

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

Aumento do comprimento e peso do intestino delgado, do peso do fígado e pâncreas de ratos devido à ingestão de feijão-comum cozido e de caseína acrescida de fibras dietéticas com teores crescentes e solubilidade similar a do feijão-comum.

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição - Área de Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos

Telma Angelina Faraldo Corrêa
Nutricionista

Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira
Orientador

Campinas, SP
2007

C817a Corrêa, Telma Angelina Faraldo
Aumento do comprimento e peso do intestino delgado, do peso do fígado e pâncreas de ratos devido à ingestão de feijão-comum cozido e de caseína acrescida de fibras dietéticas com teores crescentes e solubilidade similar a do feijão-comum / Telma Angelina Faraldo Corrêa. -- Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientador: Admar Costa de Oliveira
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Feijão-comum. 2. Amido resistente. 3. Órgãos digestórios.
4. Rato. I. Oliveira, Admar Costa de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Título em inglês: Increase of the small intestine length and weight and liver and pancreas weight of rats due to the ingestion of cooked common bean and casein added of dietetic fibers with growing proportion and similar solubility of the common bean

Área de concentração: Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos

Palavras-chave em inglês (Keywords): Common bean, Resistant starch, Digestive organs, Rat

Titulação: Mestre em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora: Admar Costa de Oliveira

Mauro Masson Lerco

Célio Kenji Miyasaka

Miguel Arcanjo Arêas

Programa de Pós Graduação: Programa em Alimentos e Nutrição

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira
Universidade Estadual de Campinas
Orientador

Prof. Dr. Mauro Masson Lerco
Universidade Estadual Paulista
Membro

Prof. Dr. Célio Kenji Miyasaka
Universidade Estadual de Campinas
Membro

Prof. Dr. Miguel Arcanjo Arêas
Universidade Estadual de Campinas
Membro

A Deus, meu pai e criador, que está presente em todos os momentos da minha vida. Sem sua presença seria impossível eu chegar até aqui e vencer mais uma etapa de várias que ainda virão; aos meus pais, Antônio e Sônia e ao meu marido, Fábio, pelo amor, apoio, auxílio e confiança.

AGRADECIMENTOS

- A Deus unipotente e unipresente, em quem sempre depus toda a minha confiança e que me deu força, determinação e perseverança em momentos difíceis, nos quais as barreiras pareciam intransponíveis, nos momentos de desânimos, dores e tristezas, conduzindo-me para conquistar um novo ideal;
- A minha querida família, que esteve ao meu lado o tempo todo me auxiliando e dando apoio em tudo o que era possível;
- Ao Professor Admar Costa de Oliveira pela paciência e excelente orientação, possibilitando a realização deste trabalho;
- À bióloga Dra Soely Maria Pissini Machado Reis, à bioterista Maria Suzana Correia Alves da Cunha, à Cibelem e Andréa, que foram anjos que Deus colocou em meu caminho e sem as quais o trabalho teria sido muito mais árduo;
- À Ana Cláudia, Iara, Elisa, Elisvânia e Pablo, que entraram na minha vida e tornaram-se companheiros de estudo, de execução de trabalho, de viagem e de confraternizações. São pessoas que entraram em minha vida e deixarão saudades;
- Aos professores, funcionários e alunos do Departamento de Alimentos e Nutrição pelo auxílio e amizade;
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudos;
- Ao Instituto Agronômico de Campinas, na pessoa do Engenheiro Agrônomo Alisson Fernando Chiorato, pela cessão do cultivar de feijão;
- Ao Laboratório de Frutas do Departamento de Tecnologia de Alimentos pela cessão da pectina;
- À National Starch & Chemical Industrial Ltda, na pessoa da Engenheira de Alimentos e Coordenadora de Serviços Técnicos do Grupo de Polímeros Naturais Betina Breitschwerdt Raposo pela cessão do amido resistente;
- A Faculdade de Ciências Agrônomicas da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Botucatu, na pessoa do Sr Wilson e a Terroni Equipamentos Científicos Ltda, na pessoa do Sr Pradella, pela liofilização do feijão;

- A Tovani Benzaquen Representações Ltda pela cessão das enzimas utilizadas na análise de fibras dietéticas e amido resistente;
- Ao Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA) da Unicamp, na pessoa da Pesquisadora Edma Maria de Araújo pelo empréstimo da mufla;
- Aos ratos utilizados no ensaio biológico, que deram a vida para a realização deste trabalho.

*Já perdoei erros quase imperdoáveis, tentei substituir pessoas
insubstituíveis e esquecer pessoas inesquecíveis.*

*Já fiz coisas por impulso, já me decepcionei com pessoas
Quando nunca pensei me decepcionar, mas também
Decepcionei alguém.*

*Já abracei pra proteger, já dei risada quando não podia,
fiz amigos eternos, amei e fui amado, mas também já fui rejeitado,
fui amado e não amei.*

*Já gritei e pulei de tanta felicidade, já vivi de amor e fiz juras
eternas,"quebrei a cara" muitas vezes!*

*Já chorei ouvindo música e vendo fotos, já liguei só pra escutar uma
voz, me apaixonei por um sorriso.*

*Já pensei que fosse morrer de tanta saudade e tive medo de perder
alguém especial (e acabei perdendo)!*

Mas vivi! E ainda vivo! Não passo pela vida...

*Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida e viver com
paixão, perder com classe e vencer com ousadia.*

*Porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito, para ser
insignificante".*

(Charles Chaplin)

SUMÁRIO

ÍNDICE GERAL	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
ANEXOS	xvi
RESUMO	xvii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	04
3 REVISÃO DE LITERATURA	06
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÕES	64
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
ANEXOS	77

ÍNDICE GERAL

	LISTA DE TABELAS	xi
	LISTA DE FIGURAS	xii
	ANEXOS	xvi
	RESUMO	xvii
	ABSTRACT	ix
1	INTRODUÇÃO	01
2	OBJETIVOS	04
2.1	OBJETIVO GERAL	04
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	04
3	REVISÃO DE LITERATURA	06
3.1	EFEITO TRÓFICO DE ALIMENTOS EM ÓRGÃOS DIGESTÓRIOS	06
3.1.1	Digestibilidade das proteínas do feijão	10
3.1.2	Fibras Dietéticas	12
3.1.3	Amido Resistente	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	MATERIAL	23
4.1.1	Fontes Protéicas	23
4.1.2	Animais	23
4.2	MÉTODOS	26
4.2.1	Determinações químicas.....	26

4.2.1.1	Composição centesimal	26
4.2.1.1.1	Umidade	26
4.2.1.1.2	Cinzas	26
4.2.1.1.3	Nitrogênio e Proteína Bruta	26
4.2.1.1.4	Lipídeos Totais	27
4.2.1.1.5	Fibras Dietéticas Solúvel e Insolúvel contidas no feijão-comum e nas dietas	27
4.2.1.1.6	Carboidratos	27
4.2.1.1.7	Amido Resistente contido no feijão-comum e nas dietas	28
4.2.2	Ensaio Biológico	28
4.2.2.1	Preparo das fontes protéicas	31
4.2.2.2	Dietas experimentais	31
4.3	TRATAMENTO ESTATÍSTICO	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO FEIJÃO-COMUM (<i>PHASEOLUS VULGARIS</i> , L.)	38
5.2	FIBRA DIETÉTICA TOTAL, INSOLÚVEL E SOLÚVEL E AMIDO RESISTENTE.....	39
5.3	ENSAIO BIOLÓGICO	41
6	CONCLUSÕES	64
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
	ANEXOS	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Classificação das fibras e substâncias semelhantes às fibras ..	13
Tabela 2 Composição das dietas (g/kg de dieta), utilizadas no ensaio....	33
Tabela 3 Composição da mistura mineral utilizada na preparação das dietas, AIN-93G	34
Tabela 4 Composição da mistura vitamínica, utilizada na preparação das dietas, AIN-93G	35
Tabela 5 Adições de celulose, pectina e amido resistente às dietas em porcentagem e em gramas por Kg de dieta.....	36
Tabela 6 Fibra Alimentar Total (FDT), Insolúvel (FDI) e Solúvel (FDS) e Amido Resistente (AR) no feijão-comum cozido e liofilizado e nas dietas (g/100g)	40
Tabela 7 Pesos inicial e final (g), ganho de peso (g) e consumo de dieta após 10 dias de experimento	43
Tabela 8 Peso do fígado, pâncreas e intestino delgado (g/100g) e comprimento do (cm) e espessura do intestino delgado (mg/cm) de ratos após 10 dias de experimento	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1A Fórmula estrutural da amilose	21
Figura 1B Fórmula estrutural da amilopectina	21
Figura 2 Alimentação dos animais, com dietas contendo feijão-comum ou caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, durante 14 dias, sendo 4 de adaptação e 10 de experimento. Os animais tiveram livre acesso à água e dieta durante todo o experimento	25
Figura 3 Determinação do peso dos animais na chegada dos animais ao Laboratório de Ensaios Biológicos, ao final do período de adaptação, aos 5 dias de experimento e ao final do experimento para monitoração do crescimento dos animais	25
Figura 4 Determinação do comprimento do intestino delgado com o auxílio de uma fita métrica, segurando-o suspenso e com um peso de 5,60g preso a sua extremidade inferior para assegurar o mesmo estiramento do tecido	29

Figura 5	Esvaziamento do conteúdo intestinal e lavagem do intestino delgado, injetando-se 20 a 30 mL de soro fisiológico gelado com o auxílio de uma seringa de 10 mL	30
Figura 6	Determinação do peso do fígado e do pâncreas em placas de Petri previamente taradas após lavagem com soro fisiológico gelado e secagem com gaze	30
Figura 7	Peso inicial e final de ratos em dietas cujas fontes protéicas eram feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento	44
Figura 8	Ganho de peso e consumo de dieta de ratos em dietas cuja fonte protéica é o feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.....	45
Figura 9	Crescimento ponderal de ratos alimentados com dietas cujas fontes protéicas são feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento	46

Figura 10	Peso do pâncreas, em 100g de peso corporal, de ratos alimentados com dietas cuja fonte protéica é o feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento	49
Figura 11	Fotos comparativas do pâncreas de um rato antes do período de adaptação (0 dia) e de um rato do grupo alimentado com dieta contendo feijão cozido como fonte protéica ao final do experimento (10 dias)	50
Figura 12	Peso do fígado, em 100g de peso corporal, de ratos alimentados com dietas cuja fonte protéica é o feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.....	52
Figura 13	Fotos comparativas do fígado de um rato antes do período de adaptação (0 dia) e de um rato do grupo alimentado com dieta contendo feijão cozido como fonte protéica ao final do experimento (10 dias)	53

Figura 14	Peso do intestino delgado, em 100g de peso corporal, de ratos alimentados com dietas cujas fontes protéicas eram feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento	55
Figura 15	Comprimento do intestino delgado, em 100g de peso corporal, de ratos alimentados com dietas cujas fontes protéicas eram feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.....	56
Figura 16	Espessura do intestino delgado (peso/comprimento do órgão), em mg/cm, de ratos alimentados com dietas cujas fontes protéicas eram feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento	57
Figura 17	Fotos comparativas do intestino delgado de um rato antes do período de adaptação (0 dia) e de um rato do grupo alimentado com dieta contendo feijão cozido como fonte protéica ao final do experimento (10 dias)	58

ANEXOS

Anexo 1	Protocolo de aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal - CEEA (Protocolo nº 1005-1)	77
Anexo 2	Metodologia para determinação de fibras dietéticas solúvel e insolúvel	79
Anexo 3	Metodologia para determinação de amido resistente	82

RESUMO

O consumo de feijão-comum cozido está associado a efeito trófico no intestino delgado, fígado e pâncreas de ratos. A baixa digestibilidade e valor biológico das proteínas do feijão e as fibras dietéticas estão entre os principais fatores responsáveis por este efeito causando aumento de peso no fígado e no pâncreas. Diante desse fato, o presente estudo objetivou verificar o efeito das fibras dietéticas no aumento de órgãos digestórios (fígado, pâncreas e intestino delgado) de ratos. Para tanto, foram feitas adições crescentes de 5,0% (grupo-controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas e amido resistente, com as mesmas proporções de fibras insolúveis, solúveis e amido resistente encontradas no feijão (8: 3: 1), às dietas contendo caseína como fonte protéica. A dieta cuja fonte protéica era o feijão-comum cozido continha 11,9% de fibras dietéticas e 1,0% de amido resistente. Foram utilizados 60 ratos Wistar, recém-desmamados (21-23 dias), os quais foram divididos, aleatoriamente, em 6 grupos. Os animais tiveram livre acesso à água e dieta durante os 14 dias de ensaio biológico, sendo 4 de adaptação e 10 de experimento. Os grupos alimentados com dietas contendo feijão-comum e caseína acrescida de crescentes adições de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, apresentaram aumento do intestino delgado, do fígado e do pâncreas quando comparado ao grupo controle em dieta contendo caseína (AIN – 93G). Isto foi verificado no comprimento e peso do intestino delgado e no peso do fígado e do pâncreas que foram: 47,12%, 33,42%, 25,14% e 50,00%, respectivamente, para os ratos em dieta contendo feijão-comum (FC) e 21,43% para peso do pâncreas no grupo que recebeu dieta contendo caseína

acrescida de 15,0% de fibras dietéticas e amido resistente (C15,0%), quando comparados ao grupo controle ($p < 0,05$). Em relação à espessura do intestino delgado, não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos. Assim, a dieta contendo feijão-comum como fonte protéica causou aumento do peso de todos os órgãos estudados e do comprimento do intestino delgado e a dieta de caseína acrescida de 15,0% de fibras dietéticas e amido resistente causou aumento no peso do pâncreas.

ABSTRACT

The consumption of the cooked common bean is associated to trophic effect in the small intestine, in the liver and pancreas. The low digestibility and biological value of the bean proteins and the dietetic fibers are major factors for this effect, causing increase of weight in the liver and the pancreas. Thus, the present study was made in order to quantify the digestive organs enlargement (liver, pancreas and small intestine) of rats fed diets with increasing additions of 5.0% (control group), 10.0%, 12.5% and 15.0% of dietetic fibers and resistant starch to the diets containing casein as protein source, with the same proportion of insoluble, soluble and resistant starch found in the beans (8: 3: 1). The diet containing cooked common bean as protein source contained 11.9% of dietetic fibers and 1.0% of resistant starch. Sixty male growing rats of the Wistar strain with 21 to 23 days-old were randomly divided in 6 groups. The animals had free access to water and food during the 14 days of biological assay (4 days of adaptation and 10 of experiment). Groups maintained on the common bean diet and casein diet with increasing addition of dietetic fibers showed an enlargement of small intestine, liver and pancreas as compared ($p<0.05$) to the rats fed the casein diet (control group), with an increase in the length and weight of the small intestine and in the liver and pancreas weight of: 47.12%, 33.42%, 25.14% e 50.00% respectively, for rats fed the common bean diet (CB) and 21.43% for the rats fed the casein plus 15.0% of dietetic fibers and resistant starch (C15.0%). In relation to small intestine thickness, there was no statistical differences ($p>0.05$) among the groups. Diet containing cooked common bean as protein source increased organs weight and the small

intestine length and the casein diet with 15.0% of dietetic fibers and resistant starch increased the pancreas weight.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Phaseolus* compreende todas as sementes conhecidas como feijão. O feijão-comum da espécie *Phaseolus vulgaris*, L. é a variedade mais consumida, atingindo 14,9 kg per capita/ ano no Brasil e 22,0 Kg no México. Anualmente, a produção mundial é de, em média, 12 milhões de toneladas de feijão-comum. Dessa produção, 81% concentram-se nos países tropicais, sendo que o Brasil lidera a produção e consumo dessa leguminosa, embora seu consumo tenha reduzido em 36% entre a década de 1970 e 1990. É um alimento bastante consumido, principalmente, em virtude de ser relativamente barato (JONES, 2005; LAJOLO & MENEZES, 2001). O feijão-comum contém aproximadamente 60% de carboidratos, sendo 2/3 na forma de amido e desses, 18% são amido resistente, 16 a 33% de proteínas e uma pequena quantidade de lipídeos, 1 a 3%, predominando o ácido linoléico, embora ele também tenha ácido linolênico em base seca. Possui, ainda, considerável quantidade de fibras dietéticas, sendo 4% solúveis e 13% insolúveis, minerais como cálcio, ferro, fósforo, potássio e magnésio, e vitaminas como folato, tiamina e niacina (REHMAN et al., 2001; MESSINA, 1999; HUGHES, 1991; UEBERSAX et al., 1991). Ele é considerado uma importante fonte de energia e nutrientes, especialmente para populações de países em desenvolvimento (SHIGA e al., 2003). Alguns autores identificam-no como sendo a carne do pobre. O feijão complementa a qualidade e valor biológico (percentual de nitrogênio absorvido que foi retido) das proteínas dos cereais (GONZÁLEZ, 2000).

A qualidade nutricional das proteínas do feijão é diminuída pela quantidade limitante de aminoácidos sulfurados, pela estrutura compacta de proteínas nativas do feijão, que pode resistir à proteólise, pela baixa biodisponibilidade desses aminoácidos, pela presença de substâncias tóxicas e antinutricionais, que podem modificar a digestibilidade e alterar a liberação dos aminoácidos e elevar a excreção de nitrogênio endógeno e pela interferência na digestão e absorção de nutrientes causada por substâncias não protéicas (CARBONARO et al., 2000; CHIARADIA et al., 1999; OLIVEIRA et al., 1999; CARBONARO et al., 1997; FRIEDMAN, 1996; SGARBIERI, 1996; DOMENE & OLIVEIRA, 1993; MARLETTA et al., 1992; LANFER MARQUEZ & LAJOLO, 1991; LANFER MARQUEZ & LAJOLO, 1990; OLIVEIRA & SGARBIERI, 1986). O feijão contém componentes tais como: compostos fenólicos e carboidratos, os quais se ligam a proteínas, formando compostos indigeríveis, que influenciam na utilização de aminoácidos e a excreção de nitrogênio endógeno (MONTAGNE et al., 2003; CARBONARO et al., 2000; FRIEDMAN, 1996).

O tratamento térmico inativa grande parte das substâncias antinutricionais com maior ou menor intensidade, aumentando a digestibilidade da proteína e aminoácidos e, conseqüentemente, melhorando o valor nutritivo do feijão (OLIVEIRA & SGARBIERI, 1986). No entanto, essa melhoria está relacionada com fatores como temperatura, tempo de cocção, tamanho das partículas, quantidade de água adicionada para o cozimento e condições de armazenamento (WU et al. 1994).

