

**UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO**

**ALINE LICORIO SILVA  
ANA CAROLINA MESCHIERI**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS EXTRATOS AQUOSOS  
DO FEIJÃO (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) E DA  
FASEOLAMINA NA VARIAÇÃO PONDERAL E NO  
PERFIL LIPÍDICO DE *RATTUS NORVERGICUS***

BAURU

2011

**ALINE LICORIO SILVA**  
**ANA CAROLINA MESCHIERI**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS EXTRATOS AQUOSOS  
DO FEIJÃO (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) E DA  
FASEOLAMINA NA VARIAÇÃO PONDERAL E NO  
PERFIL LIPÍDICO DE *RATTUS NORVERGICUS***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Centro de Ciências da Saúde como parte  
dos requisitos para obtenção do título  
Farmacêutico/Bioquímico, sob orientação da  
Prof.<sup>a</sup> Ms. Márcia Clélia Leite Marcellino.

BAURU

2011

Silva, Aline Licorio

S5861a

Avaliação do efeito dos extratos aquosos do feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) e da faseolamina na variação ponderal e no perfil lipídico de *Rattus norvegicus* / Aline Licorio Silva, Ana Carolina Meschieri -- 2011.

60f. : il.

Orientadora: Profa. Ms. Márcia Clélia Leite Marcellino.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) -  
Universidade Sagrado Coração - Bauru - SP

1. Feijão branco. 2. Faseolamina. 3. Obesidade. 4. Dislipidemia. I.  
Meschieri, Ana Carolina. II. Marcellino, Márcia Clélia Leite. III.  
Título.

ALINE LICORIO SILVA  
ANA CAROLINA MESCHIERI

AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS EXTRATOS AQUOSOS DO FEIJÃO  
(*PHASEOLUS VULGARIS* L.) E DA FASEOLAMINA NA VARIAÇÃO  
PONDERAL E NO  
E NO PERFIL LIPÍDICO DE *RATTUS NORVERGICUS*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Biológicas,  
como parte dos requisitos para obtenção do título de Farmacêutico/Bioquímico,  
sob orientação da Prof.<sup>a</sup> Ms. Márcia Clélia Leite Marcellino.

Bancada examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Eliane Maria Ravasi Stéfano Simionato

---

Prof.<sup>a</sup> Ms. Márcia Clélia Leite Marcellino

---

Especialista Tatiana Alonso Lunardi Casoto

Dedicamos este trabalho aos nossos pais, por todo o apoio que nos foi dado e pela oportunidade de cursar uma boa Universidade.

## **AGRADECIMENTOS**

### **Aline**

Agradeço a Deus, em primeiro lugar, por me dar forças e sempre me iluminar em todos os momentos da minha vida;

Aos meus pais que sempre me apoiaram e ajudaram sempre e pela oportunidade de cursar uma boa faculdade;

Aos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado;

À amiga Ana Carolina, por ter realizado o trabalho comigo;

Ao biotério da Universidade e todos os seus funcionários;

A todos os professores que nos ajudaram na realização da pesquisa;

À nossa orientadora Prof.<sup>a</sup> Ms. Márcia Clélia Leite Marcellino, por seu empenho e toda a ajuda, companheirismo, paciência e dedicação que nos foi dada.

### **Ana Carolina**

Agradeço, primeiramente, à Deus por sempre guiar meus caminhos e me dar forças e coragem para lutar por meus sonhos;

Aos meus pais Silvio e Selma, à minha irmã Ana Beatriz, por todo o apoio e ajuda que me deram durante todo o ano e pela oportunidade de cursar uma faculdade;

À amiga Aline Licorio, que realizou o trabalho comigo;

A todos os professores que nos ajudaram;

Ao biotério da Universidade e seus funcionários;

E especialmente à nossa orientadora Prof. Ms Márcia Clélia Leite Marcellino, por toda sua paciência, dedicação, ajuda, companheirismo e competência.

“A mente que se abre a uma nova idéia  
jamais volta ao seu tamanho  
normal.”(Albert Einstein)

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Algumas variedades de feijão (A- Marrom-malhado; B- Vermelho; C- Branco).....	14
Figura 2 – Aspectos da vagem ou fruto do feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) .....	15
Figura 3 – Estrutura química do núcleo fenólico.....	18
Figura 4 – Estrutura química do ácido fítico.....	20
Figura 5 – Estrutura geral das saponinas.....	21
Figura 6 – Etapas iniciais da produção do extrato aquoso do Feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ), segundo metodologia proposta por Pereira et al.,(2010): A= Feijão branco; B=Secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 30° até peso constante; C= Turbólise; D= Tamisação; E= Obtenção do pó granulação em torno de 60 <i>mesh</i> .....	32
Figura 7 – Processos de finalização do extrato aquoso extrato aquoso do Feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) segundo metodologia proposta por Pereira et al.,(2010) e Cheng (2008). A= Pesagem do pó; B= Agitação por 15 minutos; C= Banho de gelo (4°C); D=Centrifugação 1000g; E= Banho- maria 70° (desnaturação das proteínas termolábeis); G= Extrato aquoso de Feijão.....	33
Figura 8 – Administração dos extratos por gavagem.....	35
Figura 9 – Pesagem dos animais.....	36
Figura 10 – Comparação da média da variação ponderal no início e após 30 dias de experimento (GC: p= 0,341; GR: p=0,576 e GF: p=0,215). Teste <i>T-Student</i> (p<0,05).....	38
Figura 11 - Comparação da média do peso final entre os grupos experimentais (GC/CE:p=0,613; GC/GF: p=0,004). Teste <i>T Student</i> (p<0,05).....	39



Figura 12 -Comparação entre a média diária de ração consumo pelo grupos experimentais compostos por 6 animais por gaiola (GC/GE: p=0,757; GC/GF: p=0,826).Teste <i>T-Student</i> (p<0,05).....	42
Figura 13- Comparação dos valores de Colesterol total entre os grupos experimentais. (GC/GE: p=0,046 e GC/GF: p=0,06). Teste <i>T-Student</i> (p<0,05).....	43
Figura 14- Comparação das médias dos valores de Triglicerídeos entre os grupos experimentais. (GC/GE: p=0,046 e GC/GF: p=0,06). Teste <i>T-Student</i> (p<0,05).....	44
Figura 15 - A: Ácinos pancreáticos; IL: Ilhota de Langerhans com aspectos histológicos normais. Grupo Controle (GC). Aumento 40x. H.E.....	47
Figura 16 - Intenso infiltrado inflamatório (*) perivascular na região cortical do pâncreas. A: ácinos pancreáticos. Grupo Extrato (GE) e Grupo Faseolamina (GF) Aumento 40x. Tricrômico de Masson.....	48
Figura 17 - Intenso infiltrado inflamatório (*) perivascular na região cortical do pâncreas. A: ácinos pancreáticos. Grupo Extrato (GE) e Grupo Faseolamina (GF) Aumento 40x. Tricrômico de Masson.....	48

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	12
<b>2.1.1 Objetivos Específicos.....</b>	<b>12</b>
<b>3. DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>13</b>
3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE LEGUMINOSAS (FABACEAE).....	13
<b>3.1.1 Considerações gerais sobre o Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....</b>	<b>13</b>
<b>3.1.2 Valor Nutricional do Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....</b>	<b>14</b>
<b>3.1.3 Composição química do Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.4 Fatores Antinutricionais do Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....</b>	<b>16</b>
3.1.4.1 Compostos Fenólicos.....	18
3.1.4.2 Taninos.....	19
3.1.4.3 Fitatos ou Ácido Fítico.....	20
3.1.4.4 Lectinas.....	20
3.1.4.5 Saponinas.....	21
3.1.4.6 Inibidores de proteases.....	22
3.1.4.7 Inibidores de amilases.....	22
<b>3.1.5 Indicações farmacológicas do Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....</b>	<b>24</b>
3.1.5.1 Prevenção do Mal de Alzheimer e do Mal de Parkinson.....	24
3.1.5.2 Prevenção do Câncer.....	25
3.1.5.3 Tratamento das afecções da pele.....	25
3.1.5.4 Tratamento de transtornos respiratórios.....	26
3.1.5.5 Tratamento da Anemia.....	26
3.1.5.6 Tratamento do Diabetes melito.....	28
3.1.5.7 Prevenção e tratamento da Obesidade.....	29
3.2 EFEITOS COLATERAIS E CONTRA- INDICAÇÕES.....	30

