
Figura 4 - Micrografia de feijão cozido triturado e seco. 4A (125 X); 4B (250 X). Ausência de estrutura tecidual e presença da maior parte das células com parede celular íntegra (PC)	64
Figura 5 - Micrografia do amido isolado de feijão cozido. 5A (125 X); 5B (250 X). Micrografia de amido isolado de feijão cozido submetido a 2ª cocção. 5C (125 X); 5D (250 X)	66
Figura 6 - Micrografia de amido de feijão cru logo após a cocção. 6A (125 X). Amido completamente gelatinizado	68
Figura 7 - Micrografia de feijão cozido tratado com celulase/pectinase. 7A (125 X); 7B (250 X). Ausência de estrutura tecidual e de parede celular	72

- Figura 8 - Curva de crescimento de animais alimentados com ração de polenta ou feijão (sob restrição energética) ou controle ("ad libitum"). Diferenças estatísticas entre os três grupos ($* p < 0,05$). Valores médios $\pm$ desvio padrão de 24 animais para os grupos polenta e feijão e de 6 para o controle..... 79
- Figura 9 - Peso seco e percentagem de lípides na carcaça dos animais adaptados à ração de polenta ou feijão (sob restrição energética) ou controle ("ad libitum"). Valores médios $\pm$ desvio padrão de 6 animais por grupo. ($a \neq b \neq c, d \neq f \neq g p < 0,05$)..... 82
- Figura 10 - Glicose plasmática em animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética 85
- Figura 11 - Atividade específica da maltase e invertase no intestino delgado nos animais adaptados à ração de polenta e feijão (sob restrição energética) e controle ("ad libitum"). Valores médios $\pm$ desvio padrão de 24 animais por grupo para polenta e feijão e 6 animais para o controle. (Para o mesmo tempo $a \neq b p < 0,05$). (1 U corresponde a 1 μ mol de dissacarídeo hidrolisado/min)..... 87
- Figura 12 - Percentagem de amido residual em relação ao ingerido em animais adaptados à ração de polenta e feijão sob restrição energética 91