NASCENTES (1996) verificou que o feijão-comum é responsável por um aumento do comprimento e do peso do intestino delgado de ratos, entretanto, não verificou se há aumento do fígado e do pâncreas desses animais e o fator responsável por este efeito trófico. Desta forma, este estudo objetivou verificar se as dietas, cuja fonte protéica era caseína acrescida de fibras dietéticas e amido resistente, com as mesmas proporções (8: 3: 1) de insolúvel, solúvel e amido resistente encontradas no feijão-comum, ocasiona aumento de órgãos digestórios dos ratos, especialmente do intestino delgado, do fígado e do pâncreas, utilizando-se 60 ratos *Wistar* machos recém-desmamados (21-23 dias), divididos em 6 grupos, sendo os ratos de um deles mortos antes do início do período de adaptação (padrão de referência) e os demais alimentados durante 14 dias com dietas experimentais compostas por feijão-comum cozido e caseína adicionada de 5,0%, 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas e amido resistente, simulando quantitativamente, quanto à solubilidade e proporção encontrada na leguminosa. A dieta de caseína comercial acrescida de 5,0% de fibras dietéticas e amido resistente foi utilizada como dieta controle.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Verificação se as dietas, cuja fonte protéica era a caseína com adições crescentes de fibra dietética e amido resistente, contendo as mesmas proporções (8: 3: 1) de insolúvel, solúvel e amido resistente encontradas no feijão-comum, ocasionam aumento de órgãos digestórios dos ratos, especialmente, do intestino delgado, fígado e pâncreas.

2.2 Objetivos Específicos

- Preparação de dietas cuja fonte protéica era o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) cozido e caseína acrescida de uma mistura de 5,0% (grupo controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas e amido resistente, com as mesmas proporções de insolúvel, solúvel e amido resistente encontradas no feijão;
- Verificação do comprimento, peso e espessura do intestino delgado e dos pesos do fígado e pâncreas dissecados de ratos Wistar após ensaio de 14 dias, alimentados com as dietas experimentais;

-
- Cálculo das relações entre os órgãos dissecados e o peso corporal dos ratos para efeitos comparativos e comparação dos resultados obtidos para os ratos alimentados com dieta, cuja fonte protéica era feijão-comum cozido àqueles cuja fonte protéica era caseína acrescida das crescentes adições de fibras dietéticas e amido resistente;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Efeito trófico de alimentos em órgãos digestórios

Os tecidos do trato gastrintestinal são muito sensíveis a alterações qualitativas e quantitativas na dieta. A dieta e as secreções endógenas no intestino delgado superior são importantes em alterações na mucosa intestinal (KLURFELD, 1999). KLEIN & MCKENZIE (1983) observaram que o aumento da nutrição em nível luminal, acompanhado por mudança hormonal local e sistêmica, geralmente eram considerados como fatores básicos responsáveis por um efeito trófico intestinal e aumento da atividade de enzimas da mucosa.

A renovação celular no trato gastrintestinal é extremamente rápida, com completa substituição a cada 3,5 dias em humanos e 11 horas em ratos (KLURFELD, 1999). JUNQUEIRA & CARNEIRO (1999) verificaram que a renovação do epitélio intestinal ocorre com grande rapidez, graças à alta atividade mitótica das células da porção basal das glândulas. As células assim formadas deslizam em direção aos vilos, subindo por eles, morrendo por apoptose e desprendendo-se na extremidade dos vilos. O controle da renovação celular é complexo e multifatorial, porém o fator mais importante é a nutrição em nível luminal ou trabalho intestinal, no qual a presença de nutrientes estimula o crescimento da mucosa. Diversos fatores estão envolvidos nesse efeito estimulatório, dentre os quais se destacam: distensão mecânica da parede do trato digestório, constituintes do alimento com efeito trófico, como as fibras dietéticas, e liberação pós-prandial de hormônios (KLURFELD, 1999;

NASCENTES, 1996). Todos esses fatores exercem efeito significativo tanto no metabolismo intestinal como em efeito trófico na renovação celular (TASMAN-JONES et al., 1982). O estímulo para crescimento da mucosa pode ocorrer diretamente através da ação de alguns nutrientes, como glutamina e fibras dietéticas, e ácidos graxos de cadeia curta, ou indiretamente, através de hormônios e/ou agentes locais, como o fator de crescimento epitelial (EGF), hormônio de crescimento (GH), insulina e fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF 1 e IGF 2), que são liberados no intestino delgado, devido à presença de glutamina na dieta, estão presentes nas secreções gastrintestinais e na mucosa e são responsáveis pelo aumento da superfície absorptiva através da regulação da proliferação e diferenciação. A glutamina é o precursor essencial para a biossíntese de purinas e pirimidinas, além de ser a principal fonte energética para os enterócitos, por ser facilmente hidrolisável (SASAKI et al., 2002; WAITZBERG et al., 2000; KLURFELD, 1999; WIRÉN et al., 1998; DRUCKER et al., 1996).

O epitélio intestinal possui receptores para IGFs e o IGF 1 estimula o crescimento do intestino delgado e a adaptação da mucosa (DRUCKER et al., 1996). Estudos *in vitro* em células da mucosa intestinal de ratos e humanos mostraram que os IGFs 1 e 2 estimulam a absorção da glicose e de aminoácidos, a síntese protéica e o aumento das células.

Vários hormônios influenciam a síntese de proteínas e a proteólise nos tecidos. Dentre eles devem ser destacados o hormônio de crescimento, a insulina, a testosterona, o hormônio estimulador da tireóide e os glicocorticóides. O

hormônio de crescimento e a testosterona exercem uma ação anabólica estimulando a síntese de proteínas. O hormônio de crescimento provoca, ainda, um abaixamento na concentração de aminoácidos livres do plasma, possivelmente, causando um aumento da permeabilidade das membranas celulares aos aminoácidos (WIRÉN et al. 1998). Efeito semelhante ao desse hormônio é exercido pela insulina e epinefrina. Tem sido sugerido que a epinefrina poderia agir como uma substância efetora na síntese de proteínas, isto é, os efeitos dos outros hormônios seriam mediados por ela (WAITZBERG et al., 2000).

Os hormônios intestinais estimulam a produção de poliaminas (putrecina, espermidina e espermina) ligadas à proliferação celular (WAITZBERG et al., 2000).

Os peptídeos intestinais derivados do proglucagon (PGDPs), incluindo glicetina, oxintomodulina, *glucagon-like peptides* (GLP-1 e GLP-2) são sintetizados nas células L do intestino delgado e grosso, sendo secretados nestes órgãos após a ingestão alimentar, especialmente de compostos indigeríveis pelas enzimas de mamíferos, como as fibras dietéticas (WAITZBERG et al., 2000; THULESEN et al., 1999; DRUCKER et al., 1996).

Evidências experimentais, tanto de estudos em roedores quanto em humanos, associaram o crescimento e a adaptação intestinal ao aumento de produção e secreção de PGDPs intestinais. O GLP-2 é o PGDP intestinal com atividade intestinoatrófica significativa, induzindo proliferação epitelial da mucosa do estômago e intestinos delgado e grosso por estimulação da proliferação de células da cripta e inibição da apoptose de enterócitos (THULESEN et al., 1999).

A presença de alimentos no trato intestinal influencia, ainda, a composição e função de sua microbiota, libera hormônios intestinais (gastrina, colecistocinina (CCK), polipeptídeo inibidor gástrico (GIP), somatostatina, etc) e estimula as secreções intestinais, pancreáticas (tripsina, quimotripsina, amilase, secretina, etc) e biliar (WAITZBERG et al., 2000). GE & MORGAN (1993) sugeriram um efeito trófico da CCK em ratos, que em níveis plasmáticos elevados atuaria estimulando o crescimento da mucosa do intestino delgado e a resposta adaptativa do pâncreas à dieta. Ela é freqüentemente considerada como principal fator intestinal para adaptação pancreática à dieta.

Mudanças dietéticas induzem importantes modificações na fisiologia das secreções pancreática e biliar em ratos (CORRING et al., 1989). A biossíntese das enzimas pancreáticas é rapidamente adaptada à quantidade dos vários componentes da dieta, entre eles as fibras dietéticas, e alcança um “plateau” quando a dieta é mantida por diversas refeições (NASCENTES, 1996). O trato gastrintestinal pode aumentar em comprimento e diâmetro, havendo expansão tanto da mucosa, quanto da camada muscular em resposta a um estímulo (KLURFELD, 1999).

O consumo de feijão-comum cozido causa efeito trófico nos tecidos intestinais de ratos nos quais há um aumento da massa celular e do conteúdo de proteínas, RNA e DNA (PIRMAN et al., 2004; NASCENTES, 1996). Vários fatores podem estar envolvidos nesse efeito trófico, tais como: fibras dietéticas e alterações hormonais. A parede celular de polissacarídeos e substâncias que resistem à digestão, como o amido resistente, podem afetar o funcionamento de

todo o trato digestório e, de certa forma, modificar os processos metabólicos nos quais os intestinos estão envolvidos. As fibras dietéticas podem agir de várias maneiras, como no aumento da viscosidade no intestino delgado, provocando aumento dos tecidos intestinais, no conteúdo de DNA em ratos e no aumento da dificuldade de absorção de nutrientes (COSTA, 2005).

Em animais bem nutridos, o crescimento da mucosa intestinal é acelerado, pois o intestino delgado de mamíferos sofre adaptações estruturais e funcionais em resposta à má nutrição e alterações na composição da dieta. Tanto a proliferação celular como a morfologia das vilosidades são influenciadas por dietas ricas em fibras. Alguns estudos constataram que as fibras dietéticas do feijão-comum cozido exerciam efeito trófico no intestino delgado, com alteração do seu peso e comprimento (PIRMAN et al., 2004; McCULLOUGH et al., 1998; BRUNSGAARD & EGGUM, 1995; IKEGAMI et al., 1990).

3.1.1 Digestibilidade das proteínas do feijão

As proteínas e peptídeos que passam do estômago são hidrolisados no intestino delgado por proteases pancreáticas (tripsina, quimotripsina, elastase, peptidases, carboxipeptidases A e B). As peptidases podem contribuir para a hidrólise antes da absorção de aminoácidos, di e tripeptídeos, quando dissolvidas nas vilosidades intestinais. A absorção das proteínas alimentares ocorre basicamente no jejuno proximal, embora o íleo tenha considerável capacidade digestória e absorviva. O maior sítio de assimilação da proteína endógena

(secreção intestinal, proteínas plasmáticas e de células descamadas) encontra-se no intestino posterior (NASCENTES, 1996).

As proteínas das sementes de feijão são menos clivadas pelas endopeptidases digestórias dos mamíferos e são freqüentemente menos digeríveis que as proteínas de origem animal. Como fatores responsáveis têm-se: a estrutura primária, conteúdo de aminoácidos e conformação da proteína e a presença de alguns fatores nutricionais, como a presença de fibras dietéticas e de substâncias semelhantes a elas (NIELSEN, 1991).

A baixa digestibilidade das proteínas do feijão-comum cozido é atribuída a vários fatores, entre eles: 1) formação de complexos enzimas-proteínas resistentes como proteína-tanino, proteína-fibra dietética e proteína-fitato; 2) inibição parcial direta de enzimas digestórias por fitatos ou compostos fenólicos residuais; 3) formação ou seqüência de aminoácidos desfavoráveis da proteína; 4) interação proteína-proteína ou proteína-carboidrato durante o tratamento térmico (COSTA, 2005; NASCENTES, 1996; LANFER MARQUEZ & LAJOLO, 1991).

No duodeno, além das proteínas dietéticas, há proteínas endógenas provenientes de secreções digestórias, incluindo enzimas e muco e proteínas da descamação intestinal. As proteínas endógenas presentes no duodeno são hidrolisadas e absorvidas pelos mesmos mecanismos que as dietéticas. Segundo SANTORO et al. (1999), a incorporação de proteínas vegetais nos substitutos de leite aumentou a quantidade de proteína no jejuno e íleo de ratos alimentados com faseolina pura, uma globulina do feijão. Uma possível explicação foi que os peptídeos não digeridos saturaram os sítios de absorção envolvidos no transporte

de aminoácidos, di e tripeptídeos através da membrana mucosa. Os peptídeos dietéticos podem interagir com o intestino e serem responsáveis pelo aumento das secreções endógenas quando da ingestão de proteínas vegetais. A faseolina nativa e/ou fragmentos a ela relacionados podem escapar da digestão ligando-se ao epitélio do intestino delgado. Eles podem agir como segretagogos naturais, estimulando a secreção de proteínas endógenas, especialmente mucina na mucosa (MONTAGNE et al., 2003).

3.1.2 Fibras Dietéticas

As fibras dietéticas são constituídas por ampla variedade de substâncias com diferentes propriedades físicas, químicas e fisiológicas e apresentam diversas características. Consideram-se fibras dietéticas os polissacarídeos resistentes à hidrólise por enzimas no trato digestório humano (MATTOS & MARTINS, 2000).

As fibras possuem diferentes propriedades físicas e vários efeitos fisiológicos, podendo ser classificadas conforme a hidrossolubilidade, viscosidade, capacidade de reter água e ligar-se a minerais e moléculas orgânicas. A principal característica para sua classificação baseia-se na hidrossolubilidade (Tabela 1). Desta forma, podem ser classificadas em fibras solúveis (pectina, gomas, mucilagens e hemicelulose do tipo A) e insolúveis (lignina, celulose e hemicelulose do tipo B) - (COPPINI et al., 2002; CANDELA et al., 1997; STARK & MADAR, 1994; HUGHES, 1991).

Tabela 1 - Classificação das fibras e substâncias semelhantes às fibras

Fibras	Fibras Solúveis	Pectinas
		Gomas
		Mucilagens
		Hemicelulose (Tipo A)
Substâncias Semelhantes às Fibras	Fibras Insolúveis	Lignina
		Celulose
		Hemicelulose (Tipo B)
		Inulina
	Maioria hidrossolúvel	Frutooligossacarídeos
		Amido Resistente
		Açúcares não absorvíveis

Fonte: adaptado de ROBERFROID (1993)

A recomendação atual de ingestão de fibras é de 25 a 30 g/dia para adultos ou 10 a 13 g para cada 1000 kilocalorias ingeridas, dos quais 70 a 75% deverão ser de fibra insolúvel e 25 a 30% de solúvel. Para crianças acima de 2 anos de idade, recomenda-se a regra da aplicação da “idade + 5 g” (COPPINI et al., 2002).

No Brasil, durante a década de 1970, o feijão contribuía com aproximadamente 9,1 g de fibras do total de 19,3 g ingeridos diariamente. Esse valor diminuiu para 6,8 g das 16,0 g de fibras/ dia durante a década de 1980 e 5,8

g das 12,4 g de fibras/dia na década de 1990, possivelmente devido a alterações dos hábitos alimentares e do estilo de vida (LAJOLO & MENEZES, 2001).

As fibras exercem vários efeitos fisiológicos no trato gastrointestinal, tais como: (1) aumento do bolo fecal e aceleração do tempo de trânsito intestinal; (2) ligação a ácidos biliares; (3) degradação de ácidos graxos de cadeia curta no intestino grosso e (4) aumento da viscosidade no lúmen intestinal e lentificação da digestão e absorção (HUGHES, 1991). As implicações fisiológicas e nutricionais dependerão do nível de polissacarídeos complexos presentes nas plantas, da composição química e estrutural deles, assim como suas propriedades físicas. Solubilidade em água, tamanho das partículas e capacidade de reter água são alguns dos fatores relacionados aos efeitos das fibras dietéticas no trato gastrointestinal (HANSEN et al., 1992).

Os tratamentos térmicos podem alterar os teores de fibras dietéticas solúveis e insolúveis de um alimento. REHINAN et al. (2004) e KUTOS et al. (2003) observaram que a maceração aumentou o teor de fibra solúvel e diminuiu o de insolúvel, enquanto que o cozimento diminuiu o teor de solúvel e aumentou o de insolúvel. Desta forma, os autores concluíram que os processos térmicos reduziram consideravelmente o teor de fibras insolúveis e conseqüentemente de fibras totais.

A presença de fibras dietéticas (mistura vegetal, aveia ou celulose) na dieta aumenta o crescimento do intestino delgado. A proliferação das células e a morfologia das vilosidades são influenciadas pelos polissacarídeos que não são amidos. O efeito dos componentes da fibra na determinação da estrutura e

morfologia intestinal é uma ação aditiva da fibra sobre a bile, sua composição e a função microbiana sobre a produção de polipeptídeos regulatórios. Entre todos os componentes da fibra dietética, a pectina parece ter um efeito metabólico mais marcante (JALALI, 1992). SOUTHON et al. (1985) alimentaram ratos Wistar com dieta comercial e dieta semi-sintética e, através da técnica baseada na incorporação da L-[4-³H] – fenilalanina nos tecidos do intestino delgado e do fígado, após a injeção intraperitoneal do isótopo, determinaram o índice da divisão celular da mucosa e a síntese da proteína. Os valores obtidos eram maiores nos animais em dieta comercial. Os autores relataram que a razão deste aumento não estava clara, mas podia estar relacionada à presença de polissacarídeos não absorvidos ou a outros materiais complexos da planta existentes na dieta comercial, e que a adição de celulose fina à dieta livre de fibra não parecia estimular a divisão celular da mucosa.

McDONALD et al. (2001), ELSENHANS & CASPARY (2000), BRUNSGAARD & EGGUM (1995), BRUNSGAARD et al. (1995), ZHAO et al. (1995) e IKEGAMI et al. (1990) observaram em ratos que certas fibras dietéticas podiam prejudicar a digestão e absorção de vários nutrientes, entre eles as proteínas, através de alteração do trânsito e pH intestinal e da viscosidade intraluminal, modificando atividades das enzimas digestórias e interagindo com a mucosa do intestino delgado. Essa ação primária podia alterar a função fisiológica dos órgãos digestórios. Além disso, as fibras dietéticas podiam causar alterações morfológicas nas superfícies intestinais, resultando em alterações da atividade de enzimas, secreção e *turnover* de mucinas e liberação de hormônios gastrintestinais. SOUTHON et al. (1987) verificaram que a interação de fibras e

proteínas da dieta, no lúmen do intestino delgado, reduziu a digestão e absorção das últimas, tornando-as disponíveis para hidrólise no intestino grosso. Em relação às proteínas do feijão, NIELSEN (1991) verificou que as fibras dietéticas exerciam grande influência sobre sua digestão e absorção.

HANSEN et al. (1992) alimentaram ratos com dietas contendo diferentes tipos de fibras dietéticas e verificaram que as solúveis reduziram significativamente a digestibilidade protéica e causaram um aumento dos órgãos digestórios, no entanto, não exerceram grande influência na redução do valor nutritivo da proteína. MARIOTTI et al. (2001) verificaram que esse tipo de fibra pode influenciar em diferentes processos, tais como motilidade e secreções gástrica e intestinal, atividade bacteriana e glicemia pós-prandial, que podem afetar os processos digestórios e absorptivos e, conseqüentemente, a utilização de nutrientes.

A presença de fibras dietéticas no lúmen intestinal está associada a um papel central no crescimento e adaptação intestinal. O efeito trófico das fibras no intestino delgado pode ser mediado por hormônios e peptídeos regulatórios gastrintestinais, como o GLP-2 (THULESEN et al., 1999).

Segundo COSTA (2005), os aspectos envolvidos no efeito das fibras na morfologia e função intestinal devem-se, principalmente, a dois fatores: alterações do tecido epitelial do trato digestório e atividade das enzimas associadas aos processos digestórios. Qualquer dieta que cause alteração da superfície mucosa, da velocidade de trânsito, hipertrofia ou hiperplasia das células, provavelmente ocasionará mudanças na atividade enzimática associada ao intestino.