3.3 POSOLOGIA.....	30
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
4.1 Aspectos Éticos.....	31
<b>4.1.2 Amostragem.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1.3 Preparação do extrato aquoso do feijão branco.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1.4 Preparação do extrato aquoso da Faseolamina comercial.....</b>	<b>34</b>
<b>4.1.5 Administração dos extratos de feijão e de faseolamina comercial.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1.6 Avaliação da variação ponderal dos animais.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1.7 Obtenção do sangue e seleção do material para análises histológica e biométrica do pâncreas.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1.8 Avaliações Bioquímicas.....</b>	<b>36</b>
<i>4.1.8.1 Avaliação bioquímica dos lipídios totais e fracionados.....</i>	<i>36</i>
4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
<b>5 RESULTADO E DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
5.1 VARIAÇÃO PONDERAL.....	38
5.2 CONSUMO DE RAÇÃO.....	41
5.3 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	43
<b>5.3.1 Determinação dos níveis séricos de colesterol total.....</b>	<b>43</b>
<b>5.3.2 Determinação dos níveis séricos de Triglicerídeos.....</b>	<b>44</b>
5.4 ANÁLISES HISTOLÓGICA E BIOMÉTRICA DO PÂNCREAS.....	46
<b>5.4.1 Análise histológica.....</b>	<b>47</b>
<b>5.4.2 Biometria do pâncreas.....</b>	<b>49</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas mais utilizadas na dieta humana. Trata-se de uma importante fonte de proteínas, bem como de fibras para o melhor funcionamento do aparelho digestório (Filgueira, 2000). Outros nutrientes presentes no feijão são ferro, cálcio, magnésio, carboidratos, zinco e vitaminas (principalmente do complexo B) (Soares, 1996). As regiões que mais produzem este alimento são nordeste, sul e sudeste, com produção de 7.881 toneladas por ano (AGRIANUAL, 2008).

Segundo o Índice Terapêutico Fitoterápico (ITF, 2008, p.157), os principais componentes químicos do feijão são as lectinas, glicoproteínas tetraméricas, saponinas (ácido L-pipecólico), flavonóides, proteínas alcali-solúveis e alcali-insolúveis, aminoácidos (alanina, leucina, valina, cistina, ácido aspártico, ácido glutâmico, tirosina, fenilalanina, prolina, triptofano, arginina, lisina e histidina), lipídios, niacina, entre outros. O valor nutritivo do feijão torna-se ainda maior quando combinado com outros alimentos como, por exemplo, o arroz. O feijão é pobre em aminoácidos sulfurados e rico em lisina, enquanto que o arroz é pobre em lisina e rico em aminoácidos sulfurados (COSTA, 2003).

A digestibilidade protéica do feijão é um fator muito estudado e que avalia o aproveitamento de uma fonte protéica do alimento. Este fator pode ser influenciado pelos compostos fenólicos, inibidores de proteínas e tratamento térmico. O feijão, quando cru, por exemplo, possui uma baixa digestibilidade devido aos inibidores de proteases que, por sua vez, diminuem a atividade das enzimas digestivas (MESQUITA *et al.*, 2006).

O feijão consumido em quantidade média a alta pode se associar à diminuição de riscos de doenças como diabetes, doenças cardiovasculares e neoplasias. Estes benefícios podem ter relação com os metabólitos secundários presentes nesta leguminosa, tais como os compostos fenólicos e os flavonóides. Os compostos fenólicos possuem uma propriedade antioxidante capaz de diminuir o risco de alguns tipos de câncer e a incidência de doenças degenerativas, além de regular os níveis de colesterol e glicemia do sangue (MACHADO, FERRUZI & NIELSEN, 2008).

Outra indicação para a utilização do feijão é para a prevenção de anemias, uma vez que apresenta em sua composição níveis consideráveis de ferro (Bianchi *et al.*, 1996). O feijão possui, também, uma glicoproteína muito importante chamada faseolamina. Esta é responsável pela inibição da enzima alfa-amilase, que transforma o amido ingerido em açúcar

no organismo. Desta maneira, o feijão também combate a obesidade, uma vez que a proteína faseolamina não permite a conversão do amido em açúcar (Calixto *et al.*, 1996). A busca por novas alternativas terapêuticas para a obesidade e o controle glicêmico tornam-se fundamentos de grande importância no âmbito farmacêutico e científico. A utilização de drogas vegetais e fitoquímicos (componentes ativos isolados de plantas medicinais) na prevenção e no tratamento de enfermidades encontra-se em ascensão nos dias atuais, sendo de extrema importância para o desenvolvimento de protocolos experimentais que busquem validar as propriedades benéficas e maléficas destes produtos. De acordo com o exposto, o presente estudo tem por objetivo investigar a ação do extrato aquoso do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e de seu composto isolado faseolamina, na variação ponderal e no perfil bioquímico dos lipídios séricos de *Rattus norvegicus*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos Gerais

Comparar o efeito dos extratos aquosos do feijão (*Phaseolus vulgaris*) e da faseolamina comercial na variação ponderal e no perfil bioquímico dos lipídios totais e fracionados de *Rattus norvegicus*

#### 2.1.1 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar a variação ponderal dos animais durante os 30 dias de experimento;
- ✓ Avaliar os lipídios totais e fracionados após o término do tratamento;
- ✓ Realizar a análise histológica e a morfometria do pâncreas

### 3. DESENVOLVIMENTO

#### 3.1 Considerações gerais sobre Leguminosas (Fabaceae)

A Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA, 1978) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) definiu normativamente legume como o fruto ou a semente de diferentes espécies de plantas, principalmente das leguminosas, utilizados como alimentos.

Leguminosae é uma família amplamente distribuída nas regiões tropicais, sendo a terceira maior família das angiospermas, com 730 gêneros e 19.325 espécies (Lewis *et al.*;2005). Esta família possui representantes distribuídos em todos os continentes do mundo e nos mais diversos biomas. No Brasil ocorrem cerca de 200 gêneros e 1500 espécies (Souza & Lorenzi 2005). As diferentes espécies de leguminosas estão subordinadas a três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae, muito distintas entre si e distribuídas por todos os habitats terrestres (Polhill *et al.*, 1981; Lewis *et al.*, 2005). A ocorrência da família, no Brasil, é muito significativa, sendo representada, segundo Lima (2000), por cerca de 188 gêneros e 2.100 espécies nativas, encontradas em todos os biomas brasileiros.

Na Amazônia brasileira está amplamente distribuída e ocorre em todos os ecossistemas tendo importância não só do ponto de vista ecológico quanto pelo valor econômico de suas espécies. Com destaque econômico mundial, as leguminosas têm sido usadas de diversas formas há milênios, como alimentos, bebidas, medicamentos, biocombustível, na produção de enzimas, corantes, construção, tecidos, artesanatos e mobílias, papel e polpa, mineração, produtos manufaturados, produtos químicos e fertilizantes, lixos recicláveis, horticultura e ecoturismo. Os representantes de Leguminosae apresentam hábitos variados, que abrangem desde ervas efêmeras, arbustos, lianas, cipós, árvores, até alguns membros aquáticos (LEWIS *et al.* 2005).

##### 3.1.1 Considerações gerais sobre o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

O gênero *Phaseolus vulgaris* L. inclui todas as espécies de sementes de leguminosas, normalmente conhecido como feijão comum. Pesquisas arqueológicas mostraram que o

feijão comum foi originado no continente americano, especificamente no sul do Brasil, México e América Central (GEPTS e DEBOUK, 1991).