Dependendo do tipo de fibra, essas mudanças podem ser mais ou menos significativas na alteração do número de células produtoras de enzimas ou na própria célula. O mesmo autor salientou, ainda, que estudos com animais, nos quais foram mensurados o comprimento e peso dos intestinos e a profundidade de suas criptas, mostraram que as fibras intensificam o desenvolvimento da mucosa no íleo.

SOUTHON et al. (1987) alimentaram ratos com dieta contendo feijão cozido e atribuíram que o aumento da esfoliação da mucosa foi em virtude da sua quantidade de fibra. Há evidências de que mudanças similares ocorrem em animais alimentados com dietas ricas em fibras dietéticas e substâncias semelhantes às fibras. O consumo de pectina parece estar associado à hiperplasia da cripta do intestino delgado de ratos (JALALI, 1992).

Dietas contendo fibras dietéticas podem aumentar o peso do pâncreas e as secreções de amilase e protease, DNA e RNA, bem como o volume de secreção biliar e excreção de ácidos biliares. A síntese e secreção de proteases excedem grandemente a quantidade, teoricamente, requerida para a hidrólise de proteínas dietéticas (PARTRIDGE et al., 1982).

A hipersecreção pancreática é observada após um período contínuo de alimentação com fibras dietéticas, podendo ser resultado de uma adaptação dos animais às fibras solúveis (CORRING et al., 1989). Os mesmos autores verificaram que o consumo de fibras não alterou a composição da bile em ratos, entretanto a celulose aumentou a quantidade de ácidos biliares no intestino delgado. O mesmo não foi verificado em relação à pectina. Além disso, essa fibra

insolúvel diminuiu o tempo de trânsito intestinal e, conseqüentemente o tempo de absorção de nutrientes e de reabsorção de ácidos biliares. Contrariamente, IDE & HORII (1989) analisaram ácidos biliares na bile e no lúmen de ratos alimentados com três tipos de dieta, sendo: 1) sem fibras; 2) contendo celulose e 3) contendo pectina. As fibras dietéticas foram adicionadas em níveis de 100 g/ kg de dieta. A dieta contendo pectina aumentou a secreção e a excreção de sais biliares no lúmen e nas fezes em relação à dieta sem fibra, o que não ocorreu no caso da daquela que continha celulose. Em relação ao pâncreas, os autores verificaram que o aumento desse órgão foi acompanhado pelo aumento de enzimas digestórias e de ácidos nucléicos.

BRUNSGAARD et al. (1995) constataram que o peso do tecido intestinal é influenciado pelo ganho de peso diário e pelo peso corporal. BRUNSGAARD & EGGUM (1995) e BRUNSGAARD et al. (1995) verificaram que o aumento do tecido gastrintestinal é influenciado por fibras dietéticas, porém não é um processo contínuo, sendo observado somente nos primeiros dias de introdução da dieta. O tempo necessário para adaptação depende da dieta e do órgão intestinal em questão. KEY et al. (1996) referiram que o intestino delgado respondia rapidamente, apresentando as maiores alterações nos nove dias iniciais e que a viscosidade não era a única propriedade físico-química das fibras responsável pela hipertrofia desse órgão. McCOLLOUGH et al. (1998) verificaram um aumento de peso de 6% no intestino delgado de ratos, cuja dieta foi suplementada com fibras dietéticas. BRUNSGAARD et al. (1995) observaram que o peso deste intestino em ratos, após 9 dias de ingestão de dieta contendo fibras solúveis, foi 19 a 37% maior quando comparado ao grupo alimentado com dieta sem fibras,

não havendo diferença significativa após 61 dias de experimento. Em relação às secreções pancreática e biliar, CORRING et al. (1989) constataram que a adaptação à dieta completou-se em 5 a 7 dias, não havendo alteração na resposta exócrina após este período. Os mesmos autores referiram que a colecistocinina era o peptídeo de maior destaque para adaptação pancreática à dieta e que ela era secretada devido a estímulo exercido por lipídeos e proteínas intactas.

3.1.3 Amido Resistente

Amido Resistente foi definido, em 1992, pelo *European Research Project on Resistant Starch* (EURESTA) como sendo a parcela do amido, ou de seus produtos de degradação, que não são absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis, podendo, entretanto, ser fermentado no intestino grosso (SALGADO et al., 2005; OSORIO-DÍAZ et al., 2004; LAJOLO & MENEZES, 2001).

O amido resistente pode ser classificado em quatro tipos: 1) amidos inacessíveis fisicamente, geralmente devido a uma encapsulação das células da parede celular, logo as enzimas digestivas não o conseguem atingir; 2) grânulos de amido naturalmente muito resistentes a α -amilase dos mamíferos. Sua resistência a enzimas é atribuída à forma compacta e estrutura parcialmente cristalina dos grânulos; 3) amidos que foram modificados pelo tratamento térmico, estando na forma retrogradada; 4) amido com modificações em sua estrutura química (modificado quimicamente). Os tipos 1, 2 e/ou 3 podem coexistir no mesmo alimento. O feijão-comum cozido, por exemplo, possui os tipos 1 e 3 (WALTER et al., 2005; CHAMP et al., 2003; LOBO & LEMOS-SILVA, 2003). As

moléculas de amilose e amilopectina (Figura 1 A e B), constituintes do amido, são agrupadas formando grânulos, cuja forma, tamanho e zonas cristalinas são diferenciadas conforme a origem do amido. O amido com ligações somente do tipo α -glicosídicas, é potencialmente digerível pelas enzimas amilolíticas secretadas no trato digestório humano. Entretanto, certos fatores, tais como relação amilose: amilopectina, forma física e o tipo de processamento do amido, interação amido nutriente, teor de lipídeos, proteínas e fibra alimentar e inibidores enzimáticos, entre outros, podem influenciar a taxa na qual o amido é hidrolisado e absorvido. Assim, quantidade significativa de amido pode escapar à digestão no intestino delgado e alcançar o cólon, onde é fermentado (WALTER et al., 2005; LOBO & LEMOS-SILVA, 2003; MENEZES & LAJOLO, 2002).

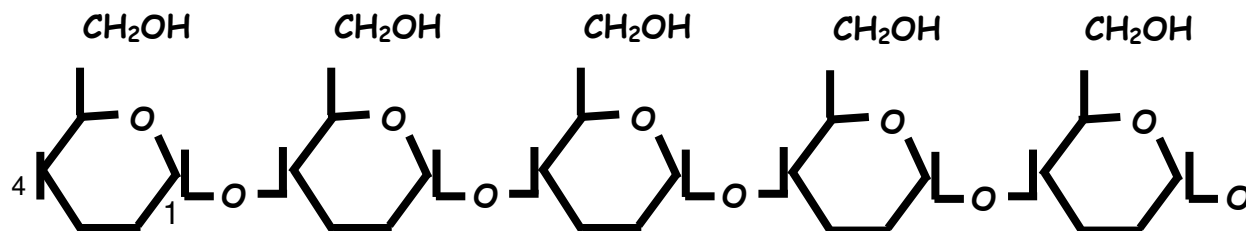


Figura 1A - Fórmula estrutural da amilose

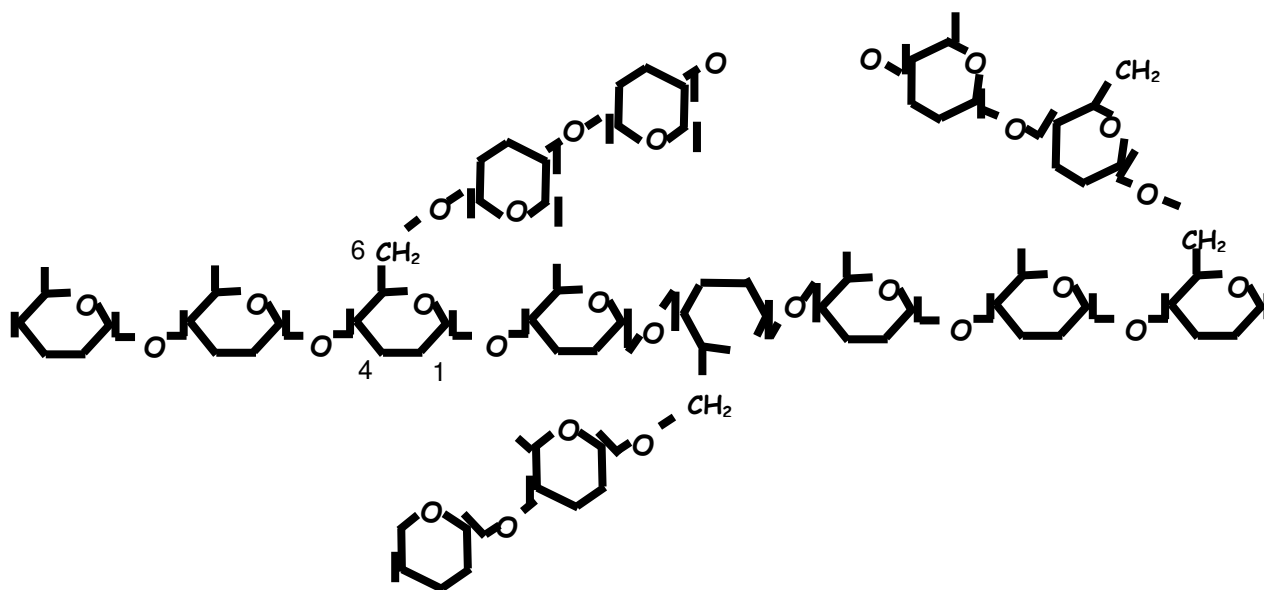


Figura 1B - Fórmula estrutural da amilopectina

A observação de que alguns amidos resistem à hidrólise por enzimas pancreáticas, podendo alcançar o intestino grosso, tem importante implicação na saúde humana. As atividades fisiológicas no intestino, especialmente o hábito intestinal, a produção de ácidos graxos de cadeia curta, o metabolismo do nitrogênio, as atividades bacteriológicas e a proliferação celular são amplamente controlados pelos carboidratos que entram no cólon, dos quais os mais

conhecidos são as fibras dietéticas. Dentre os ácidos graxos de cadeia curta, o ácido butírico é o único que exerce somente ação local, sendo responsável por aumento na proliferação de células da mucosa do íleo. A possibilidade de que o amido resistente também possa afetar estes aspectos de funcionamento do intestino é, desta forma, de grande importância (SALGADO et al., 2005).

O amido resistente está intimamente relacionado à fração fibra solúvel, devido a sua alta viscosidade e capacidade fermentativa e, consequentemente, por exercer funções semelhantes nos intestinos. BRUNSGAARD et al. (1995) observaram que ele provocou um aumento no comprimento e peso do intestino delgado de ratos, entretanto um pouco inferior ao observado na utilização de fibras solúveis. Os mesmos autores referiram que o amido resistente é hidrolisado muito lentamente no íleo distal, possibilitando uma estimulação trófica local e que este estímulo poderia ser decorrente da dificuldade de absorção.

A recomendação de ingestão diária de amido resistente ainda não está bem definida, entretanto, LAJOLO & MENEZES (2001) observaram que houve uma redução de ingestão de 5,0 g/ dia na década de 1970 para 3,4 g/ dia na década de 1990.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Fontes Protéicas

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) IAC-Carioca ETÉ, com teor protéico médio (N x 5,40) de $19,03 \pm 0,03\%$, proveniente do Centro de Grãos e Fibras do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), SP, e caseína comercial (M. CASSAB Comércio e Indústria Ltda, SP), contendo $83,34 \pm 0,64\%$ de proteína bruta, adicionada de uma mistura de quantidades crescentes (5,0%, 10,0%, 12,5% e 15,0%) de fibras dietéticas insolúvel (celulose), solúvel (pectina) e amido resistente na forma modificado quimicamente nas proporções de 8: 3: 1, respectivamente, foram utilizados como fontes protéicas para as dietas experimentais. Para a dieta controle, utilizou-se a dieta contendo caseína comercial acrescida de 5,0% da mistura (AIN-93G modificada). As proporções de fibras dietéticas adicionadas às dietas de caseína foram àquelas determinadas para a fibra do feijão-comum cozido.

4.1.2 Animais

O Projeto foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEa) do Instituto de Biologia da Unicamp, Campinas, SP. Protocolo nº 1005-1 (ANEXO 1).

Foram utilizados 60 ratos albinos machos (*Rattus norvegicus*, var. *Albinus*, *Rodentia*, *MAMMALIA*) da linhagem “Wistar” (ZFV, Hannover, Germany), recém-desmamados (21-23 dias), pesando, em média, $47,2 \pm 9,9$ g, provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), SP. Os animais foram divididos aleatoriamente em 6 grupos, sendo os ratos de um deles mortos antes do período de adaptação (zero dia de adaptação) e os demais, mantidos em gaiolas de crescimento individuais, no Laboratório de Ensaio Biológicos da Faculdade de Engenharia de Alimentos, durante todo o período experimental, com condições ambientais controladas, para manter a temperatura de $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa de 50 a 60%, com ciclo alternado de claro e escuro de 12 horas.

Os animais tiveram livre acesso à água e dieta durante todo o experimento (Figura 2). O tempo de adaptação foi de 4 dias, já se utilizando a dieta experimental. Ao final desse período, eles pesavam, em média, $64,3 \pm 11,3$ g. O experimento teve duração de 10 dias.

O peso dos ratos foi verificado na chegada dos animais ao Laboratório de Ensaio Biológicos, ao final do período de adaptação, aos 5 dias de experimento e ao final do experimento (Figura 3). A quantidade de dieta consumida foi quantificada a cada dois dias.



Figura 2 - Alimentação dos animais, com dietas contendo feijão-comum ou caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, durante 14 dias, sendo 4 de adaptação e 10 de experimento. Os animais tiveram livre acesso à água e dieta durante todo o experimento.



Figura 3 - Determinação do peso dos animais na chegada dos animais ao Laboratório de Ensaios Biológicos, ao final do período de adaptação, aos 5 dias de experimento e ao final do experimento para monitoração do crescimento dos animais

4.2 Métodos

4.2.1 Determinações químicas

4.2.1.1 Composição centesimal

4.2.1.1.1 Umidade

A umidade foi determinada por gravimetria, sendo a amostra seca em estufa a 105°C e pesada até atingir peso constante (CECCHI, 1999).

4.2.1.1.2 Cinzas

Foram determinadas pela incineração do alimento a 550 – 600°C em forno de mufla, obtendo-se o resíduo mineral fixo, conforme AOAC (1990).

4.2.1.1.3 Nitrogênio e Proteína Bruta

O conteúdo de nitrogênio total do feijão-comum e da caseína, das dietas contendo as fontes protéicas foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl (AOAC, 1990), utilizando-se sulfato de cobre (CuSO_4) e de potássio (K_2SO_4) e dióxido de titânio (TiO_2) como catalisadores da digestão das amostras (WILLIAMS, 1973).

A proteína bruta foi calculada pelo produto entre a percentagem de nitrogênio e os respectivos fatores de conversão de 5,40 para o feijão-comum (MOSSÉ, 1990) e de 6,38 para a caseína (CUNNIFF, 1995).

4.2.1.1.4 Lipídeos Totais

Foram determinados pelo método de BLIGH & DYER (1959), utilizando os solventes clorofórmio, metanol e água.

4.2.1.1.5 Fibras Dietéticas Solúvel e Insolúvel contidas no feijão-comum e nas dietas

O método utilizado foi o enzimo-gravimétrico, descrito por ASP et al. (1983), o qual determina a fibra dietética total, a solúvel e a insolúvel. Foram utilizadas as enzimas alfa-Amilase termo-resistente (120 L, Novozymes), Protease (Alcalase de Grau Alimentício, Novozymes) e Amiloglicosidase (300 L, Novozymes) para a hidrólise (ANEXO 2).

4.2.1.1.6 Carboidratos

Determinados por diferença, através da equação: $100 - (\text{proteína bruta} + \text{lipídeos totais} + \text{fibra bruta} + \text{cinzas})$.

4.2.1.1.7 Amido Resistente contido no feijão-comum e nas dietas

O método utilizado foi o proposto por FAISANT et al. (1995), consistindo em um processo enzimático, no qual se calcula o conteúdo final de amido resistente pela concentração de glicose liberada e analisada, utilizando-se os reagentes GOD-PAP, da marca Laborlab (ANEXO 3).

4.2.2 Ensaio Biológico

O ensaio teve duração de 14 dias, sendo 4 dias para adaptação e 10 dias para o experimento. Segundo BRUNSGAARD et al. (1995), HANSEN et al. (1992) e CORRING et al. (1989), este período é o ideal para que se observe alterações no peso de órgãos gastrintestinais.

O peso dos ratos foi verificado na chegada dos animais ao Laboratório de Ensaios Biológicos, ao final do período de adaptação, aos 5 dias de experimento e ao final do experimento. A quantidade de dieta consumida foi quantificada nos mesmos períodos, exceto na chegada dos animais. Ao final desse período, os ratos foram mortos por deslocamento cervical. O fígado, pâncreas e intestino delgado foram removidos. O intestino delgado foi removido a partir do piloro (junção estômago-duodeno) até a válvula ileocecal. A aferição do comprimento deste órgão foi realizada com o auxílio de uma fita métrica, segurando-o suspenso e com um peso de 5,60g preso a sua extremidade inferior para assegurar o mesmo estiramento do tecido (Figura 4). Após mensuração do comprimento, o intestino delgado foi esvaziado, lavado com 20 a 30 mL de soro fisiológico gelado,

seco cuidadosamente com gaze e seu peso mensurado (Figura 5). A espessura deste órgão foi calculada através da relação entre o peso/ unidade de comprimento do mesmo (ELSENHANS & CASPARY, 2000; KEY et al., 1996; SOUTHON et al., 1985). O fígado e o pâncreas foram lavados com soro fisiológico gelado, secos com gaze e pesados em placas de Petri previamente taradas (Figura 6). O soro fisiológico gelado foi utilizado para interromper o processo de divisão celular e para não danificar a mucosa do órgão.



Figura 4 - Determinação do comprimento do intestino delgado com o auxílio de uma fita métrica, segurando-o suspenso e com um peso de 5,60g preso a sua extremidade inferior para assegurar o mesmo estiramento do tecido



Figura 5 - Esvaziamento do conteúdo intestinal e lavagem do intestino delgado, injetando-se 20 a 30 mL de soro fisiológico gelado com o auxílio de uma seringa de 10 mL.

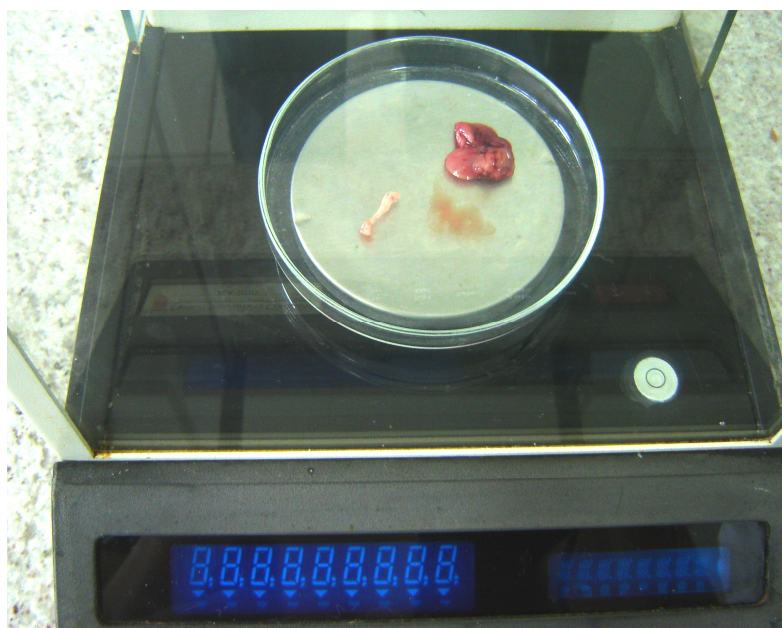


Figura 6 - Determinação do peso do fígado e do pâncreas em placas de Petri previamente taradas após lavagem com soro fisiológico gelado e secagem com gaze

4.2.2.1 Preparo das fontes protéicas

O feijão foi macerado, em temperatura ambiente (25°C), por um período de 16 horas, utilizando-se a proporção de água:feijão de 3:1, sendo, posteriormente, cozido, sem descarte da água de maceração, utilizando-se a mesma proporção, em uma panela de pressão doméstica (14.1 psi), por 40 minutos, contados a partir da saída constante de vapor pela válvula de pressão. Após a cocção, os grãos foram congelados e secos em liofilizador Terroni, modelo LH 0500. Os grãos liofilizados foram moídos em moinho de facas da marca Marconi, modelo MA 630 até a granulometria de 250 µm.

4.2.2.2 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram elaboradas, segundo as especificações do “American Institute of Nutrition”, dieta AIN - 93G (REEVES et al., 1993), com exceção do teor protéico, que foi de 12%, para que se pudessem comparar os valores nutritivos das proteínas e dos teores de fibras dietéticas das dietas de caseína, que foram de 5,0%, 10,0%, 12,5% e 15,0%, utilizando-se pectina Genu tipo 8140 (Cpkelko), celulose (microfina, grau farmacêutico, Microcel, M. CASSAB Comércio e Indústria Ltda., SP) e amido resistente na forma quimicamente modificado (Hi Maize™ 260, National Starch & Chemical). Esta adição tinha a intenção de simular o possível efeito fisiológico e/ou bioquímico da fração fibra dietética e amido resistente existente no feijão-comum em ratos, embora sabendo-se que esta é de complexidade bem maior. Os dois tipos de fibras (pectina e

celulose) foram escolhidos por serem os mais prevalentes na leguminosa em estudo (SHIGA et al., 2003; CANDELA et al., 1997). Como controle, utilizou-se a dieta contendo 12% de caseína como fonte protéica, acrescida de 5,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar a do feijão-comum. As quantidades de fibras dietéticas solúvel e insolúvel adicionadas às dietas de caseína dependeram da quantidade presente no feijão-comum e a quantidade de amido resistente dependeu do teor presente no feijão-comum e nos amidos de milho e dextrinizado. As formulações das dietas, assim como as misturas salina e vitamínica e as adições de fibras dietéticas e amido resistente, utilizadas para confecção das dietas encontram-se, respectivamente, nas TABELAS 2, 3, 4 e 5.

Todas as dietas foram completadas a 100% com uma mistura de carboidratos, para que elas se tornassem isoprotéicas ($12,0 \pm 0,2\%$) e isoenergéticas ($370,7 \pm 22,8$ Kcal/100g). Para o cálculo do valor energético, atribuíram-se 2 Kcal/g de fibra solúvel e amido resistente devido à formação de ácidos graxos de cadeia curta (SALGADO et al., 2005; CHAMP et al., 2003).

Tabela 2 - Composição das dietas (g/kg de dieta), utilizadas no ensaio*

Ingredientes	Dietas				
	Feijão - Comum	Caseína **	Caseína + 10,0% fibras	Caseína + 12,5% fibras	Caseína + 15,0% fibras
Feijão - comum	630,58	-	-	-	-
Caseína	-	144,00	144,00	144,00	144,00
Amido de milho	182,52	453,49	403,49	378,49	353,49
Amido dextrinizado	-	132,00	132,00	132,00	132,00
Sacarose	-	100,00	100,00	100,00	100,00
Óleo de soja	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00
Fibra	50,00	50,00	100,00	125,00	150,00
Mix mineral	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Mix vitamínico	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
L – cistina	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Bitartarato de colina	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Tert-butilhidroquinona	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014

(*) As dietas foram formuladas de acordo com a AIN-93G (REEVES et al., 1993), exceto para o teor protéico, que foi de 12% e para o teor de fibras dietéticas das dietas de caseína, nas quais foram adicionadas as mesmas proporções de fibras insolúveis e solúveis e amido resistente (8:3:1) encontradas no feijão-comum cozido.

(**) A dieta caseína foi acrescida de 5,0% de fibras dietéticas e amido resistente (controle)

Tabela 3 - Composição da mistura mineral utilizada na preparação das dietas, AIN-93G (REEVES et al, 1993).

Ingredientes	g/Kg de mistura
Carbonato de cálcio anidro (40,04% Ca)	357,00
Fosfato de potássio monobásico (22,76% O; 28,73% K)	196,00
Citrato de potássio, tripotássio, monohidratado (36,16% K)	70,78
Cloreto de sódio (39,34% Na; 60,66% Cl)	74,00
Sulfato de potássio(44,87% K; 18,39% S)	46,60
Óxido de magnésio (60,32% Mg)	24,00
Citrato férrico (16,5% Fe)	6,06
Carbonato de zinco (52,14% Zn)	1,65
Carbonato de manganês (47,79% Mn)	0,63
Carbonato cúprico (57,47% Cu)	0,30
Iodeto de potássio (59,3% I)	0,01
Selenato de sódio, anidro (41,79% Se)	0,01025
Paramolibdato de amônia 4 H ₂ O (54,34% Mo)	0,00795
Meta silicato de sódio 9 H ₂ O (9,88% Si)	1,45
Sulfato de potássio crômico 12 H ₂ O (10,42% Cr)	0,275
Cloridrato de lítio (16,38% Li)	0,0174
Ácido bórico (17,5% B)	0,0815
Fluoreto de sódio (45,24% F)	0,0635
Carbonato de níquel (45% Ni)	0,0318
Vanadato de amônio (43,55% V)	0,0066
Sacarose em pó	221,026

Tabela 4 - Composição da mistura vitamínica, utilizada na preparação das dietas, AIN-93G (REEVES et al., 1993)

Vitamina	g/ Kg mistura
Ácido nicotínico	3,000
Pantotenato de cálcio	1,600
Piridoxina – HCL	0,700
Tiamina – HCL	0,600
Riboflavina	0,600
Ácido fólico	0,200
D – biotina	0,020
Cianocobalamina (Vitamina B ₁₂)	2,500
Acetato de al-rac- α -tocoferol (Vitamina E)	15,000
Palmitato de al-trans-retinil (Vitamina A)	0,800
Colecalciferol (Vitamina D ₃)	0,250
Filoquinona (Vitamina K)	0,075
Sacarose em pó	974,655

Tabela 5 - Adições de celulose, pectina e amido resistente às dietas em porcentagem e em gramas por quilo (Kg) de dieta.

Adições (%)	Fibras nas dietas com caseína (%)	Quantidade de fibras nas dietas com caseína (g/Kg)
5,00	3,38 celulose	33,8
	1,19 pectina	11,9
	0,43 amido resistente	4,3
10,00	6,77 celulose	67,7
	2,38 pectina	23,8
	0,85 amido resistente	8,5
12,50	8,46 celulose	84,6
	2,97 pectina	29,7
	1,07 amido resistente	10,7
15,00	10,15 celulose	101,5
	3,57 pectina	35,7
	1,28 amido resistente	12,8

4.3 Tratamento Estatístico

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de confronto de médias de Tukey, usando o programa Software STATISTICA 7.0, considerando $p < 0,05$ como probabilidade mínima aceitável para diferença entre as médias.

5 Resultados e Discussão

5.1 Composição química do Feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.)

A composição centesimal do feijão-comum cozido e liofilizado, utilizado como fonte protéica no presente estudo, foi: umidade ($5,10 \pm 0,13$) e cinzas ($3,45 \pm 0,03$). Quantitativamente, o feijão em estudo é considerado boa fonte de proteínas ($N \times 5,40$) e carboidratos (obtidos por diferença), apresentando $19,03 \pm 0,03$ e $68,36 \pm 0,37$, respectivamente; caracteristicamente, os grãos de feijão contêm uma pequena quantidade de lipídeos totais ($2,80 \pm 0,06$) e moderado teor de fibra bruta ($6,36 \pm 0,40$). Os valores estão expressos em base seca, em g/100g e representam a média e o desvio-padrão para $n=6$. Os resultados encontrados assemelham-se aos de COSTA et al. (2006), QUEIROZ-MONICI et al. (2005) e OLIVEIRA et al. (2005), quando da utilização do mesmo cultivar. Esse cultivar de feijão apresentou um valor protéico semelhante ao encontrado na literatura, na qual os valores variam entre 16 e 33% (CHIARADIA et al., 1999). O feijão foi cozido utilizando a água de maceração, para uma maior preservação dos nutrientes. HELBIG et al. (2003) não verificaram diferença significativa no conteúdo de fitato e tanino, considerados fatores antinutricionais, em dietas contendo feijões cozidos com ou sem a água de maceração.

5.2 Fibra Dietética Total, Insolúvel e Solúvel e Amido Resistente

Os teores de Fibra Dietética Total (FDT), Insolúvel (FDI) e Solúvel (FDS) e Amido Resistente (AR) no feijão-comum cozido e liofilizado e nas dietas estão representados na Tabela 6. Os valores de fibras dietéticas e amido resistente encontrados para o feijão cozido e liofilizado e os valores de fibras dietéticas para a dieta, cuja fonte protéica era o feijão, estão em concordância com aqueles encontrados por COSTA et al. (2006), QUEIROZ-MONICI et al. (2005) e KUTOS et al. (2003). Segundo OSORIO-DÍAZ (2004), os níveis de fibras dietéticas totais no feijão-comum cozido variam entre 11,2 e 27,5% e de amido resistente entre 2,24 e 3,49%, dependendo do tempo de estocagem da preparação. Esses teores foram reduzidos significativamente quando o feijão foi misturado aos demais constituintes da dieta.

Tabela 6 - Fibra Alimentar Total (FDT), Insolúvel (FDI) e Solúvel (FDS) e Amido Resistente (AR) no feijão-comum cozido e liofilizado e nas dietas (g/100g).

	Leguminosa		Dietas*			
	FC	FC	C5,0%**	C10,0%	C12,5%	C15,0%
FDT	25,1 ± 0,26	11,9 ± 0,70	4,6 ± 0,15	8,3 ± 1,06	11,0 ± 0,58	12,8 ± 0,67
FDI	18,5 ± 0,37	9,4 ± 0,87	3,3 ± 0,19	6,3 ± 0,46	8,5 ± 0,09	10,2 ± 0,26
FDS	6,6 ± 0,58	2,5 ± 0,19	1,3 ± 0,20	2,0 ± 0,62	2,5 ± 0,64	2,6 ± 0,88
AR	2,3 ± 1,23	1,0 ± 0,08	0,9 ± 0,03	1,0 ± 0,06	1,1 ± 0,04	1,3 ± 0,03

Os valores representam a média e desvio-padrão para n=3

*FC = Feijão-comum, C5% = Caseína + 5,0 % de fibras dietéticas, C10% = Caseína + 10,0 % de fibras dietéticas, C12,5% = Caseína + 12,5 % de fibras dietéticas, C15,0% = Caseína + 15,0 % de fibras dietéticas

Fibras dietéticas de solubilidade similar às do feijão-comum

** Caseína + 5,0% de fibras dietéticas e amido resistente (controle)

FDT = Fibras Dietéticas Totais, FDI = Fibras Dietéticas Insolúveis, FDS = Fibras Dietéticas Solúveis, AR = Amido Resistente.

Os teores de fibras solúvel e insolúvel no feijão-comum variam dependendo do tipo de cultivar, condições de cultivo do grão, do método analítico aplicado para determinação e dos tratamentos prévios do feijão. A fibra solúvel é mais sensível a essas alterações (KUTOS et al., 2003; GONZÁLEZ, 2000). Os teores de fibras dietéticas e amido resistente encontrados no feijão-comum foram praticamente reduzidos 50%, quando este foi misturado aos demais componentes da dieta.

Nas dietas cuja fonte protéica era caseína, as adições de fibras dietéticas de solubilidade similar às encontradas no feijão-comum foram crescentes, partindo de 5,0% (dieta controle) até 15,0%, valores escolhidos para ser comparável à dieta cuja fonte protéica é o feijão-comum, que apresentou 12,9% de fibras dietéticas e amido resistente.

A relação entre os valores de fibras insolúveis/ solúveis demonstrou que houve prevalência de insolúveis, o qual representou 74% das fibras dietéticas totais, semelhante à encontrada por COSTA et al. (2006), QUEIROZ-MONICI et al. (2005) e GONZÁLEZ (2000).

5.3 Ensaio Biológico

O peso inicial e final, o ganho de peso e o consumo de dieta dos animais após 10 dias de experimento podem ser visualizados na Tabela 7. Em relação ao peso inicial e final (Figura 7), verificou-se que os ratos que ingeriram dieta contendo feijão-comum apresentaram peso inferior aos ratos dos demais grupos, tanto inicial quanto final. Os animais foram distribuídos nos grupos aleatoriamente, logo não foi possível a interferência sobre o valor da média de peso de cada grupo.

Semelhante ao resultado observado por COSTA (2005) e NASCENTES (1996), o peso inicial dos ratos que receberam dietas contendo caseína acrescida de 10,0% e 12,5% de fibras dietéticas e amido resistente diferiram do controle. Essa diferença indica a não homogeneidade dos animais fornecidos pelo Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica da Universidade Estadual de Campinas. O peso inicial não interferiu no peso final entre os animais que receberam dietas contendo caseína com diferentes adições de fibras dietéticas e amido resistente, visto que não houve diferença estatística para peso final entre eles, em concordância aos resultados obtidos por SCHNEEMAN & RICHTER (1993).

As médias do ganho de peso total e da ingestão de dieta podem ser visualizadas na Figura 8. Verificou-se que a média de ingestão diária variou de 9,63 g de dieta/ rato/ dia para a dieta cuja fonte protéica era o feijão-comum cozido a 13,64 g de dieta/ rato/ dia para a dieta de caseína acrescida de 12,5% de fibras dietéticas e amido resistente. Tanto para o ganho de peso quanto para a ingestão de dieta, constatou-se que os ratos que consumiram dietas cuja fonte protéica era caseína não diferiram estatisticamente entre si, entretanto diferiram estatisticamente do grupo alimentado com dieta contendo feijão-comum como fonte protéica. ONYEIKE et al. (1995) referiram que o ganho de peso está diretamente relacionado à habilidade dos ratos em utilizar os nutrientes e que quanto melhor for o balanço de aminoácidos da proteína, melhor será a sua utilização.

A diferença estatística entre o grupo que recebeu dieta contendo feijão e aqueles que receberam dietas contendo caseína com diferentes adições de fibras dietéticas e amido resistente pode ter ocorrido devido à digestibilidade e ao valor biológico das proteínas do feijão serem mais baixos (COSTA, 2005; RUBIO et al, 1999; LANFER MARQUEZ & LAJOLO, 1991) e ao aumento de secreção de CCK, que está associada à saciedade tanto em humanos quanto em animais (BOURDON et al., 2001). Segundo CHIARADIA et al. (1999) e SANTORO et al. (1999), a digestibilidade das proteínas do feijão, em ratos, situa-se entre 40 e 70%. Em humanos, esta digestibilidade é ainda menor atingindo não mais que 60% do nitrogênio ingerido.

Na Figura 9, observa-se que os ratos alimentados com dietas contendo caseína apresentaram crescimentos ponderais estatisticamente iguais, diferindo somente do grupo alimentado com dieta contendo feijão-comum, cujo crescimento foi inferior. O menor ganho de peso apresentado pelos animais que receberam dieta contendo feijão pode estar relacionado ao menor consumo de dieta apresentado por esse grupo e ao menor valor biológico das proteínas do feijão. O ganho de peso aumentou linearmente em todos os grupos durante o experimento, em concordância com o observado por BRUNSGAARD & EGGUM (1995). Os resultados obtidos mostram que as adições crescentes de fibras dietéticas às dietas não alteraram o desempenho do crescimento dos animais, semelhante ao observado por PIRMAN et al. (2004).

Tabela 7 - Pesos inicial e final (g), ganho de peso (g) e consumo de dieta após 10 dias de experimento.

Grupos	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Ganho de	Consumo de
Experimentais			Peso (g)	Dieta (g)
Feijão	55,92 ± 8,44 ^a	83,79 ± 7,24 ^a	27,87 ± 4,28 ^a	96,32 ± 11,84 ^a
Caseína + 5,0%	64,95 ± 6,50 ^{ab}	114,64 ± 7,74 ^b	49,69 ± 4,60 ^b	128,18 ± 21,86 ^b
Caseína + 10,0%	71,46 ± 9,91 ^b	123,59 ± 13,97 ^b	52,13 ± 5,33 ^b	135,10 ± 18,41 ^b
Caseína + 12,5%	69,02 ± 10,28 ^b	119,49 ± 12,09 ^b	50,47 ± 6,68 ^b	136,45 ± 16,11 ^b
Caseína + 15,0%	64,88 ± 6,42 ^{ab}	118,31 ± 9,69 ^b	53,43 ± 5,32 ^b	136,17 ± 13,13 ^b

Caseína + 5,0% de fibras dietéticas e amido resistente é a dieta controle

Os dados representam a média e o desvio-padrão para n=10

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$), segundo Teste de Tukey.