Alvo de interesse mundial, o feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa e trata-se de uma importante fonte de proteína para a nutrição humana (Filgueira, 2000). Apresenta fibras necessárias para o funcionamento ideal do aparelho digestório (HERVATIN e TEIXEIRA, 1999).

O feijão-vagem difere-se do feijão-comum quanto ao porte, área foliar, altura, ciclo, hábito de crescimento e produtividade, principalmente, nos cultivares de crescimento indeterminado. Atualmente, as principais regiões produtoras se encontram no nordeste, sul e sudeste com produção de 7.881 toneladas por ano (Agrianual, 2008, p.352). O número exato de exemplares de *Phaseolus* ainda é desconhecido. Revisões do gênero indicam que esse número pode variar de 31 a 52 espécies, todas originárias do Continente Americano, sendo que somente cinco são cultivadas: *P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray e *P. polyanthus* Greeman (Debouck, 1993). Dentre as variedades existentes de feijões estão o feijão-mulatinho – trepadeira que se enrosca no tronco de outras árvores; o feijão-anão (*P. nanus*) que é um subarbusto ramoso; o feijão-caboclo (*P. timidu*); o feijão-escarlate (*P. coecinus*); entre outros (Figura 1), (CORDEIRO, 1996).



A figura 1 mostra algumas variedades de feijão (A- Marrom-malhado; B- Vermelho; C- Branco)

Fonte: <http://lynnescountrykitchen.net/sidedish/Beans/aboutbeans.html>

### 3.1.2 Valor nutricional do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)



O feijão é um excelente alimento, fornecendo nutrientes essenciais ao ser humano, como proteínas, ferro, cálcio, magnésio, zinco, vitaminas (principalmente do complexo B), carboidratos e fibras. Representa a principal fonte de proteínas das populações de baixa renda e constitui um produto de destacada importância nutricional, econômica e social, além de ser um dos alimentos mais tradicionais na dieta do brasileiro. Portanto, a sua contribuição como fonte de proteína e caloria é bastante significativa. Quanto ao aporte de calorias, o feijão ocupa o terceiro lugar entre os alimentos consumidos, totalizando 11,2% das calorias ingeridas por dia (Soares, 1996). Há uma grande variedade de hortaliças que derivam do feijão comum e outras espécies semelhantes como, por exemplo, as de pequeno porte (anãs) e as trepadeiras, que chegam a atingir 3m de extensão e necessitam de tutores para amarrá-las. Os tipos mais apreciados produzem vagens de vários tons, que se tornam completamente verdes quando cozidas. Estas vagens possuem sementes, que são os feijões. Estes podem apresentar diferentes cores, desde o branco até o preto, além de rajados ou matizados com pequenas manchas, conforme ilustrado na figura 2 (CAMPOS, 1986).



A figura 2 apresenta as vagens.

Fonte: [http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/seriedocumentos/doc\\_184.pdf](http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/seriedocumentos/doc_184.pdf)

As vagens não têm o mesmo valor nutritivo que as sementes, mas são utilizadas como coadjuvante no tratamento de certas doenças, devido às suas propriedades diuréticas e hipoglicemiantes. Também pode ser encontrado em áreas menores em todo o território nacional, como fonte de renda alternativa, uma vez que seu cultivo é facilmente realizado pelo fato de não necessitar de uma tecnologia avançada. Além de ser uma ótima fonte de proteína, o feijão representa a terceira melhor opção de fonte de cálcio entre 39 plantas (STEVENS, 1994).

### 3.1.3 Composição química do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

Segundo o Índice Terapêutico Fitoterápico (ITF, 2008, p157), os principais componentes químicos do feijão são as lectinas, glicoproteínas tetraméricas, saponinas (ácido L-pipecólico), flavonóides, carboidratos, proteínas como a faseolamina e faselina, proteínas alcali-solúveis e alcali-insolúveis; aminoácidos (alanina, leucina, valina, cistina, ácido aspártico, ácido glutâmico, tirosina, fenilalanina, prolina, triptofano, arginina, lisina e histidina); lipídios, vitaminas A, B1, B2, C e niacina; sais minerais como fósforo, potássio, cálcio, sódio, magnésio, ferro e cromo.

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) possui vários componentes químicos, embora o seu valor nutritivo, quando combinado com vários outros alimentos, fique bem mais fortificado do que quando consumido sozinho. O valor nutritivo da proteína do feijão quando combinado com arroz, por exemplo, forma uma mistura de proteínas mais nutritiva. Isto porque, o feijão é pobre em aminoácidos sulfurados e rico em lisina; e o arroz é pobre em lisina e relativamente rico em aminoácidos sulfurados (COSTA, 2003).

Segundo Marchioni (2009), as propriedades que fazem do feijão um aliado na prevenção do câncer é que ele é fonte de amido resistente, fibras dietéticas, oligossacarídeos e carboidratos fermentáveis.

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) possui quantidades significativas de proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais e fibras podendo, assim, ser considerado um alimento funcional (Hosfield, 1991). Apresenta, também, maior teor de fibra alimentar quando comparado a outros cereais como trigo, arroz e milho (ACEVEDO & BRESSANI, 1990).

### 3.1.4 Fatores antinutricionais do Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

Um dos estudos relevantes é a digestibilidade protéica, parâmetro nutricional que avalia o aproveitamento de uma fonte protéica, podendo ser influenciada por vários fatores, como, por exemplo, compostos fenólicos, inibidores de proteína e tratamento térmico. A

baixa digestibilidade no feijão cru é atribuída à atividade dos inibidores de proteases, que diminuem a atividade das enzimas digestivas. O tratamento térmico do feijão, no processo de cozimento, inativa os inibidores de proteases, promovendo um efeito benéfico na digestibilidade. Os compostos fenólicos possuem a propriedade de formar complexos coloridos com sais de ferro, compostos insolúveis com sais de chumbo e de sofrer substituição eletrofílica aromática de acoplamento com sais de diazônio e aldeídos, bem como formação de complexos com proteínas, tornando-as indisponíveis, e inibição de enzimas digestivas. Em feijões é observada a presença de compostos fenólicos, que se localizam principalmente no tegumento do grão e em variedades coloridas. Além da importância protéica na dieta, o feijão contém compostos fenólicos, que possuem a capacidade antioxidante e, portanto, podem assumir papel relevante na diminuição do risco de doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer, Mal de Alzheimer e Parkinson. Entre os compostos fenólicos presentes no feijão, ocorrem os taninos que são considerados tradicionalmente como antinutrientes pelos nutricionistas, por causa do efeito adverso na digestibilidade da proteína (MESQUITA *et al.*, 2006).

Os taninos são encontrados em várias espécies de plantas incluindo os cereais e as leguminosas. Nas dietas para seres humanos e espécies de animais monogástricos, taninos podem reduzir a digestibilidade da proteína, carboidratos e minerais; diminuir a atividade de enzimas digestivas, além de causar danos à mucosa do intervalo digestivo ou exercer efeitos tóxicos sistêmicos. Em geral, os taninos são classificados em hidrolisáveis e taninos condensados. Essa última classe é encontrada, geralmente, em plantas dicotiledôneas e em produtos alimentares; enquanto os hidrolisáveis são encontrados somente em quantidades traço. Ambos os tipos de taninos dietéticos exibem a habilidade em complexar e precipitar proteínas, conseqüentemente, ambos têm propriedades antinutricionais (DELFINO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

Segundo Ferreira (2010), este conjunto de fatores são inativados pelo aquecimento. Assim como outras leguminosas, o feijão apresenta um conjunto de componentes que podem ser considerados causadores de prejuízos nutricionais, tanto por afetarem diretamente a utilização de certos nutrientes como pela sensação de mal estar gerada no organismo, inibindo seu consumo.

### 3.1.4.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos presentes nas plantas possuem atividades farmacológica e antinutricional, além de inibirem a proliferação de fungos e a oxidação lipídica (Hollman e Katan, 1998). Participam, também, dos processos formadores da cor, adstringência e aroma dos alimentos (Peleg *et al.*, 1998). Trata-se de um grupo composto por várias substâncias, tais como fenóis simples, ácidos fenólicos, flavonóides, cumarinas, taninos, ligninas, entre outros. Na maioria das vezes possuem alta polaridade, são muito reativos e suscetíveis à ação de enzimas (KING & YOUNG, 1999).

Segundo Croft (1998), os compostos fenólicos estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares e proteínas.

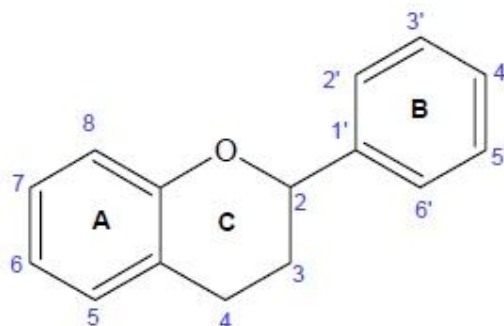


Figura 3 – Estrutura química do núcleo fenólico

Fonte: [http://www.fc.up.pt/fcup/contactos/teses/t\\_060370123.pdf](http://www.fc.up.pt/fcup/contactos/teses/t_060370123.pdf)

Quanto à sua propriedade antioxidante, os compostos fenólicos são capazes de inibir a oxidação de diversos substratos, de moléculas simples a polímeros e de biosistemas complexos. Existem dois mecanismos que inibem a oxidação: o primeiro trata-se da inibição da formação de radicais livres, que possibilitam a etapa de iniciação; o segundo diz respeito à eliminação de radicais importantes na etapa de propagação como, por exemplo, alcoxila e peroxila, doando átomos de hidrogênio a estas moléculas, o que interrompe a reação em cadeia (SIMIC & JAVANOVIC, 1994).

Os compostos fenólicos são, portanto, eficazes na prevenção da oxidação lipídica. Contudo, alguns são permitidos para uso em alimentos devido à sua toxicidade (SHAHIDI *et al.*, 1992).

#### 3.1.4.2 Taninos

Os taninos são componentes polifenólicos encontrados em plantas, alimentos e bebidas. São substâncias solúveis em água e em solventes orgânicos polares e possuem a capacidade de precipitar proteínas (Hartish e Kolodziej, 1997). A complexação entre taninos e proteínas é responsável pela adstringência de muitos frutos e plantas, sendo esta a base de algumas de suas propriedades biológicas. Outras propriedades são controle de insetos, fungos e bactérias (AERTS *et al.*, 1999).

Plantas ricas em taninos são utilizadas na medicina tradicional no tratamento de hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas renais, estomacais, processos inflamatórios em geral, entre outros. Quanto ao tratamento de queimaduras e inflamações, os taninos apresentam poder anti-séptico capaz de precipitar as proteínas das células superficiais das mucosas e dos tecidos, formando uma camada protetora sobre a pele ou mucosa danificada. Este mecanismo impede o desenvolvimento de microrganismos (HASLAM, 1996).

Na indústria alimentícia, os taninos são utilizados como antioxidantes em sucos de frutas e outras bebidas e como clarificantes de vinhos (SANTOS & MELLO, 1999).

Os compostos polifenólicos, em feijões, são primariamente encontrados na cobertura da semente com quantidades baixas ou insignificantes nos cotilédones (Sathe e Salunkhe, 1984). A diferença de coloração entre os tipos de feijões pode influenciar a concentração de taninos nos grãos (DESHPANDE & CHERYAN, 1985).

A maior tendência dos taninos para formar complexos com proteínas está relacionada à baixa digestibilidade das proteínas de leguminosas (KAUR & KAPOOR, 1992).

Segundo Deshpande (1992), os polifenóis são os maiores limitantes do valor nutritivo das leguminosas, uma vez que estudos com animais alimentados com dietas ricas dos mesmos indicaram redução da ingestão de alimentos e baixo quociente de eficiência protéica.

### 3.1.4.3 Fitatos ou Ácido Fítico

A biodisponibilidade de minerais, especialmente cálcio, magnésio e ferro é afetada pela presença do ácido fítico, cuja quantidade é determinada por vários fatores ambientais tais como condições climáticas, localização, irrigação, uso de fertilizantes, tipo de solo entre outros (FERREIRA, 2010).

O ácido fítico é uma molécula carregada negativamente em ampla faixa de pH e possui 12 prótons substituíveis. Diante desse contexto, tem grande potencial para a formação de complexos em presença de íons metálicos. O ácido coordena-se através dos grupos doadores, os fosfatos, e a estrutura resultante forma um quelato. Em pH elevado, o ácido fítico forma complexos insolúveis com cátions polivalentes, diminuindo a biodisponibilidade nutricional de muitos minerais traço (DE CARLI *et al.*, 2006).

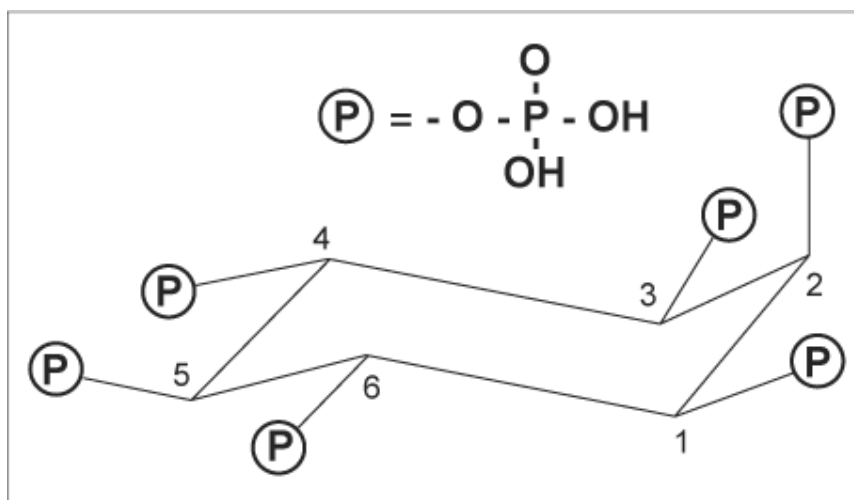


Figura 4 – Estrutura química do ácido fítico

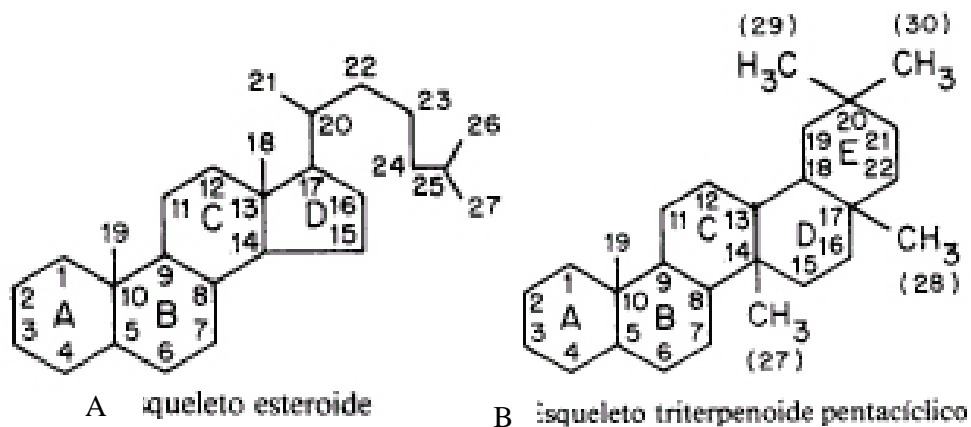
Fonte: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n2/30178.pdf>

### 3.1.4.4 Lectinas

Dentre os fatores antinutricionais os inibidores de proteases e as lectinas são considerados instáveis ao tratamento térmico. A hipertrofia pancreática causada pelos inibidores de tripsina tem sido relatada em alguns estudos com animais. As alterações da função fisiológica em animais causadas por ação de lectinas no intestino parecem estar relacionadas à especificidade destas substâncias com as células da mucosa intestinal. Os possíveis efeitos adversos dos inibidores de proteases e das lectinas na maioria das vezes são inferidos somente de experimentos com animais de laboratório (SILVA; SILVA, 2000).