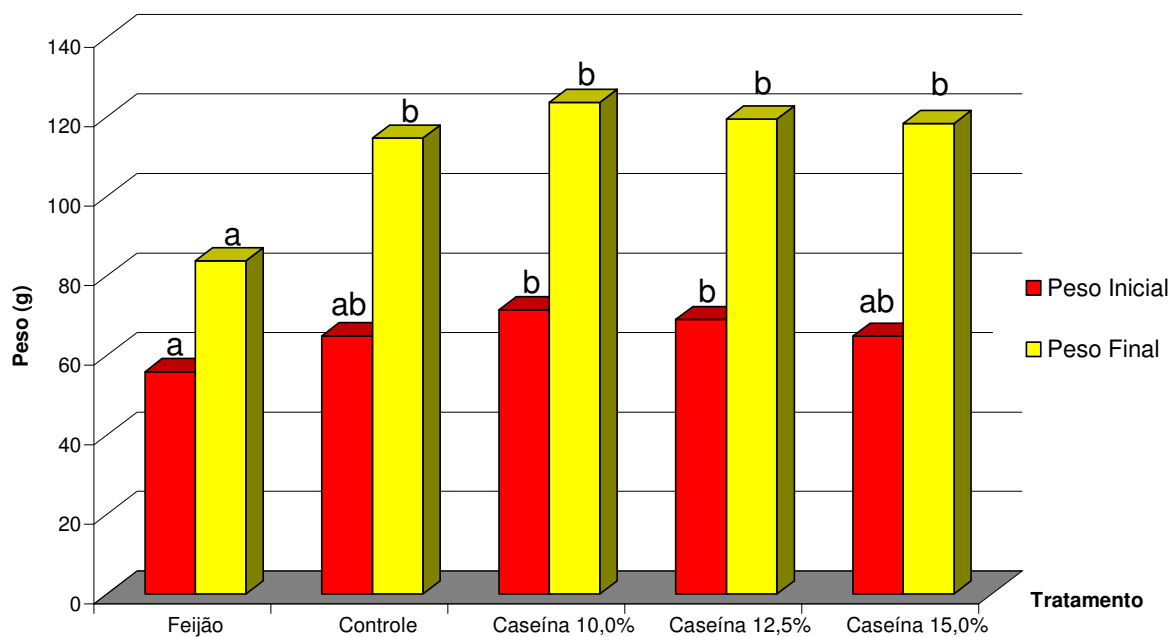


Figura 7 - Peso inicial e final de ratos em dietas cujas fontes protéicas eram feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.

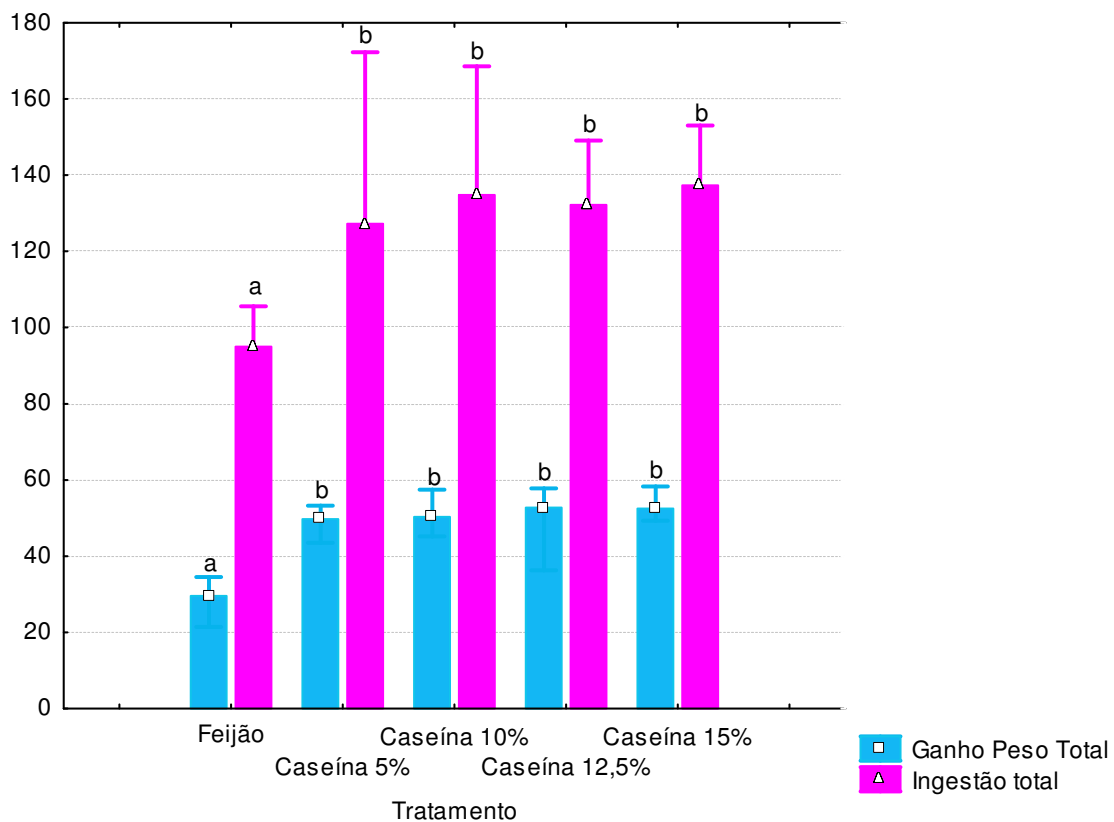


Figura 8 - Ganho de peso e consumo de dieta de ratos em dietas cuja fonte protéica é o feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.

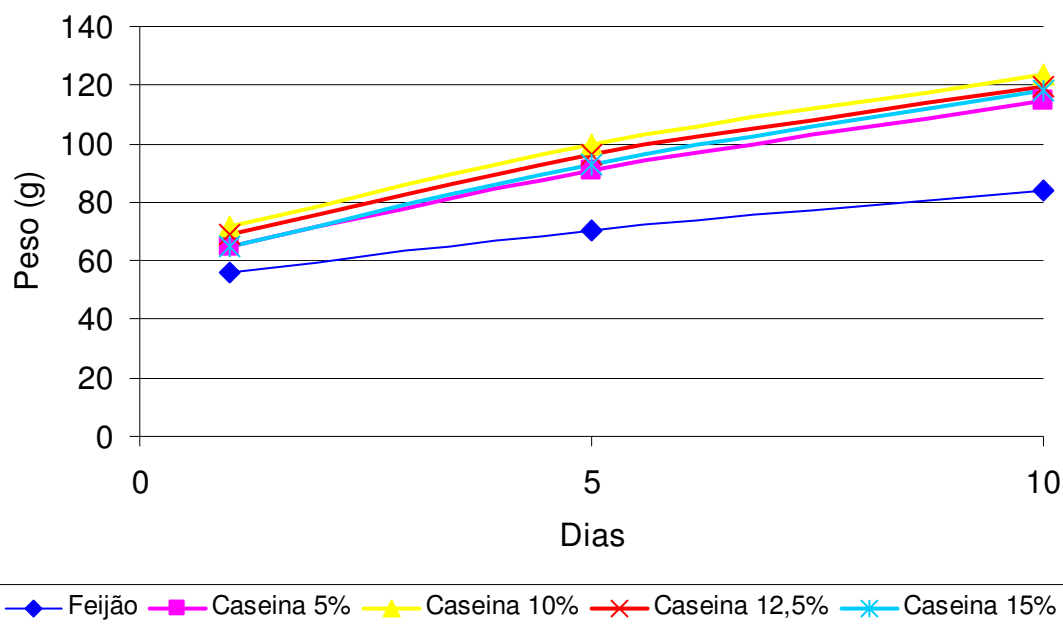


Figura 9 - Crescimento ponderal de ratos alimentados com dietas cujas fontes proteicas são feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.

Um grupo composto por 10 animais escolhidos aleatoriamente foi morto antes do período de adaptação, porém as medidas dos órgãos desses animais não foram utilizadas como padrão inicial de referência, visto que em recém-nascidos os órgãos representam quase a totalidade do peso corporal. Com o crescimento, há aumento da massa muscular, adiposa e óssea do indivíduo, logo o peso dos órgãos passa a representar menor parte do total do peso corporal (XU, 1996; YANG & JOERN, 1994). KLURFELD (1999) verificou que em mamíferos, o maior crescimento dos órgãos se dá em média até os 21 dias após o nascimento

devido à ingestão de leite contendo fatores de crescimento e vários peptídeos hormonais. Além disso, o peso dos órgãos sofre influência do peso corporal, logo como os animais foram escolhidos aleatoriamente, as médias do peso dos órgãos e do comprimento e espessura do intestino delgado, desse grupo foram maiores que as médias das medidas de alguns grupos observadas no final do experimento.

O peso do fígado e pâncreas e o peso, o comprimento e espessura do intestino delgado podem ser visualizados na Tabela 8.

Tabela 8 - Peso do fígado, pâncreas e intestino delgado - ID (g/100g) e comprimento (cm) e espessura do intestino delgado (mg/cm) de ratos após 10 dias de experimento.

Tratamento	Pâncreas (g/100g)	Fígado (g/100g)	Peso ID (g/100g)	Comprimento ID (cm)	Espessura ID (mg/cm)
Feijão	0,63 ± 0,05 ^c	4,33 ± 0,79 ^b	5,43 ± 1,06 ^b	148,77 ± 0,32 ^b	36,47 ± 6,59 ^a
Caseína + 5,0%	0,42 ± 0,12 ^a	3,46 ± 0,23 ^a	4,07 ± 0,49 ^a	101,12 ± 11,21 ^a	40,41 ± 4,76 ^a
Caseína + 10,0%	0,47 ± 0,05 ^{ab}	3,74 ± 0,56 ^{ab}	4,34 ± 0,44 ^a	101,39 ± 10,51 ^a	43,13 ± 5,35 ^a
Caseína + 12,5%	0,49 ± 0,07 ^{ab}	3,87 ± 0,53 ^{ab}	4,36 ± 0,31 ^a	102,68 ± 7,84 ^a	42,66 ± 4,59 ^a
Caseína + 15,0%	0,51 ± 0,05 ^b	3,98 ± 0,29 ^{ab}	4,51 ± 0,44 ^a	106,68 ± 9,45 ^a	42,53 ± 4,87 ^a

Dados referentes à média ± desvio-padrão para n = 10

Médias com diferentes letras na mesma coluna indicam diferença ao nível de significância p<0,05 (Teste de Tukey).

Em relação ao peso do pâncreas (Tabela 8 e Figuras 10 e 11), o grupo que recebeu dieta contendo feijão-comum apresentou um aumento de 50,0% no peso em relação ao grupo controle, diferindo estatisticamente dos demais. Os grupos alimentados com dieta contendo caseína com adições de 10,0% e 12,5% de fibras dietéticas e amido resistente apresentaram aumento de peso do órgão em relação ao grupo controle, entretanto sem diferença estatística. A dieta de caseína com adição de 15,0% diferiu estatisticamente do grupo controle. Dentre os grupos que receberam dietas contendo caseína acrescida de diferentes adições de fibras dietéticas e amido resistente, pôde-se observar que o aumento do peso do pâncreas foi diretamente proporcional ao aumento do teor de fibras dietéticas e amido resistente na dieta. IKEGAMI et al. (1990) alimentaram ratos com dietas contendo 4,3 a 4,9% de diferentes tipos de fibras dietéticas por 14 dias e também verificaram aumento estatisticamente significativo de 22,6% no peso do pâncreas em ratos que receberam dieta contendo feijão quando comparado aos que receberam dieta contendo pectina.

Diante dos resultados obtidos, sugere-se uma possível ocorrência de hipertrofia do pâncreas, especialmente nos ratos que receberam dieta cuja fonte protéica era o feijão-comum cozido. Uma possível explicação para esse fato é a baixa digestibilidade e valor biológico das proteínas da leguminosa, o que, de certa forma representa um esforço metabólico dos ratos para compensar o baixo crescimento (Figura 9).

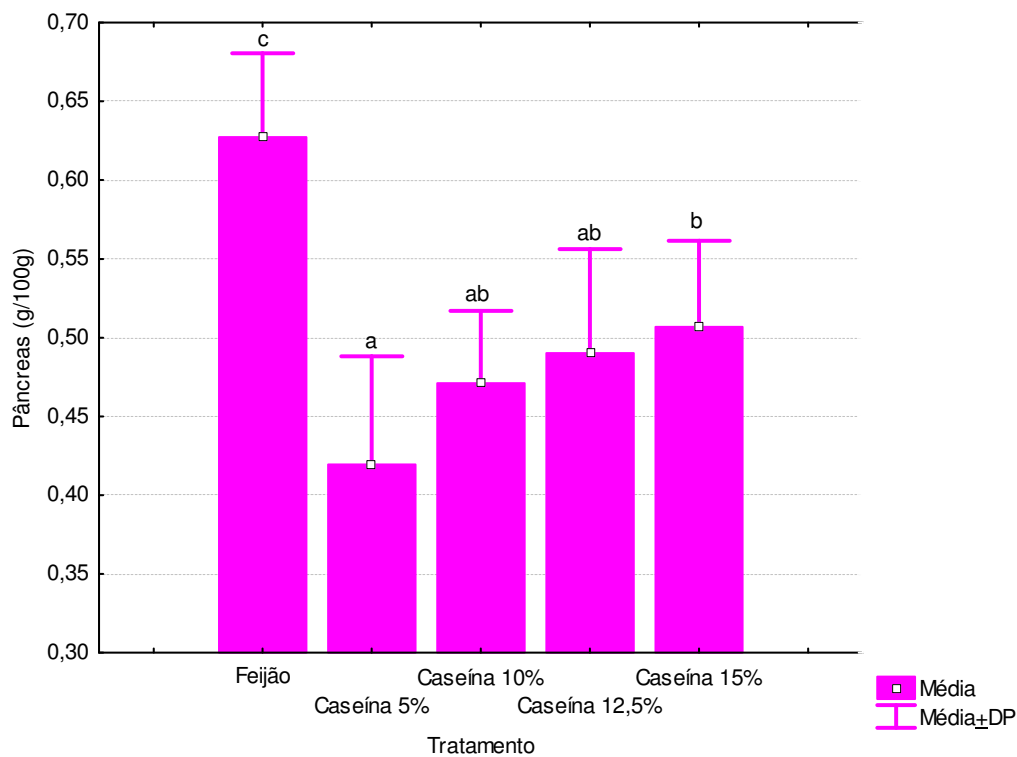


Figura 10 - Peso do pâncreas, em 100g de peso corporal, de ratos alimentados com dietas cuja fonte protéica é o feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.

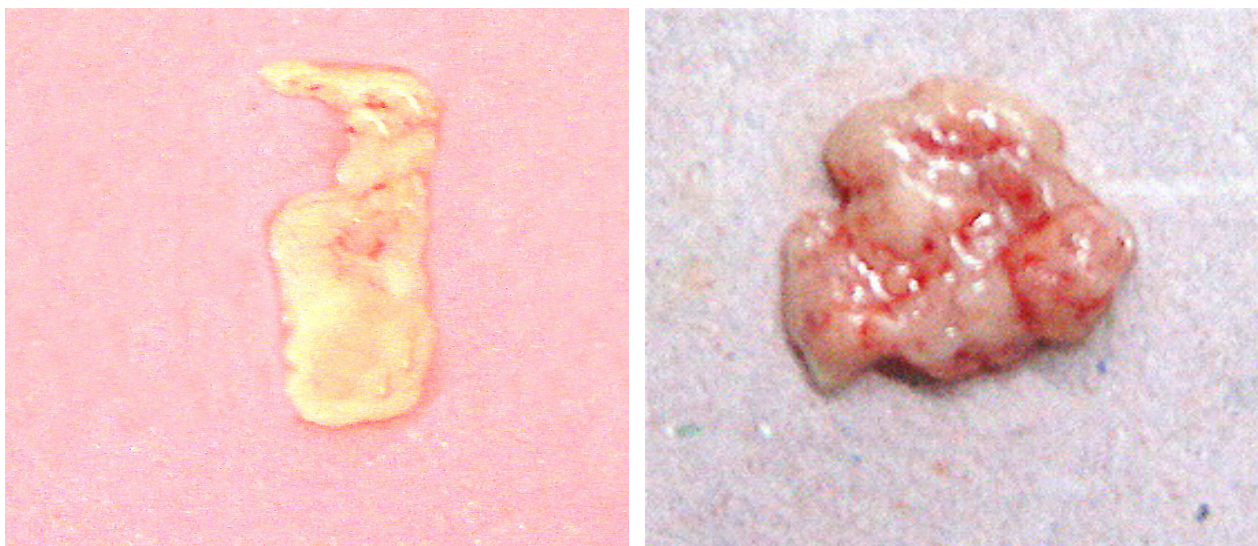


Figura 11 - Fotos comparativas do pâncreas de um rato antes do período de adaptação (0 dia) e de um rato do grupo alimentado com dieta contendo feijão cozido como fonte protéica ao final do experimento (10 dias).

Considerando o peso do fígado (Tabela 8 e Figuras 12 e 13), verificou-se que o grupo alimentado com dieta contendo feijão apresentou o maior peso desse órgão, porém não diferiu estatisticamente dos grupos cujas dietas continham caseína com adições de 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas e amido resistente. Esses três últimos grupos não diferiram estatisticamente do controle. Em relação aos grupos que receberam dietas contendo caseína acrescida de teores crescentes de fibras dietéticas e amido resistente, constatou-se que o aumento do peso do fígado foi progressivo com o aumento do teor de fibras dietéticas e amido resistente. Entretanto, PIRMAN et al. (2004) não observaram diferença estatística para o peso desse órgão no grupo de ratos, cuja dieta continha feijão-comum cozido como fonte protéica quando comparado ao grupo

que recebeu dieta contendo caseína (grupo-controle), após 15 dias de experimento.

Uma hipótese para a possível hipertrofia do fígado, observada principalmente nos ratos que receberam dieta contendo feijão como fonte protéica seria um aumento na secreção de bile na tentativa de compensar a ineficiência de digestão e absorção de nutrientes e de sua excreção, devido à alteração do trânsito intestinal e diminuição de pH, que causa uma inibição da 7 α -desidroxilação bacteriana e conseqüente diminuição na produção de ácido deoxicólico, impedindo os sais biliares de serem reabsorvidos no íleo (IKEGAMI et al., 1990 e CORRING et al., 1989). Além disso, as proteínas vegetais são menos clivadas pelas proteases quando comparadas às animais e conseqüentemente menos absorvidas, logo há intensificação da atividade do fígado para regular os níveis séricos de proteínas (CARBONARO et al., 2000).

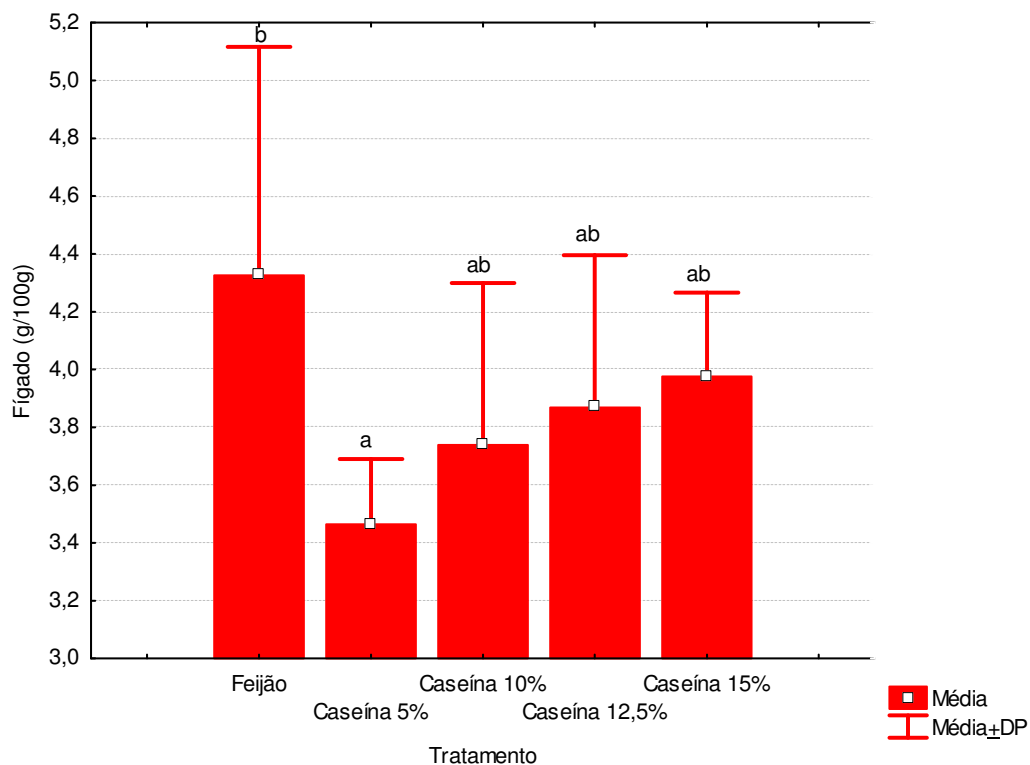


Figura 12 - Peso do fígado, em 100g de peso corporal, de ratos alimentados com dietas cuja fonte protéica é o feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.