### 3.1.4.5 Saponinas

As saponinas também são metabólitos secundários dos vegetais, inclusive do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e apresentam propriedades detergentes e surfactantes. Possuem um núcleo lipofílico e uma parte hidrofílica, podendo assumir uma estrutura esteroidal ou triterpenoidal. Estes compostos podem ser hidrossolúveis ou lipossolúveis. Nas plantas, as saponinas apresentam ações como regulação do crescimento, defesa contra insetos e patógenos (OLESZEK, 1996).



A figura 5 ilustra a estrutura geral das saponinas esteróidais (A) e triterpênicas (B)

Fonte: <http://www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar33c1.htm>

Outra importante ação das saponinas é a inibição do crescimento, *in vitro*, de *Escherichia coli* (Sen *et al.*, 1998). Muitas das saponinas possuem propriedade hemolítica (quando cru), visto que desorganizam a membrana dos glóbulos vermelhos do sangue. Também são capazes de se complexar com esteróides, o que lhes confere ação antifúngica e hipocolesterolemiantes (CUNHA & ROQUE, 2005).

#### 3.1.4.6 Inibidores de proteases

Os inibidores de proteases são proteínas amplamente distribuídas nos vegetais e são capazes de inibir as atividades da tripsina, quimotripsina, amilase e carboxipeptidase (Xavier-filho e Campos, 1989). Podem ser encontradas em diversas formas e geralmente são agrupadas de acordo com seus mecanismos de reação, sua origem ou similaridades estruturais (PERONA & CRAIK, 1995).

Quanto à especificidade, podem ser divididos em três grupos: os que reagem com mais de uma classe de proteases; os que são específicos para uma classe de protease e os que apresentam alta especificidade para uma única protease (PERONA & CRAIK, 1995).

Segundo Neurath (1990), inibidor enzimático é todo composto capaz de diminuir a razão da hidrólise de um substrato. As proteínas inibidoras de proteases são as proteínas capazes de formar complexos com enzimas proteolíticas. Tais complexos promovem a inibição da atividade das proteases. São encontradas em plantas, microrganismos e animais.

Os inibidores de proteases são denominados de acordo com a protease inibida ou com sua fonte. Podem agrupar-se, também, em famílias. Estas famílias podem receber o nome do pesquisador que as identificou primeiramente. As famílias mais comuns são de kunitz (inibidor de tripsina pancreático e de tripsina de soja), a kazal (inibidor de tripsina de secreção pancreática), a de inibidores Bowman-Birk (inibidores de batata I e batata II) (LASKOWSKI & KATO, 1980).

#### 3.1.4.7 Inibidores de amilases



A faseolamina é uma glicoproteína extraída do *Phaseolus vulgaris* L. e tem como principal propriedade a inibição da enzima alfa-amilase (Qian *et al.*, 2005). As alfa-amilases são enzimas monoméricas que constituem uma família de endoamilases que catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas dos carboidratos, ou seja, são enzimas que impedem a conversão de amido (carboidrato) em açúcar (Franco *et al.*, 1999). A alfa-amilase, em mamíferos, é encontrada na saliva e na secreção pancreática. No pâncreas, a enzima é regulada pelo hormônio colecistoquinina (Qian *et al.*, 2005). Com a inibição da enzima alfa-amilase, o amido não é convertido em açúcar sendo, assim, diretamente eliminado nas fezes. A faseolamina, portanto, é uma boa opção no processo de emagrecimento. O amido contribui aproximadamente com um terço de calorias totais ingeridas pelas pessoas. Cada grama de faseolamina neutraliza 2.250 calorias, *in vitro*, o que equivale a 500g de amido (CALIXTO *et al.*, 1996).

No feijão, existem dois tipos de inibidores de alfa-amilase ( $\alpha$ AI): a  $\alpha$ AI1 e a  $\alpha$ AI2, as quais diferem em suas especificidades contra diferentes  $\alpha$ -amilases. A  $\alpha$ AI1 inibe a alfa-amilase do pâncreas de suíno (APS); a  $\alpha$ AI2, por sua vez, inibe as alfa-amilases do *Zabrotes subfasciatus* (Grossi de Sá & Crhispeels, 1997). Contudo, o mecanismo de interação e especificidade inibidor-amilase é muito complexo e não totalmente desvendado. Algumas estruturas de complexos imaginários foram moduladas para fornecer análises comparativas quanto às diferenças de especificidade (FRIZZAS *et al.*, 2004).

Alguns estudos realizados em humanos mostram que uma perfusão de inibidor alfa-amilase parcialmente purificado no duodeno inibiu expressamente a atividade da amilase durante a digestão do amido (Layner *et al.*, 1985). A ingestão de inibidor purificado, juntamente com 50g de amido, reduziu os níveis de glicemia pós-prandial em indivíduos diabéticos (Layner *et al.*, 1986). Estudos clínicos constataram que o inibidor de alfa-amilase provocou a inativação de amilases, *in vitro*, e diminuiu a digestão de amido sólido de formador-dependente. A perfusão do inibidor no duodeno de humanos rapidamente inibiu de 94% a 99,9% da atividade da amilase no lúmen intestinal. Em outro estudo, 4 voluntários saudáveis receberam 50g de amido de arroz com placebo, e no segundo dia a mesma quantidade de amido com inibidor de amilase. Comparado ao placebo, o inibidor reduziu significativamente atividade da amilase em mais de 95% por 1 a 2 horas. Verificou-se um aumento nos carboidratos totais pós-prandiais. Outro estudo também constatou que o inibidor da amilase reduziu a absorção do complexo de carboidratos de íleo terminal. Um estudo feito

em ratos concluiu que o inibidor de amilase altera a quantidade e o padrão de absorção de alimentos e reduz o ganho de peso (Altern Med Rev. Mar; 9 (1) : 63-9).

### 3.1.5 INDICAÇÕES FARMACOLÓGICAS DO FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

O consumo em quantidades médias a alta de feijão está associado à diminuição de riscos para outras doenças como o diabetes, doenças cardiovasculares e até mesmo neoplasias. Acredita-se que esse efeito benéfico do consumo do feijão é devido à presença de metabólitos secundários nessa leguminosa, os fitoquímicos, principalmente os compostos fenólicos e os flavonóides (Obiro, Zhang & Jiang, 2008). Os compostos fenólicos são substâncias antioxidantes vinculadas a um menor risco no desenvolvimento de alguns tipos de câncer e a uma menor incidência de doenças degenerativas; regulam os níveis de colesterol e glicemia do sangue (MACHADO, FERRUZI & NIELSEN, 2008).

As sementes de feijão de cor escura apresentam maior teor de compostos fenólicos do que o feijão de cor clara (Pellegrini *et al.*, 2006), embora este apresente um teor de taninos condensados ou proantocianidinas superior ao do feijão colorido (BENINGER e HOSFIELD, 1999).

#### 3.1.5.1 Prevenção do Mal de Alzheimer e Mal de Parkinson

Diversos estudos evidenciam que a patogênese de várias doenças neurodegenerativas, nomeadamente a doença de Parkinson, doença de Alzheimer, esclerose múltipla e esclerose lateral amiotrófica, pode envolver a formação de EROs (espécies reativas de oxigênio) e/ ou ERAs (espécies reativas de azoto), associada à disfunção mitocondrial. O genoma mitocondrial pode desempenhar um papel essencial na patogênese dessas doenças, e provas para a mitocôndria ser um local de danos em doenças neurodegenerativas é baseado em parte em quedas observadas nas atividades da cadeia respiratória complexa em Parkinson, Alzheimer e doença de Huntington. Tais defeitos na respiração, atividades complexas,

possivelmente associadas com antioxidantes desequilibrados, são pensados para defeitos no metabolismo energético e induzir a degeneração celular (CALABRESE, 2005).

Além da importância proteica na dieta, o feijão contém compostos fenólicos, que possuem a capacidade antioxidante e, portanto, podem assumir papel relevante na diminuição do risco de doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer, Mal de Alzheimer e Parkinson (BUTTERFIELD *et al.*, 2002).

### *3.1.5.2 Prevenção do Câncer*

Segundo Marchioni (2009), as propriedades que fazem do feijão um aliado na prevenção do câncer é que ele é fonte de amido resistente, fibras dietéticas, oligossacarídeos e carboidratos fermentáveis. Seus grãos contêm antioxidantes, incluindo minerais traços e compostos fenólicos, ácido fítico, relacionados à prevenção de câncer de cólon, e fitoestrógenos. Esses últimos, além de relacionados à prevenção do câncer de mama, são fitoquímicos usados para terapias de reposição hormonal durante a menopausa. Estudos recentes destacam seu caráter protetor contra o câncer oral, que compreende boca, faringe e laringe, e também o de mama. Os estudos não associam um nutriente específico que, isoladamente, seria capaz de prevenir o desenvolvimento de câncer, mas explicam que a composição dos grãos garante uma combinação estratégica de elementos que se complementam, agindo de maneira protetora. Esses mecanismos, isoladamente ou em conjunto, poderiam explicar o efeito protetor atribuído a esse alimento nas várias fases do processo carcinogênico (MARCHIONI, 2009).

### *3.1.5.3 Tratamento das afecções da pele*

O feijão é rico em fibras e faz o intestino funcionar melhor e favorece a eliminação de toxinas, mantendo a pele saudável. O feijão também vai fazer parte dos alimentos com alto teor em ácido pantotênico, ao lado das ervilhas, da cenoura, da couve-flor e das folhas da urtiga. O feijão protege a pele e as mucosas contra as infecções, mediante um incremento da

sua resistência, e normaliza o seu metabolismo. Tem também uma grande influência no crescimento e na pigmentação do cabelo. Também nas doenças cutâneas é o feijão um magnífico remédio pelo seu alto teor de ácidos nicotínico e pantotênico. Pode recomendar-se o consumo de feijões secos nos casos de dermatose de natureza alérgica, eczemas, pruridos, acne e alterações de pele (JUNIOR, 2005).

#### *3.1.5.4 Tratamento de transtornos respiratórios*

Segundo Junior (2005), o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) por conta da sua função protetora no caso das mucosas e da pele, é conveniente empregá-lo como alimento de preferência nas doenças do aparelho respiratório, como são, por exemplo, os catarros crônicos do nariz (rinites crônicas e de origem vasomotora, coriza do feno), dos brônquios e dos pulmões.

#### *3.1.5.5 Tratamento da Anemia*

As anemias têm como etiologia a deficiência na produção de hemoglobina. As hemácias, quando em desenvolvimento, precisam de componentes como ferro, protoporfirina e globina em quantidades adequadas para que possam produzir a hemoglobina. Neste sentido, as anemias caracterizam-se pela deficiência na biossíntese da hemoglobina e podem ser classificadas em três grupos, de acordo com o componente em falta. Quanto aos distúrbios do metabolismo de ferro, podem ser classificadas em anemia ferropriva e anemia de doença crônica (Lee, 1998). A anemia causada por deficiência de ferro é a mais comum das deficiências nutricionais que ocorrem no mundo e pode ser resultado de perdas sanguíneas crônicas ou perdas urinárias, por exemplo. Neste caso há diminuição dos níveis de ferro no sangue, visto que os locais de reserva deste componente, nos macrófagos, estão depletados e, portanto, o mesmo não é fornecido ao plasma. Em consequência desta diminuição de ferro, a eritropoese (síntese de eritrócitos) fica comprometida e limitada. Este tipo de anemia atinge principalmente lactentes, crianças menores de cinco anos e mulheres em idade fértil (Lee,

1998). Por outro lado, a anemia de doença crônica geralmente acompanha doenças infecciosas, inflamatórias, traumáticas, entre outras, que persistem por mais de um ou dois meses. Este tipo de anemia também pode ser chamado de anemia de inflamação ou infecção e atinge principalmente pessoas idosas (Cançado & Chiattonne, 2002). Assim como na anemia ferropriva, na anemia de doença crônica também ocorre diminuição dos níveis de ferro no sangue (LEE, 1998).

O ferro é um metal de transição cuja extensão de utilização biológica está na capacidade de existir em diversos estados de oxidação, formar complexos e agir como centro catalítico para várias funções metabólicas. Encontrado na hemoglobina, este mineral tem uma importância fundamental no transporte de oxigênio e dióxido de carbono, indispensáveis na respiração aeróbica (Carpenter & Mahoney, 1992). Além de ser importante no transporte de oxigênio ao organismo, o ferro também participa da composição de várias enzimas celulares, fundamentais para o funcionamento do sistema imunológico, bem como dos citocromos que são indispensáveis para a produção de energia, entre outros (WORWOOD, 1996).

Cerca de 40mg de ferro são necessários para a utilização do organismo, principalmente para a substituição de hemoglobina. Grande parte desta quantidade vem da reciclagem dos suplementos do ferro existente no próprio organismo (CARPENTER & MAHONEY, 1992).

O feijão está presente na base alimentar da maioria dos brasileiros e é uma fonte de proteína de baixo valor biológico. Por outro lado, apresenta altos níveis de lisina, carboidratos complexos, vitaminas do complexo B e de ferro (Batista-filho & Ferreira, 1996). A biodisponibilidade do ferro nos alimentos depende da forma química em que se encontra e de possíveis interações que possam ocorrer com outros constituintes dos alimentos (Beard, 1996). O feijão e o grão de bico são os alimentos que apresentam as melhores disponibilidades de ferro (CANNIATI-BRAZACA & SILVA, 1999).

Segundo Martínez et al., (1999), a quantidade de ferro disponível em leguminosas é de 5,3-8,5mg/100g sendo, principalmente, o ferro não-hematínico. Os alimentos ricos em ferro ou enriquecidos com este mineral são, sem dúvida, importantes elementos na prevenção da anemia ferropriva (BIANCHI *et al.*, 1992).

O ferro hematínico é encontrado na hemoglobina e mioglobina, proveniente das carnes em geral, aves e peixes. O ferro não-hematínico está presente fundamentalmente nos alimentos vegetais, nos cereais e em outros alimentos, como composto férrico e ferroso (Food and Nutrition Board, 2001). O ferro não-hematínico é insolúvel em água e tem a absorção

afetada pela composição da dieta, além de outros fatores (Wingard , Parker , Ismail, Hakim, 1995, p.433-439). Presente nos alimentos, principalmente na forma férrica, após a digestão, pela ação do ácido clorídrico contido no suco gástrico, sendo reduzido a uma forma ferrosa, mais facilmente absorvida. apenas o ferro ferroso permanece solúvel no duodeno. A absorção do ferro não-hematínico pode ser aumentada por substâncias, como o ácido ascórbico, que formam quelantes de ferro de baixo peso molecular, assim como as proteínas, a frutose e o citrato, que formam complexos solúveis com o ferro, facilmente absorvidos. Por outro lado, a absorção do ferro não-hematínico pode ser diminuída por alguns componentes da dieta como os fosfatos, taninos, polifenóis e oxalatos, por formarem complexos insolúveis com o ferro, afetando assim sua biodisponibilidade (WORWOOD, 1996, p.1-10).

#### *3.1.5.6 Tratamento do Diabetes melito*

O diabetes melito é uma síndrome que compromete o metabolismo dos carboidratos, das gorduras e das proteínas, causada pela ausência de secreção de insulina ou pela redução da sensibilidade dos tecidos à insulina. Uma característica desta síndrome é a resposta defeituosa da secreção de insulina, o que resulta em hiperglicemia (Cotran; Kumar; Robbins, 1994). Atualmente, trata-se de uma das enfermidades mais importantes que afetam a humanidade. A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem estimulado a investigação de plantas medicinais para o tratamento da doença pois, de acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), em 2002, existiam cerca de 173 milhões de diabéticos no mundo (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2008).