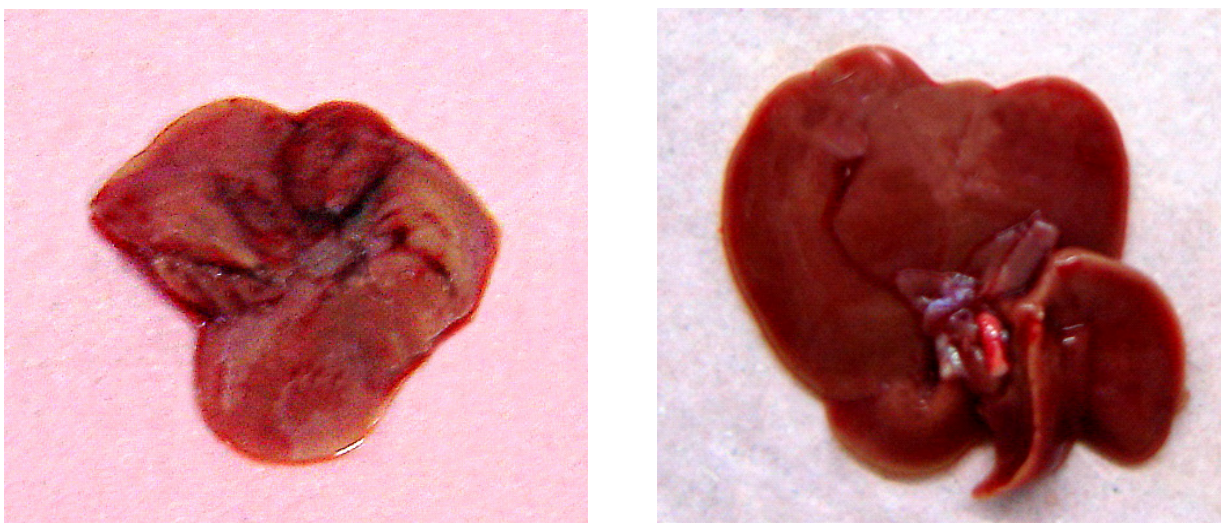


Figura 13 - Fotos comparativas do fígado de um rato antes do período de adaptação (0 dia) e de um rato do grupo alimentado com dieta contendo feijão cozido como fonte protéica ao final do experimento (10 dias).

Para o peso e comprimento do intestino delgado (Tabela 8 e Figuras 14, 15 e 17), observou-se que somente o grupo alimentado com dieta contendo feijão diferiu estatisticamente do controle, apresentando um aumento de comprimento e peso desse órgão de 47,1% e 33,4% respectivamente.

No caso do intestino delgado, a possível hipertrofia observada nos ratos que receberam dieta contendo feijão como fonte protéica, seria uma tentativa de aumentar a área absorptiva para os nutrientes, além da interação entre fibras dietéticas, amido resistente e outros compostos ainda não identificados, presentes no feijão-comum cozido, com a mucosa do intestino delgado, exercendo estímulo mecânico e hormonal (WIRÉN et al., 1998, NASCENTES, 1996, BRUNSGAARD et al., 1995, YANG & JOERN, 1994).

Em relação à espessura do intestino delgado, não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos (Figura 16). Embora o peso e comprimento desse órgão, medidas utilizadas para o cálculo da espessura, tenham sido maiores no grupo alimentado com dieta contendo feijão-comum, o comprimento foi superior quando comparado ao peso, logo a espessura foi menor por ser inversamente proporcional ao valor do comprimento. KEY et al. (1996) observaram uma associação entre o aumento do comprimento do intestino delgado e uma diminuição na espessura da mucosa.

Os resultados obtidos para peso e espessura do intestino delgado estão em concordância com os resultados encontrados por NASCENTES (1996). SOUTHON et al. (1985) também não observaram diferença significativa em relação à espessura desse órgão em ratos alimentados com dieta contendo suplementação de 10% de fibras dietéticas.

Semelhante a esse estudo, ELSENHANS & CASPARY (2000) e ZHAO et al. (1995) constataram aumento no peso e comprimento do intestino delgado de ratos quando da adição de fibras dietéticas à dieta. BRUNSGAARD et al. (1995) e BRUNSGAARD & EGGUM (1995) verificaram que o peso e comprimento deste órgão triplicou quando da adição de 8% de fibras dietéticas e amido resistente às dietas de ratos após 9 dias de experimento. IKEGAMI et al. (1990) observaram aumento de 55,3% no peso e 16,4% no comprimento do intestino delgado em ratos alimentados com dieta contendo feijão por 14 dias. PIRMAN et al. (2004) constataram aumento de 28,2% no peso deste órgão em ratos alimentados com dietas contendo feijão cozido por 15 dias quando comparados àqueles alimentados com dieta contendo caseína. McCULLOUGH et al. (1998) verificaram

aumento significativo de 6% somente no peso deste órgão em ratos alimentados com dieta contendo 30% de uma mistura de fibras dietéticas após 14 dias de experimento. KEY et al. (1996) afirmaram que ratos que ingeriram dieta contendo feijão apresentaram um aumento do comprimento do intestino delgado.

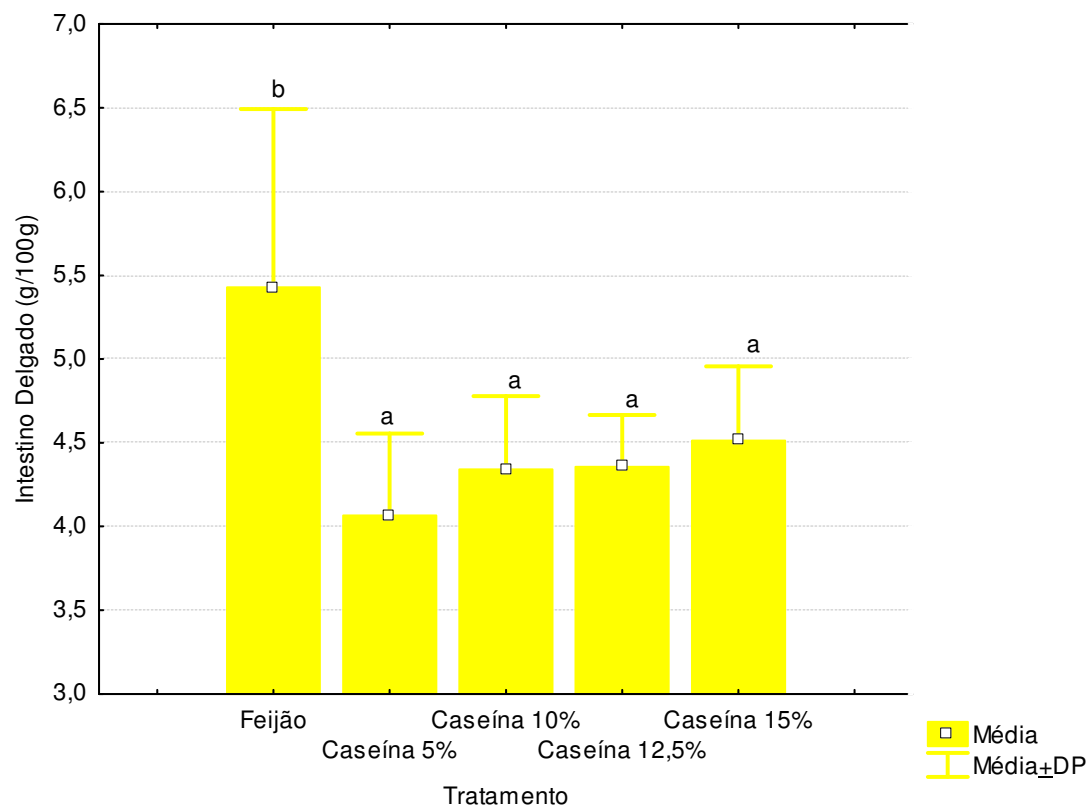


Figura 14 - Peso do intestino delgado, em 100g de peso corporal, de ratos alimentados com dietas cujas fontes protéicas eram feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.

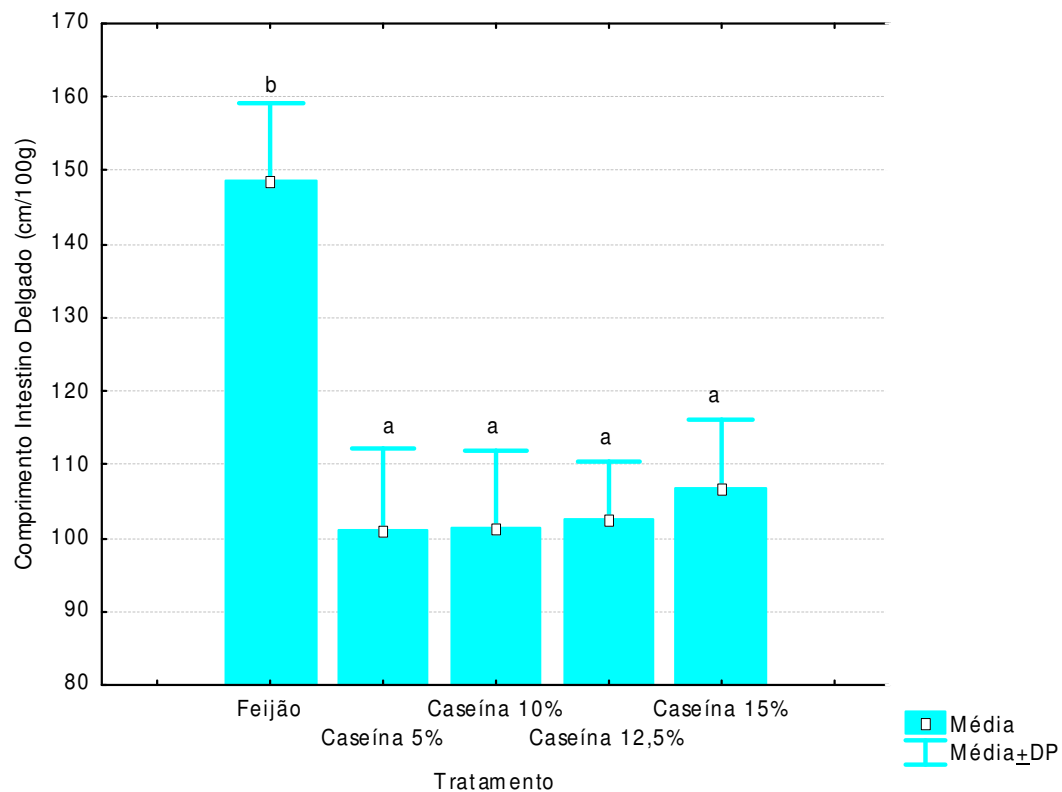


Figura 15 - Comprimento do intestino delgado, em 100g de peso corporal, de ratos alimentados com dietas cujas fontes protéicas eram feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.

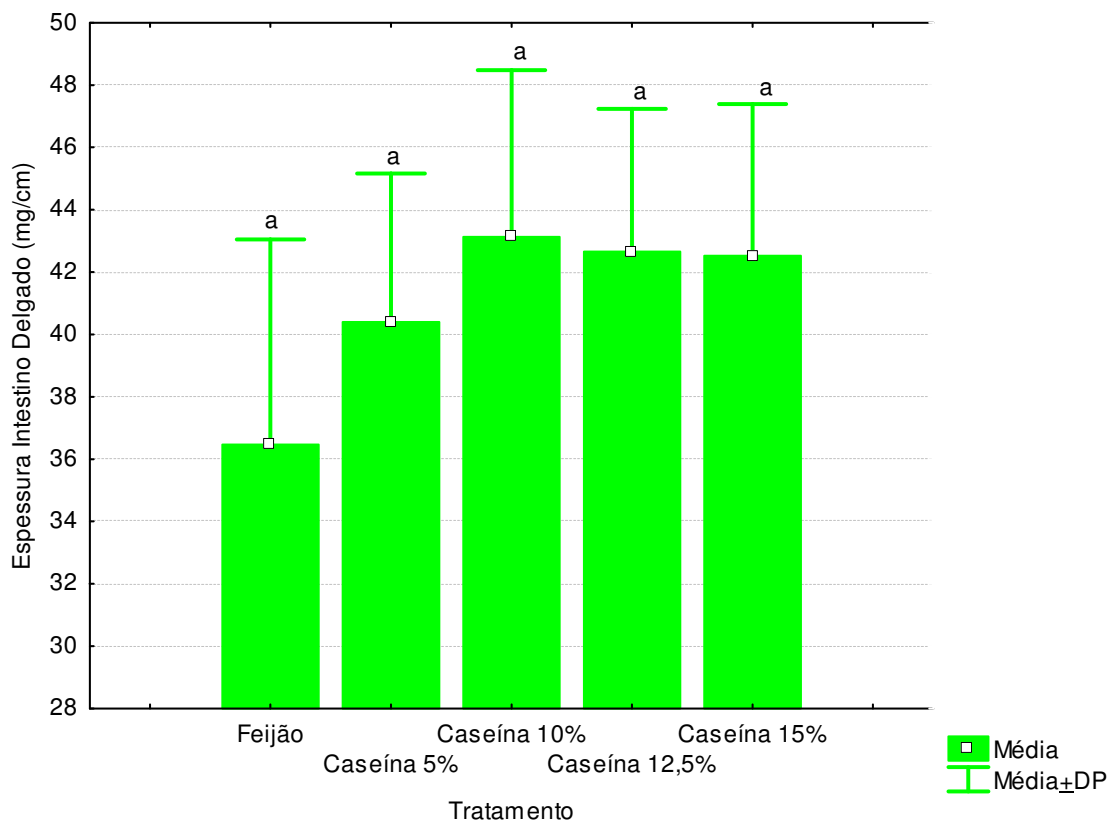


Figura 16 - Espessura do intestino delgado (peso/comprimento do órgão), em mg/cm, de ratos alimentados com dietas cujas fontes protéicas eram feijão-comum cozido e caseína acrescida de 5,0% (controle), 10,0%, 12,5% e 15,0% de fibras dietéticas de solubilidade similar à do feijão, após 10 dias de experimento.

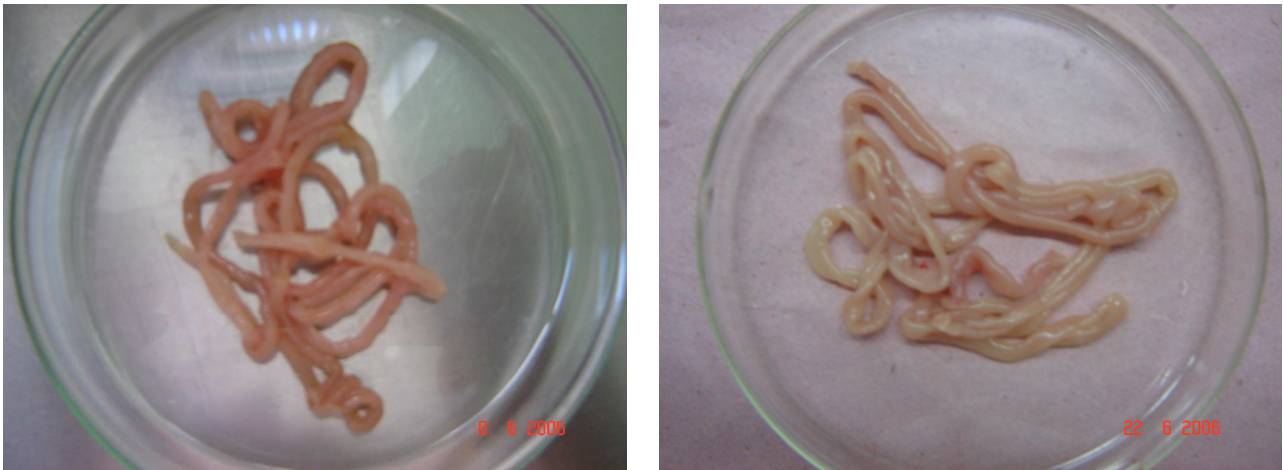


Figura 17 - Fotos comparativas do intestino delgado de um rato antes do período de adaptação (0 dia) e de um rato do grupo alimentado com dieta contendo feijão cozido como fonte protéica ao final do experimento (10 dias).

As adições crescentes de fibras dietéticas às dietas, cuja fonte protéica era caseína, foram responsáveis por um aumento das medidas dos órgãos estudados, embora sem diferença estatística, exceto para o pâncreas. PIRMAN et al. (2004) sugeriram que as fibras dietéticas parecem ser o principal fator responsável pelo efeito das leguminosas nos tecidos intestinais, entretanto, pôde-se verificar que elas são responsáveis por esse efeito, porém não se constituem no único fator.

O aumento dos órgãos estudados, principalmente no grupo que recebeu dieta contendo feijão como fonte protéica, pode ter ocorrido pela ação de hormônios e peptídeos regulatórios intestinais e pela baixa digestibilidade e valor biológico das proteínas do feijão.

A presença de fibras dietéticas e de amido resistente altera o trânsito e pH intestinal, a viscosidade do conteúdo intraluminal, a atividade das enzimas digestórias modificando a digestão e absorção de nutrientes (McDONALD et al., 2001; IKEGAMI et al., 1990). Eles podem formar complexos indigeríveis com proteínas e aminoácidos, principalmente durante o tratamento térmico, reduzindo a digestibilidade dessas proteínas, em concordância com COSTA et al. (2006), CARBONARO et al. (2000), NASCENTES (1996) e BRUNSGAARD & EGGUM (1995). No caso das dietas contendo caseína, esses complexos indigeríveis provavelmente não foram formados na mesma proporção que os encontrados na dieta contendo feijão, visto que elas não sofreram nenhum tipo de tratamento térmico. As fibras dietéticas podem ainda exercer um estímulo mecânico direto sobre a mucosa intestinal causando a elevação na esfoliação celular (NASCENTES, 1996; SOUTHON et al., 1985). OLIVEIRA & SGARBIERI (1986) verificaram uma maior excreção de nitrogênio endógeno nas fezes dos ratos alimentados com dietas contendo feijão em relação aos alimentados com caseína, demonstrando a menor digestibilidade e valor biológico do feijão em relação à caseína.