O aumento desta enfermidade no mundo é um assunto preocupante, visto que de cada 20 mortes, uma é causada por esta doença. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a previsão é que o número de diabéticos no mundo dobre nos próximos 25 anos e, no Brasil, este número pode chegar a 11,3 milhões até 2030 (WHO, 2003).

O diabetes mellitus tipo 2 (não insulino dependente) é a forma presente em 90%-95% dos casos da doença e caracteriza-se na ação e na secreção da insulina. Em geral, ambos os defeitos aparecem quando a hiperglicemia se manifesta, podendo haver predomínio de um deles. Algumas características que os pacientes portadores deste tipo de diabetes apresentam são obesidade e cetoacidose. Normalmente o diabetes mellitus 2 é diagnosticado após os 40 anos de idade (ONKAMO *et al.*, 1999).

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) possui quantidades significativas de proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais e fibras podendo, assim, ser considerado um alimento funcional (Hosfield, 1991). Apresenta, também, maior teor de fibra alimentar quando comparado a outros cereais como trigo, arroz e milho (ACEVEDO & BRESSANI, 1990).

A fibra alimentar é composta por uma fração solúvel e uma insolúvel. A primeira é composta por substâncias pécicas, gomas, algumas hemiceluloses e  $\beta$ -glucanas; a segunda é composta por celulose, lignina e pela maioria das hemiceluloses (Guerra et al., 2004). A parte solúvel destas fibras apresenta interesse farmacológico para os pacientes portadores de diabetes, visto que seus componentes possuem ação hipoglicemiante, o que ajuda no controle dos níveis de glicose no sangue (TOPPING, 1991).

Segundo Cunha, Silva e Roque (2003, p.320), o feijão é indicado no controle da glicemia em portadores de Diabetes, sendo seu efeito ligeiramente hipoglicemiante associado a presença da arginina, ácido silfício e sais de cromo.

Os grãos têm digestão e absorção mais lenta do que alimentos refinados, e diminuem a resposta glicêmica sanguínea pós-prandial (MARCHIONI, 2009).

A necessidade de novos fármacos tem estimulado a pesquisa de moléculas que atuem como inibidores enzimáticos. Os inibidores protéicos de  $\alpha$ -amilase são amplamente distribuídos entre as plantas, principalmente nos cereais (trigo, cevada, feijão). Tal inibição induz tolerância a carboidratos, saciedade, perda de peso e prolonga o esvaziamento gástrico. Estes efeitos podem ser úteis no tratamento da obesidade e do diabetes mellitus não-insulino dependente. (CHEN *et al.*, 2008).

### 3.1.5.7 Prevenção e tratamento da Obesidade

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a obesidade é um problema de saúde pública que afeta crianças, adolescentes e adultos (Who, 1998). Nos últimos anos, a incidência da obesidade tem aumentado consideravelmente em várias regiões do mundo, o que apresenta como conseqüência o aumento da mortalidade e morbidade com implicações no indivíduo, na família e na comunidade, segundo dados do International Obesity Task Force (2000).

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) possui em sua composição substâncias inibidoras da enzima alfa-amilase, como a faseolamina. A alfa-amilase é a enzima responsável por

transformar o amido ingerido em açúcar. Dessa maneira, a faseolamina pode ajudar no combate à obesidade, visto que o amido não é convertido em açúcar com a inibição da alfa-amilase, sendo eliminado diretamente nas fezes. Cada grama de faseolamina neutraliza 2.250 calorias, *in vitro*, o que equivale à 500mg de amido (Calixto *et al.*;1996).A isoforma-1 do inibidor da alfa-amilase presente no feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), apresenta potencial efeito no combate à obesidade e no tratamento adjuvante do diabetes.As fibras solúveis que, depois de ingeridas, se transformam em gel, permanecendo mais tempo no estômago, o que acarreta uma maior sensação de saciedade. Tal “gel” atrai as moléculas de gordura e de açúcar, que são eliminados pelas fezes, ajudando assim, a prevenir e tratar a obesidade (MACHADO, FERRUZI & NIELSEN, 2008).

### 3.2 Efeitos colaterais e contra-indicações

Estudos clínicos realizados com o componente faseolamina do feijão observaram, como efeitos colaterais, diarreia, gases e dores abdominais, ocorrendo em dosagens maiores do que a necessária (Dipiro *et al.*, 1996). O uso de *Phaseolus vulgaris* L., quando cru, não é indicado para gestantes e pessoas com hipoglicemia (COSTA, 2011).

Na presença de hipertensão arterial, cardiopatia ou insuficiência renal moderada ou grave, só deve ser usado com orientação médica. Em diabéticos, pode haver necessidade de ajuste nas dosagens de insulina (CUNHA; SILVA,; ROQUE,2003, p.320-321).

### 3.3 Posologia

Segundo Costa (2011), a posologia correta para a administração do *Phaseolus vulgaris* L. não deve exceder 1g/dia. Isto porque o feijão possui toxinas que, quando ingeridas *in natura* na dosagem acima de 1g/dia, é capaz de desencadear efeitos indesejáveis.

A ingestão diária do pó do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) deve variar de 0,6 a 1,2 g, enquanto que o extrato fluido (1:1) deve ser administrado 30 a 50 gotas, 1 a 2 vezes por dia (CUNHA; SILVA,; ROQUE,2003, p.320-321).



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Sagrado Coração – USC, segundo protocolo 156/11.

#### 4.1.2 Amostragem

A amostragem foi constituída de 18 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) com 90 dias de idade, fêmeas, pesando em média 200 a 300 gramas, provindas do Biotério da Universidade do Sagrado Coração (USC). Durante o período experimental, os animais permaneceram acondicionados em gaiolas de polietileno, contendo cada uma 6 animais. A alimentação foi feita com ração da marca *Labina* para roedores e o fornecimento de água *ad libitum*. O ambiente de manutenção apresentou controle de temperatura ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) e ciclo claro-escuro de 12 horas, sendo constantemente limpo e arejado. Durante todo o experimento, o controle, a manutenção e a observação dos animais foram executadas no Biotério da Universidade do Sagrado Coração – USC.

#### 4.1.3 Preparação do extrato aquoso do feijão branco (*Phaseolus vulgaris* L.)

O extrato aquoso foi preparado com feijão branco (*Phaseolus vulgaris* L.) obtido em supermercados de Bauru/SP. A preparação do extrato aquoso foi realizada no laboratório de Química da Universidade do Sagrado Coração - USC. Seguindo a metodologia proposta por Pereira *et al.*, 2010, os grãos com casca foram lavados com água destilada, secos em estufa com circulação de ar a  $30^{\circ}\text{C}$  até peso constante, sendo, em seguida moídos por turbólise (trituração em liquidificador). O material pulverizado passou pelo processo de tamisação até a obtenção do pó granulação em torno de 60 *mesh*. A figura 6 mostra a obtenção da farinha de feijão branco.

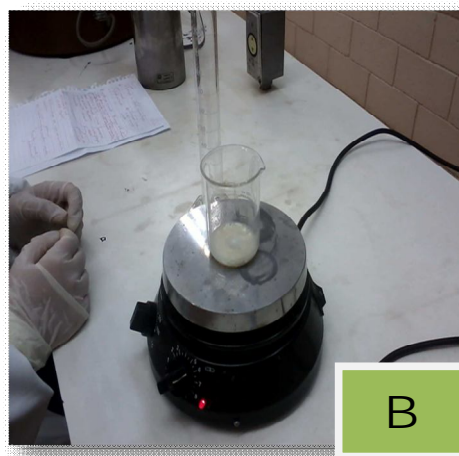


A figura 6 ilustra as etapas iniciais da produção do extrato aquoso do Feijão (*Phaseolus vulgaris*), segundo metodologia proposta por Pereira *et al.*,(2010): A= Feijão branco;

B=Secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 30° até peso constante; C= Trituração; D= Tamisação; E= Obtenção do pó granulado em torno de 60 *mesh*.