Para o crescimento do intestino delgado, tanto em peso como em comprimento, uma possibilidade é a tentativa de absorver maior quantidade de nutrientes, aumentando, assim, sua área absorptiva (BRUNSGAARD et al, 1995; YANG & JOERN, 1994). Segundo YANG & JOERN (1994), insetos herbívoros, pássaros e mamíferos aumentam o tamanho do intestino delgado para satisfazer seus requerimentos energéticos e nutricionais em resposta à redução na qualidade da alimentação.

O crescimento da mucosa intestinal, segundo WIRÉN et al. (1998), é resultado da interação entre nutrientes, fatores tróficos e a resposta dos receptores presentes nas células mucosas. MONTAGNE et al. (2003) e BRUNSGAARD et al., (1995) afirmaram que o aumento do intestino delgado e a modificação da digestão enzimática e da capacidade absorptiva da mucosa podem ocorrer pela presença de proteínas vegetais na dieta, devido à baixa digestibilidade e altas perdas de proteínas endógenas. CARBONARO et al. (2000) afirmaram que as proteínas de leguminosas possuem menor suscetibilidade à proteólise que as proteínas animais, além disso, apresentam deficiência de aminoácidos sulfurados, estrutura compacta e compostos não protéicos, que podem dificultar a digestão e aumentar a excreção de nitrogênio endógeno. Uma possibilidade é que a menor absorção de aminoácidos e peptídeos nos animais que receberam dieta contendo feijão provocou um menor ganho de peso.

Porcos alimentados com dietas contendo 34 g de fibras dietéticas/ kg de dieta apresentaram uma maior excreção de proteína endógena (MARISCALLANDÍN et al., 1995). Os autores sugeriram que as fibras podem exercer um estímulo direto sobre as secreções digestórias e os aminoácidos endógenos e exógenos, impossibilitando-os de estar totalmente disponíveis para absorção. Os aminoácidos, ainda, permanecem no conteúdo ileal devido à aceleração da passagem do bolo alimentar contendo fibras dietéticas pelo intestino delgado. Os autores constataram que a secreção e excreção de muco foram proporcionais à ingestão de fibras dietéticas, intensificando a perda de proteínas nas fezes. Segundo ZHAO et al. (1995), as fibras dietéticas causam um aumento na

secreção de muco no trato digestório, além de acelerar o trânsito intestinal e prejudicar a absorção de nutrientes.

Feijões, como fonte de fibras solúveis, lentificam a digestão e absorção dos nutrientes, prolongando o tempo de contato entre o bolo alimentar e o intestino delgado (BOURDON et al., 2001).

LANFER MARQUEZ & LAJOLO (1990) afirmaram que o tratamento térmico promove a formação de agregados protéicos de alto peso molecular, que são hidrolisados muito mais lentamente pelas enzimas proteolíticas. Há consenso na literatura de que os fatores antinutricionais são inativados pelo tratamento térmico adequado (PIRMAN et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2001; CHIARADIA et al., 1999; OLIVEIRA et al., 1999).

Em relação ao aumento do peso do fígado e do pâncreas, é possível que tenha aumentado a secreção de bile e enzimas pancreáticas, respectivamente, na tentativa de compensar a ineficiência de digestão e absorção, em conformidade com o observado por IKEGAMI et al. (1990) e CORRING et al. (1989). Os mesmos autores verificaram um aumento do pâncreas, da secreção de amilase e protease e do volume de bile excretado quando da adição de fibras dietéticas à dieta de ratos. Além das fibras dietéticas e amido resistente, outros fatores como a presença de proteína intacta ou de peptídeos e tipo de proteína podem exercer importante influência nas secreções digestórias e na excreção fecal de nitrogênio endógeno, levando à adaptação dos órgãos digestórios (NASCENTES, 1996; CORRING et al., 1989; IDE & HORII, 1989). LANFER MARQUEZ & LAJOLO (1990) verificaram que a excreção fecal de nitrogênio é 3 vezes maior com a

ingestão de dieta contendo feijão como fonte protéica quando comparada à dieta contendo caseína.

Uma possibilidade para a menor absorção de proteínas e, conseqüentemente, maior excreção fecal de nitrogênio endógeno é que o acúmulo de peptídeos não digeridos na mucosa intestinal satura os sítios de absorção envolvidos no transporte de aminoácidos, dipeptídeos e tripeptídeos através da mucosa, bloqueando a absorção. Os peptídeos acumulados podem ser de origem dietética ou endógena. Os peptídeos dietéticos interagem com o intestino delgado, agindo como segretagogos naturais e estimulando as secreções endógenas. Com isso, aumenta o catabolismo muscular na tentativa de suprir a baixa absorção de proteínas dietéticas, para a maior secreção de enzimas digestórias e para que ocorra intensificação da síntese protéica, necessária para o aumento adaptativo dos órgãos digestórios (MONTAGNE et al., 2003; SANTORO et al., 1999).

Vale ressaltar que a interação de proteínas intactas ou seus produtos de hidrólise com a mucosa intestinal também faz com que a mucosa secrete um segundo mensageiro. O mecanismo de estimulação dos órgãos provavelmente difere para cada enzima. Dentre os peptídeos regulatórios, a CCK é considerada o principal fator intestinal para adaptação pancreática e hepática à dieta. A presença de proteínas intactas no intestino delgado é um potente estimulante à secreção de CCK (CORRING et al., 1989). BOURDON et al. (2001) observaram uma secreção de CCK duas vezes maiores em humanos que ingeriram dieta contendo farinha de feijão cozido em relação aqueles cuja dieta continha leite. O aumento de órgãos digestórios é observado também em obesos (SANTORO et al., 2003).

O aumento dos órgãos estudados, segundo BRUNSGAARD & EGGUM (1995), BRUNSGAARD et al. (1995), YANG & JOERN (1994) e SOUTHON et al. (1985), não é um processo contínuo, sendo observado somente nos primeiros 9 dias de introdução da dieta, não havendo diferença estatisticamente significativa após esse período. Além disso, essas alterações parecem ser permanentes. CORRING et al. (1989), estudando as alterações nas secreções pancreáticas e biliar, referiram que essas alterações completam-se após 5 a 7 dias de introdução da dieta.

6 CONCLUSÕES

Tendo em vista as análises dos resultados obtidos neste estudo, concluiu-se que:

6.1 O consumo de fibras dietéticas e de amido resistente levou a um aumento de atividade celular da mucosa e conseqüente aumento do peso e comprimento do intestino delgado e do peso do fígado e pâncreas de ratos alimentados com dietas contendo feijão-comum e caseína acrescida de crescentes adições de fibras dietéticas de solubilidade similar às encontradas no feijão-comum. Os resultados obtidos indicam uma possível hipertrofia destes órgãos.

6.2 A ingestão de feijão-comum como fonte protéica apresentou a maior influência sobre os aumentos nos pesos do pâncreas e fígado e no peso e comprimento do intestino delgado dos ratos após 10 dias de experimento. As maiores diferenças estatísticas ($p < 0,05$) foram observadas no peso do pâncreas (50%) e no comprimento e peso do intestino delgado (47,1% e 33,4%), quando comparados ao grupo-controle.

- 6.3 A espessura do intestino delgado não apresentou diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$), embora o peso e comprimento desse órgão fossem maiores nos ratos que receberam dieta contendo feijão-comum como fonte protéica. Isso ocorreu, pois o aumento do comprimento foi maior quando comparado ao do peso, logo a relação (mg/cm) ficou menor.
- 6.4 As fibras dietéticas e amido resistente exercem efeito trófico em órgãos digestórios, entretanto eles não se constituem no único fator estimulatório. O feijão cozido possui outros componentes químicos que contribuíram para este efeito trófico. Assim, os mecanismos envolvidos no efeito trófico do feijão sobre os órgãos digestórios ainda precisam ser elucidados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15. ed., Washington, D.C., 1990.
2. ASP, N. G.; JOHANSSON, C. G.; HALLMER, H.; SILJESTROM, M. Rapid and enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 476-482, May/June 1983.
3. BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, Aug.1959.
4. BOURDON, I.; OLSON, B.; BACKUS, R.; RICHTER, B. D.; DAVIS, P. A.; SCHNEEMAN, B. O. Beans, as a source of dietary fiber, increase cholecystokinin and apolipoprotein B48 response to test meals in men. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 131, p. 1485-1490, 2001.
5. BRUNSGAARD, G.; EGGUM, B. O. Small intestine tissue structure and proliferation as influenced by adaption period and indigestible polysaccharides. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 112A, n. 3/4, p. 365-377, 1995.
6. BRUNSGAARD, G.; EGGUM, B. O.; SANDSTRÖM, B. Gastrointestinal growth in rats as influenced by indigestible polysaccharides and adaption period. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 111A, n. 3, p. 369-377, 1995.
7. CANDELA, M.; ASTIASARAN, I.; BELLO, J. Cooking and warm-holding: effect on general composition and amino acids of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*), chickpeas (*Cicer arietinum*), and lentils (*Lens culinaris*). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 45, p. 4763-4767, 1997.
8. CARBONARO, M.; CAPPELLONI, M.; NICOLI, S.; LUCARINI, M.; CARNOVALE, E. Solubility-digestibility relationship of legume proteins. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 45, n. 9, p. 3387-3394, 1997.

9. CARBONARO, M.; GRANT, G.; CAPPELLONI, M.; PUSZTAI, A. Perspectives into factors limiting in vivo digestion of legume protein: antinutritional compounds or storage proteins?. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 3, p. 742-749, Mar. 2000.
10. CECCHI, H. M. Umidade e sólidos totais. In: _____. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análises de Alimentos**. Campinas: Unicamp, 1999. p. 37 - 47.
11. CHAMP, M.; LANGKILDE, A.M.; BROUNS, F.; KETTLITZ, B.; BAIL-COLLET, Y. L. Advances in dietary fibre characterization. 2. Consumption, chemistry, physiology and measurement of resistant starch; implications for health and food labeling. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, n. 2, p. 143-161, Dec. 2003.
12. CHIARADIA, A. C. N.; COSTA, N. M. B.; GOMES, J. C. Retirada do tegumento e da extração dos pigmentos na qualidade protéica do feijão-preto. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 131-36, maio/ago. 1999.
13. COPPINI, L.Z.; WAITZBERG, D.L.; CAMPOS, F.G.; HABR-GAMA, A. Fibras alimentares e ácidos graxos de cadeia curta. In: WAITZBERG, D.L. **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2002, p. 79-94
14. CORRING, T.; JUSTE, C.; LHOSTE, E.F. Nutritional regulations of pancreatic and biliary secretions. **Nutrition Research Review**, Cambridge, v. 2, p. 161-180, 1989.
15. COSTA, G.E.A. **Correlação entre valor nutritivo e teores de fibra alimentar e amido resistente de dietas contendo ervilha (*Pisum sativum* L.), feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) e lentilha (*Lens culinaris* Méd.)**. 2005. 64 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
16. COSTA, G. E. A.; QUEIROZ-MONICI, K. S.; REIS, S. M. P. M.; OLIVEIRA, A. C. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food Chemistry**, Essex, v. 94, n. 3, p. 327-330, Feb. 2006.

17. CUNNIFF, P. A. **Official methods of analysis**. 16th. ed. Washington, DC: Association of Official Analytical chemistry, n. 55, 1995.
18. DOMENE, S. M.; OLIVEIRA, A. C. The use of nitrogen-15 labeling for the assessment of leguminous protein digestibility. **Journal of Nutrition Science and Vitaminology**, Tokyo, v. 39, n. 1, p. 47-53, 1993.
19. DRUCKER, D. J.; EHRLICH, P.; ASA, S.L.; BRUBAKER, P.L. Induction of intestinal epithelial proliferation by glucagon-like peptide 2. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, p. 7911-7916, Jul. 1996.
20. ELSENHANS, B.; CASPARY, W. F. Food viscosity as determinant for adaptive growth responses in rat intestine: long-term feeding of different hydroxyethyl celluloses. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 84, n. 1, p. 39-48, Jul. 2000.
21. FAISANT, N.; PLANCHOT, V.; KOZLOWSKI, F.; PACCOURET, M. P.; COLONNA, P.; CHAMP, M. Resistant starch determination adapted to products containing high level of resistant starch. **Sciences des Aliments**, Nantes, v. 15, n. 1, p. 83-89, 1995.
22. FRIEDMAN, M. Nutrition. In: NAKAI, S.; MODLER, H. W. **Food Proteins - Properties and characterization**. New York: WILEY-VCH, 1996. p. 281-331.
23. GE, Y. C.; MORGAN, R. G. H. The effect of trypsin inhibitor on the pancreas and small intestine of mice. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 70, n. 1, p. 333 -345, Jul. 1993.
24. GONZÁLEZ, G. C. A. Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 50, n. 3, p. 281-285, 2000.
25. HANSEN, I.; KNUDSEN, K. E. B.; EGGUM, B. O. Gastrointestinal implications in the rat of wheat bran, oat bran and pea fibre. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 68, n. 2, p. 451-462, Sept.1992.

26. HELBIG, E.; OLIVEIRA, A. C.; QUEIROZ, K. S. REIS, S. M. P. M. Effect of soaking prior to cooking on the levels of phytate and tannin of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) and the protein value. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Tokyo, v. 49, p. 81-86, 2003.
27. HUGHES, J. S. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 9, p. 122-126, Sep. 1991.
28. IDE, T.; HORII, M. Predominant conjugation with glycine of biliary and lumen bile acids in rat fed on pectin. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 61, n. 3, p. 545-457, May 1989.
29. IKEGAMI, S.; TSUCHIHASHI, F.; HARADA, H.; TSUCHIHASHI, N.; NISHIDE, E.; INNAMI, S. Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic biliary secretion and digestive organs in rats. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 120, n. 4, p. 353-360, Apr. 1990.
30. JALALI, V. R. R. **Utilização de ³H-aminoácidos e ³H-nucleosídeos para estudar perdas endógenas de nitrogênio em ratos alimentados com dietas contendo feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.).** 1992. 186 p. Tese (Doutorado em Ciência da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.
31. JONES, A. L. Chapter IV *Phaseolus* bean: post-harvest operations. **Centro International de Agricultura Tropical (CIAT)**. Disponível em: <<http://www.fao.org/inpho/content/compend/text/ch04.htm>>. Acesso em: 5 set. 2005.
32. JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. O tubo digestivo. In: _____. **Histologia Básica**, 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p. 244-269.
33. KEY, F. B.; MCCLEAN, D.; MATHERS, J. C. Tissue hypertrophy and epithelial proliferation rate in the gut of rats fed on bread and haricot beans (*Phaseolus vulgaris*). **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 76, n. 2, p. 273-286, Aug. 1996.
34. KLEIN, R. M.; MCKENZIE, J. C. The role of cell renewal in the ontogeny of the intestine: cell proliferation patterns in adult, fetal, and neonatal intestine. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Hagerstown, v. 2, n. 1, p. 10-43, 1983.

35. KLURFELD, D. M. Nutritional regulation of gastrointestinal growth. **Frontiers in Bioscience**, v. 4, p. d299-302, Mar. 1999.
36. KUTOS, T.; GOLOB, T.; KAC, M.; PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chemistry**, Essex, v. 80, n. 2, p. 231-235, 2003.
37. LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Dietary fiber and resistant starch intake in Brazil: recommendations and actual consumption patterns. In: CHO, S.S; DREHER, M.L. **Handbook of Dietary Fiber**. New York: Marcel Dekker, 2001. p. 845-858.
38. LANFER MARQUEZ, U. M.; LAJOLO, F. M. Nutritional value of cooked beans (*Phaseolus vulgaris*) and their isolated major protein fractions. **Journal of Science Food and Agriculture**, London, v. 53, n. 2, p. 235-242, 1990.
39. LANFER MARQUEZ, U. M. L.; LAJOLO, F. M. *In vivo* digestibility of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: the role of endogenous protein. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 39, n. 7, p. 1211-1215, Jul. 1991.
40. LOBO, A.R.; LEMOS-SILVA, G.M. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 219-226, abr./jun. 2003.
41. MARIOTTI, F.; PUEYO, M. E.; TOMÉ, D.; BENAMOUZIG, R.; MAHÉ, S. Guar gum does not impair the absorption and utilization of dietary nitrogen but affects early endogenous urea kinetics in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, p. 487-493, 2001.
42. MARISCAL-LANDÍN, G.; SÈVE, B.; COLLÉAUX, Y.; LEBRETON, Y. Endogenous amino nitrogen collected from pigs with end-to-end ileorectal anastomosis is affected by the method of estimation and altered by dietary fiber. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, n. 1, p. 136-146, Jan. 1995.
43. MARLETTA, L.; CARBONARO, M.; CARNOVALE, E. In-vitro protein and sulphur amino acid availability as a measure of bean protein quality. **Journal of Science Food and Agriculture**, London, v. 59, n. 4, p. 497-504, 1992.

-
44. MATTOS, L. L.; MARTINS, I. S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 50-55, 2000.
45. MCCULLOUGH, J. S.; RATCLIFFE, B.; MANDIR, N.; CARR, K. E.; GOODLAD, R. A. Dietary fibre and intestinal microflora: effects on intestinal morphometry and crypt branching. **Gut**, v. 42, p. 799-806, 1998.
46. MCDONALD, D. E.; PETHICK, D. W.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J. Increasing viscosity of the intestinal contents alters small intestinal structure and intestinal growth, and stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* in newly-weaned pigs. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 86, n. 4, p. 487-498, Oct. 2001.
47. MENEZES, E. W.; LAJOLO, F. M. **Métodos in vivo e in vitro para determinar o IG: experiências em alimentos brasileiros.** In: SEMINÁRIO "ÍNDICE GLICÊMICO EM SALUD Y ALIMENTACIÓN HUMANA". 2002. Inciensa: Costa Rica.
48. MESSINA, M. J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **American Journal of Clinical Nutrition**, suppl. 70, p.439s-450s, 1999.
49. MONTAGNE, L.; CRÉVIEU-GABRIEL, I.; TOULLEC, R.; LALLÈS, J. P. Influence of dietary protein level and source on the course of protein digestion along the small intestine of the veal calf. **Journal Dairy Science**, v. 86, n. 3, p. 934-943, Mar. 2003.
50. MOSSÉ, J. Nitrogen to protein conversion factor for ten cereals and six legumes ou oilseeds. A reappraisal of its definition and determination. Variation according to species and to seeds protein content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 38, n. 1, p. 18-24, Jan. 1990.
51. NASCENTES, R. B. **Efeito do consumo de leguminosas cozidas (feijão – comum, (*Phaseolus vulgaris*, L.) e ervilha (*Pisum sativum*, L.) no tamanho e atividade celular do intestino delgado e nas secreções digestivas de ratos.** 1996. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

52. NIELSEN, S. S. Digestibility of legume proteins. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 9, p. 112-114, Sep. 1991.
53. OLIVEIRA, A. C.; SGARBIERI, V. C. Effect of diets containing dry beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) on the rat excretion of endogenous nitrogen. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 116, n. 12, p. 2387-2392, Dec. 1986.
54. OLIVEIRA, A. C.; REIS, S. M. P. M.; LEITE, E. C.; VILELA, E. S. D.; PÁDUA, E. A.; TASSI, E. M. M.; CÚNEO, F.; JACOBUCI, H. B.; PEREIRA, J.; DIAS, N. F. G. P.; GONZALEZ, N. B. B.; ZINSLY, P. F. Uso doméstico da maceração e seu efeito no valor nutritivo do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 191-195, maio/ago. 1999.
55. OLIVEIRA, A. C.; QUEIROZ, K.S.; HELBIG, E.; REIS, S. M. P. M.; CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 51, n. 3, sept. 2001.
56. OLIVEIRA, A. C.; NERY, A. C. C.; JACKIX, E. A.; SANTOS, E. F.; CARVALHO, I. R.; LOLLO, P. C.; CORREA, T. A. F.; REIS, S. M. P. M. O cultivar de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) IAC-Carioca-Eté apresentou elevada biodisponibilidade de metionina. In: Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 6, 2005, Campinas. **Resumos...** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2005.
57. ONYEIKE, E. N.; AYALOGU, E. O.; UZOGARA, S. G. Influence of the heat processing of African yam bean seed (*Sphenostylis stenocarpa*) flour on the growth and organ weights of rats. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dorchecht, v. 48, n. 2, p. 85-93, Sep. 1995.
58. OSORIO-DÍAZ, P.; AGAMA-ACEVEDO, E.; CARMONA-GARCIA, R.; TOVAR, J.; PAREDES-LÓPEZ, O.; BELLO-PÉREZ, L. A. Resistant starch and in vitro starch digestibility of cooked "ayocote" bean (*Phaseolus Coccineus*). **Interciencia**, Caracas, v. 29, n. 9, p.510-515, Sep. 2004.
59. PARTRIDGE, I. G.; LOW, A. G.; SAMBROOK, I. E. The influence of diet on the exocrine pancreatic secretion of growing pigs. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 48, n. 1, p. 137-145, Jul. 1982.

-
60. PIRMAN, T.; COMBE, E.; MIRAND, P. P.; STEKAR, J.; ORESNIK, A. Differential effects of cooked common bean (*Phaseolus vulgaris*) and lentil (*Lens esculenta puyensis*) feeding on protein and nucleic acid contents in intestines, liver and muscles in rats. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 48, n. 4, p. 281-287, Oct. 2004.
61. QUEIROZ-MONICI, K. S.; COSTA, G. E. A.; SILVA, N.; REIS, S. M. P. M.; OLIVEIRA, A. C. Bifidogenic effect of dietary fiber and resistant starch from leguminous on the intestinal microbiota of rats. **Nutrition**, v. 21, n. 5, p. 602-608, May 2005.
62. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute on Nutrition ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, Nov. 1993.
63. REHMAN, Z.; SALARIYA, A. M.; ZAFAR, S. I. Effect of processing on available carbohydrate content and starch digestibility of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, Essex, v. 73, n. 3, p. 351-355, May 2001.
64. REHINAN, Z.; RASHID, M.; SHAH, W. H. Insoluble dietary fibre components of food legumes as affected by soaking and cooking processes. **Food Chemistry**, Essex, v. 85, p. 245-249, May 2004.
65. ROBERFROID, M. B. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 103-148, 1993.
66. RUBIO, L. A.; GRANT, G.; DAGUID, T.; BROWN, D.; PUSZTAI, A. Organs relative weight and plasma amino acid concentrations in rats fed diets based on whole legume (faba bean, lupin, chickpea, defatted soybean) seed meals or their fractions. **Journal of the Science Food and Agriculture**, London, v. 79, n. 2, p. 187-194, Feb. 1999.
67. SALGADO, S. M.; FARO, Z. P.; GUERRA, N. B.; LIVERA, A. V. S. Aspectos físico-químicos e fisiológicos do amido resistente. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 23, n. 1, p. 109-122, Jan/Jun. 2005.

-
68. SANTORO, L. G.; GRANT, G.; PUSZTAI, A. In vivo degradation and stimulating effect of phaseolin on nitrogen secretion in rats. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dorchecht, v. 53, n. 3, p. 223-236, 1999.
69. SANTORO, S.; VELHOTE, M.C.P.; MALZONI, C.E.; MECHENAS, A.S.G.; STRASSMANN, V.; SCHEINBERG, M. Digestive adaption: a new surgical proposal to treat obesity based on physiology and evolution. **Einstein**, v.1, p. 99-104, 2003.
70. SASAKI, M.; FITZGERALD, A. J.; GRANT, G.; GHATEI, M. A. Lectins can reverse the distal intestinal atrophy associated with elemental diets in mice. **Aliment Phamacology Therapy**, v. 16, p. 633-642, 2002.
71. SCHNEEMAN, B. O.; RITHTER, D. Changes in plasma and hepatic lipids, small intestinal histology and pancreatic enzyme activity due to aging and dietary fiber in rats. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 7, p. 1328-1337, Jul. 1993.
72. SGARBIERI, V. C. Fontes de proteínas na alimentação. In:_____. **Proteínas em alimentos protéicos**. São Paulo: Varela, 1996. p. 138-257.
73. SHIGA, T. M.; LAJOLO, F. M.; FILISETTI, T. M. C. C. Cell wall polysaccharides of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 141-148, Maio/Ago. 2003.
74. SOUTHON, S.; LIVESEY, G.; GEE, J. M.; JOHNSON, I. T. Differences in intestinal protein synthesis and cellular proliferation in well-nourished rats consuming conventional laboratory diets. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 53, n. 1, p. 87-95, Jan. 1985.
75. SOUTHON, S.; GEE, J. M.; JOHNSON, I. T. The effect of dietary protein source and guar gum on gastrointestinal growth and enteroglucagon secretion in the rat. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 58, n.1, p. 65-72, Jul. 1987.
76. STARK, A.; MADAR, Z. Dietary fiber. In:_____. **Functional Foods**. Goldberg I (Ed.). New York: Chapman and Hall, p. 183-201, 1994.

-
77. TASMAN-JONES, C.; OWEN, R. L.; JONE, A. L. Semipurified dietary fiber and small-bowed morphology in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 27, p. 519-524, 1982.
78. THULESEN, J.; HARTMANN, B.; NIELSEN, C.; HOLST, J.J.; POULSEN, S.S. Diabetic intestinal growth adaptation and glucagon-like peptide 2 in the rat: effects of dietary fibre **Gut**, v.45, p.672-678, 1999.
79. UEBERSAX, M. A.; RUENGSAKULRACH, S.; OCCEÑA, L. G. Strategies and procedures for processing dry beans. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 9, p. 104-108, Sept. 1991.
80. XU, R.J. Development of the newborn GI tract and its relation to colostrum/milk intake: a review. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 8, n. 1, p. 35-48, 1996.
81. YANG, Y.; JOERN, A. Gut size changes in relation to variable food quality and body size in grasshoppers. **Functional Ecology**, v. 8, p. 36-45, 1994.
82. WAITZBERG, D. L.; BORGES, V. C.; RODRIGUES, J. J. G. Síndrome do Intestino Curto. In: WAITZBERG, D.L. **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2000, p. 1243-1259.
83. WALTER, M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 974-980, jul/ago. 2005.
84. WILLIAMS, P. C. The use of titanium dioxide as a catalyst for large-scale Kjeldahl determination of the total nitrogen content of cereal grains. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 24, n. 3, p. 343-348, Mar. 1973.
85. WIRÉN, M.; ADRIAN, T. E.; ARNELO, U.; PERMERT, J.; STAAB, P.; LARSSON, J. An increase in mucosal insulin-like growth factor II content in postresectional rat intestine suggests autocrine or paracrine growth stimulation. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.33, p. 1080-1086, 1998.

-
86. WU, W.; WILLIAMS, W. P.; KUNKEL, M. E.; ACTON, J. C.; HUANG, Y.; WARDLAW, F. B.; GRIMES, L. W. Thermal effects on in vitro protein quality of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 6, p. 1187-1191, Jun. 1994.
87. ZHAO, X.; JORGENSEN, H.; EGGUM, B. O. The influence of dietary fibre on body composition, visceral organ weight, digestibility and energy balance in rats housed in different thermal environments. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 73, n. 5, p. 687-699, May. 1995

ANEXO 1

**Protocolo de aprovação da Comissão de
Ética na Experimentação Animal – CEEA
(Protocolo nº 1005-1)**



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

**Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP**

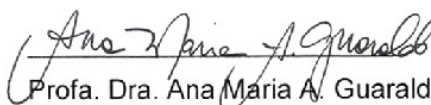
CERTIFICADO

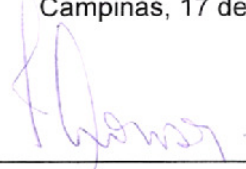
Certificamos que o Protocolo nº **1005-1**, sobre **"INFLUÊNCIA DA INGESTÃO DE FIBRA DIETÉTICA SIMILAR A DO FEIJÃO-COMUM NO TAMANHO DO INTESTINO DELGADO E NO PESO DO FÍGADO E DO PÂNCREAS DE RATOS"** sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira/Telma A. Faraldo Corrêa** está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 17 de abril de 2006.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº **1005-1**, entitled **"INFLUENCE OF THE DIETETIC FIBRE INGESTION LIKE COMMON BEAN IN SMALL INTESTINE SIZE AND IN THE LIVER AND PANCREAS WEIGHT OF RATS"**, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on April 17, 2006.

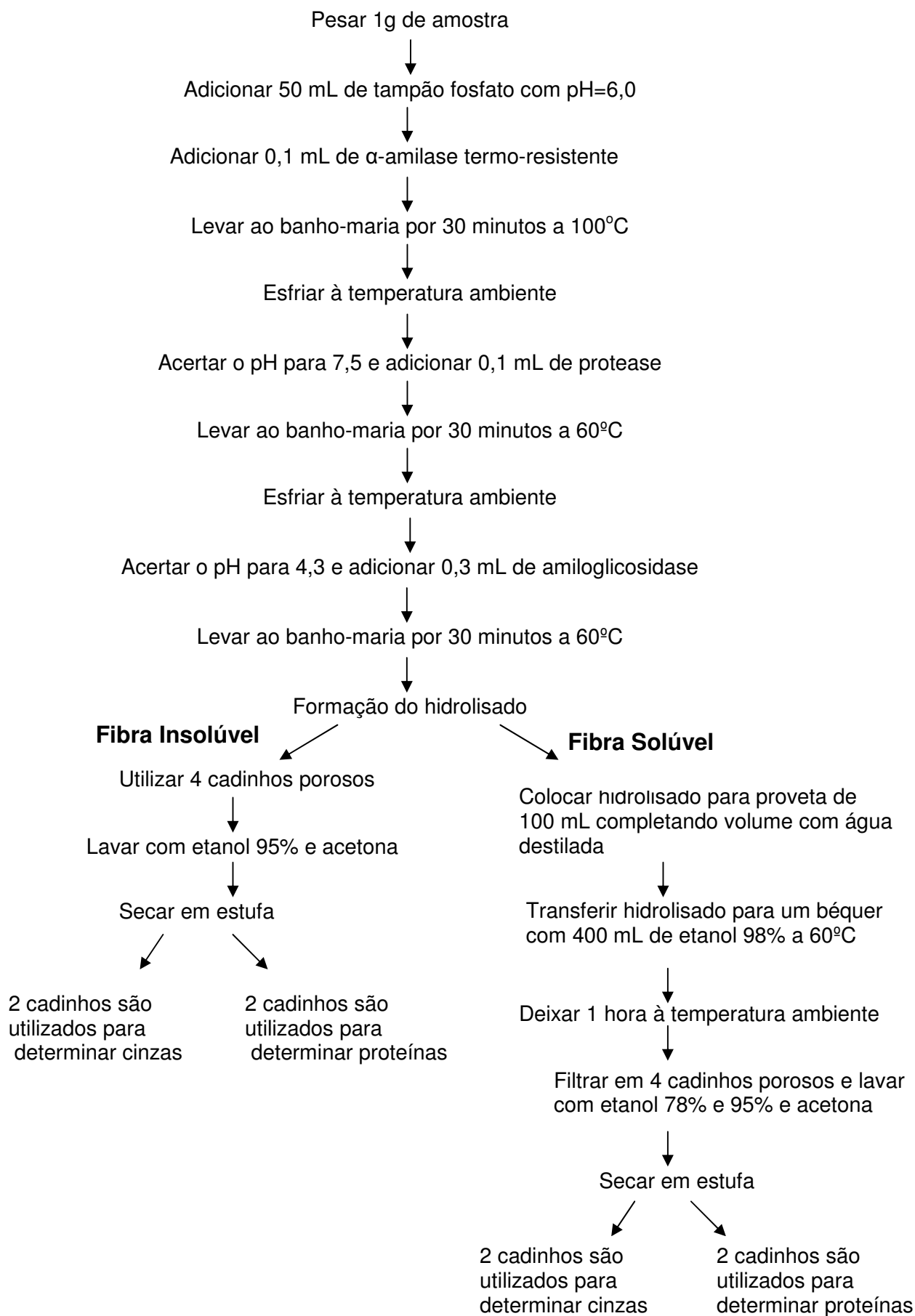
Campinas, 17 de abril de 2006.


Prof. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente


Fátima Alonso
Secretária Executiva

ANEXO 2

**Metodologia para determinação de
Fibras Dietéticas Solúvel e Insolúvel (ASP et al., 1983).**



Deve-se realizar também análise em um padrão sem amostra (branco), utilizado para correção.

O cálculo da porcentagem de fibras insolúveis e solúveis é realizado pela formulas a seguir:

Fibra Dietética Insolúvel

$$\% \text{ FDI} = \frac{\text{RI} - \text{P} - \text{C} - \text{BI}}{\text{m}} \times 100$$

Onde:

RI = Média do resíduo Insolúvel da amostra (mg)

P= Média da proteína no RI (mg)

C = Média das cinzas no RI (mg)

m = Média dos pesos das amostras (mg)

BI = RI_B - P_B - C_B

RI_B = Média do resíduo insolúvel do branco (mg)

P_B = Média da proteína no RI_B (mg)

C_B = Média das cinzas no RI_B (mg)

Fibra Dietética Solúvel

$$\% \text{ FDS} = \frac{\text{RS} - \text{P} - \text{C} - \text{BS}}{\text{m}} \times 100$$

Onde:

RS = Média do resíduo solúvel da amostra (mg)

P= Média da proteína no RS (mg)

C = Média das cinzas no RS (mg)

m = Média dos pesos das amostras (mg)

BS = RS_B - P_B - C_B

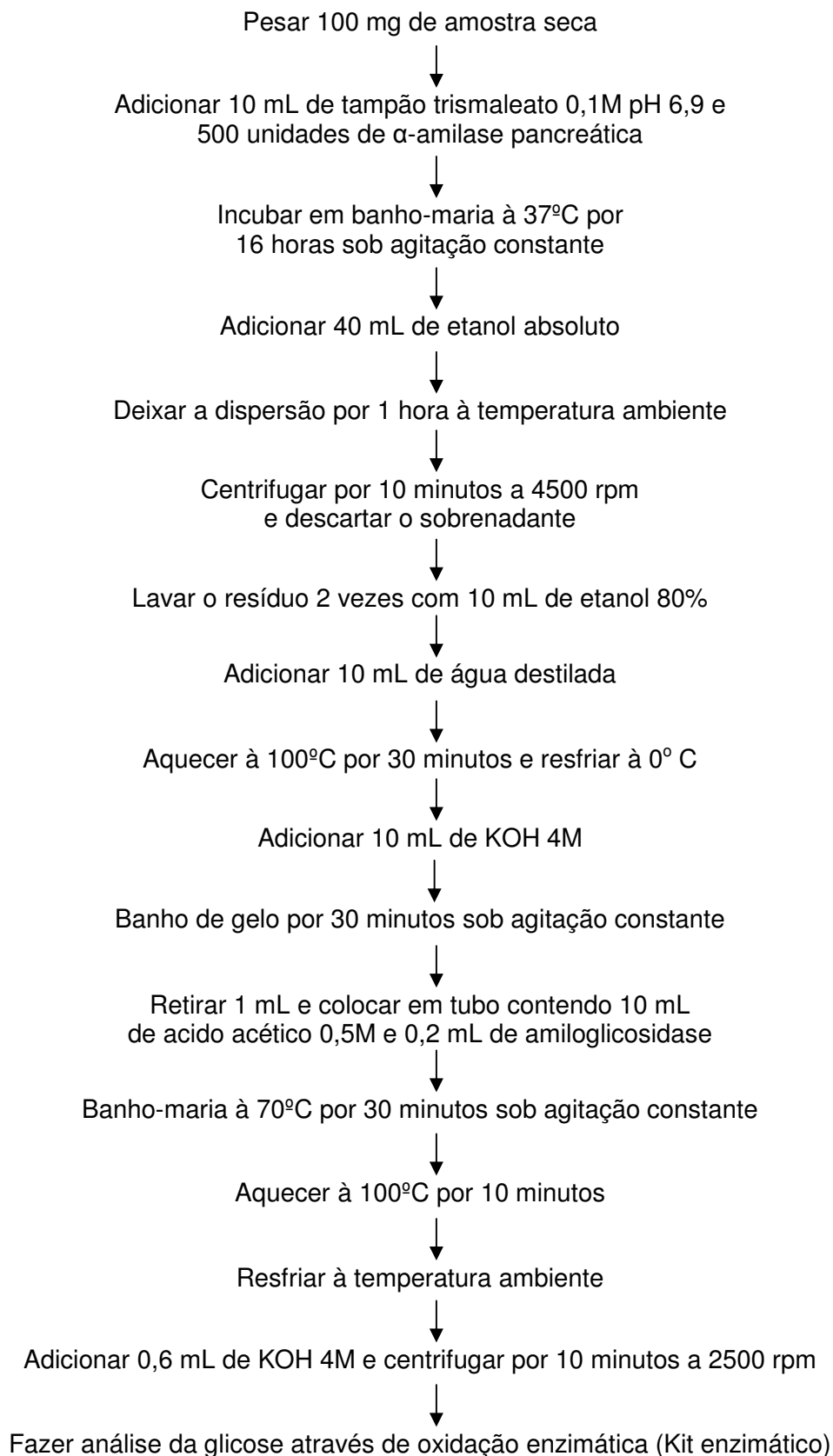
RS_B = Média do resíduo solúvel do branco (mg)

P_B = Média da proteína no RS_B (mg)

C_B = Média das cinzas no RS_B (mg)

ANEXO 3

**Metodologia para determinação de
Amido Resistente (Faisant et al., 1995).**



$$AR = \frac{G \times 0,9 \times D}{P} \times 100$$

Onde:

AR = % de amido resistente em base seca

G = Concentração final de glicose (mg/mL) determinado através do Kit

0,9 = fator de conversão da glicose em amido

D = Fator de diluição da amostra

P = peso (g) da amostra em base seca