Em balança analítica da marca Marte- Shimadzu AY-220 foi pesado 1 grama do pó obtido anteriormente. Em seguida foi adicionado a água destilada utilizada como extrator, na proporção de 1:5, sob agitação com Agitador Magnético com Aquecimento MSH-300, por 15 minutos. Após agitação do líquido, este foi inserido em banho de gelo, até a temperatura de 4°C. Em seguida, o líquido foi transferido para tubo de centrífuga, sendo centrifugado por 10 minutos numa velocidade de 1000 g. O sobrenadante obtido foi desprezado, enquanto que o sedimento foi diluído em 5 mL de água destilada, sendo novamente centrifugado (3 reextrações foram realizadas, seguindo as condições citadas).

O extrato protéico preparado nas condições estabelecidas anteriormente foi colocado em banho-maria a 70°C para desnaturação de proteínas termolábeis contaminantes durante 5 minutos (Cheng, 2008, p.765). A exposição do extrato à temperatura de 70°C por 5 minutos não provoca a perda da faseolamina (inibidor da alfa-amilase) (Pereira *et al.*,2010). O extrato aquoso receberá Nipagim® (Metilparabeno) e Nipazol® (Propilparabeno) na dosagem de 1:1, sendo estes últimos conservantes e posteriormente foi acondicionado em frasco hermeticamente fechado, ao abrigo da luz, sendo mantidos em refrigeração até a utilização (volume obtido do extrato = 10 mL).





A figura 7 mostra os processos de finalização do extrato aquoso do Feijão (*Phaseolus vulgaris*) segundo metodologia proposta por Pereira et al.,(2010) e Cheng (2008). A= Pesagem do pó; B= Agitação por 15 minutos; C= Banho de gelo (4°C); D=Centrifugação 1000g; E= Banho- maria 70° (desnaturação das proteínas termolábeis); G= Extrato aquoso de Feijão

#### 4.1.4 Preparação do extrato aquoso de Faseolamina Comercial

Foi utilizado o extrato aquoso Faseolamina *Phase 2* da marca Integral Médica, na dosagem de 1500mg/dia, sendo esta dosagem convertida para a média do peso dos animais em estudo. O extrato foi diluído em solução aquosa (água destilada) contendo Nipagim® (Metilparabeno) e Nipazol® (Propilparabeno) na concentração de 1:1, sendo estes últimos

conservantes. A concentração diária estabelecida neste estudo será concentrada em 0,3 mL de extrato aquoso por dia.

#### 4.1.5 Administração dos extratos de feijão e de faseolamina comercial

A administração foi feita por gavagem (Figura 8) , num volume diário de 0,3 mL por dia, durante 30 dias. Os animais do grupo controle (GC) irão receber o mesmo volume do extrato aquoso com os respectivos conservantes (Nipagim e Nipazol). Quanto a concentração do extrato aquoso de feijão branco, administrou-se 1 g ou 1000 mg em 0,3 mL de veículo aquoso, enquanto que a dosagem da Faseolamina comercial 1500 mg em 0,3 mL, sendo os valores convertidos para o peso dos animais (350g).



A figura 8 mostra a administração dos extratos por gavagem

Fonte; Arquivo pessoal

#### 4.1.6 Avaliação da variação ponderal dos animais

Os animais de cada grupo foram pesados em balança analítica da marca Urano (Figura 9), uma vez por semana, sendo os valores obtidos anotados em prontuários e encaminhados para análise estatística.



Figura 9 - Pesagem dos animais

Fonte: Arquivo pessoal

#### 4.1.7 Obtenção do sangue e seleção do material para análise histológica e morfométrica

Os animais de ambos os grupos foram eutanasiados com dose letal de Ketamina (2mL/animal) e Xilazina (2mL/animal), para a coleta do sangue. O sangue foi coletado por punção cardíaca, num volume médio de 2 mL, sendo este acondicionado em tubos de SST e encaminhados para o laboratório de Análises Clínicas da Universidade Sagrado Coração – USC, onde foi realizada a dosagem bioquímica dos lipídios totais e fracionados. Após a coleta do sangue foi feita uma incisão abdominal para retirada do pâncreas. O órgão foi embebido em soro fisiológico 0,9% para a realização da pesagem em balança analítica e biometria com auxílio de paquímetro. Em seguida o pâncreas foi acondicionado em formol a 10% e encaminhados para o Laboratório de Histologia da USC, onde foram confeccionadas as lâminas histológicas coradas pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE) e tricrômio de Masson.

#### 4.1.8 Avaliações Bioquímicas

##### 4.1.8.1 Avaliação Bioquímica dos Lipídios totais e fracionados

A determinação da dosagem de colesterol total foi realizada pelo kit Labtest, adicionando 0,01mL da amostra (soro) a 1,0mL do reagente 1, foram misturados e incubado a 37°C durante 10 minutos, determinando as absorbâncias do teste em 500nm em

Espectrofotômetro digital modelo E-225D, com faixa de leitura 320 nm até 1000nm, acertando o zero com o branco. As amostras de sangue foram obtidas após um jejum de 12 horas. Os resultados obtidos foram calculados de acordo com a recomendação do fabricante (Kit Labtest, Brasil). Os resultados foram obtidos foram comparados com os valores de referência para de ratos publicado por Mitruka e Rawnsley, 1977.

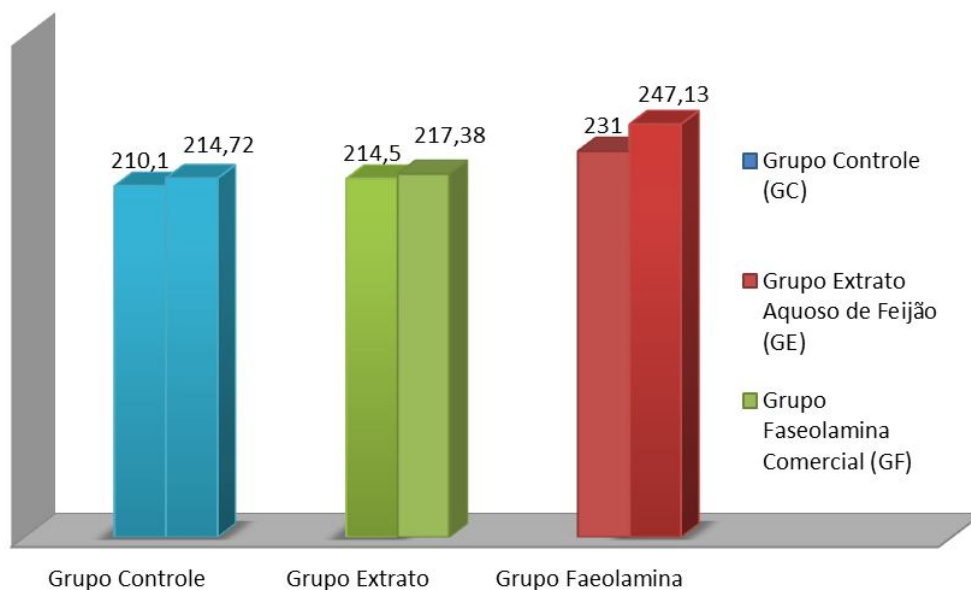
#### 4.2 Análise estatística

Os dados obtidos foram tabulados e a análise estatística foi feita pelo teste *T-Student*, com o valor de significância  $\leq 0,05$ , realizada com auxílio do *Microsoft Sigma Stat*.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 VARIAÇÃO PONDERAL

A figura 10 mostra a média do peso na primeira e na última semana do experimento. Nota-se que todos os animais dos grupos Controle (GC), Extrato Aquoso de Feijão (GE) e Faseolamina Comercial (GF) aumentaram de peso após 30 dias de tratamento, entretanto, esta variação não foi estatisticamente significativa (GC:  $p=0,341$ ; GE:  $p=0,576$  e GF:  $p=0,215$ ), segundo o Teste *t-Student* ( $p<0,05$ ), empregado neste estudo.

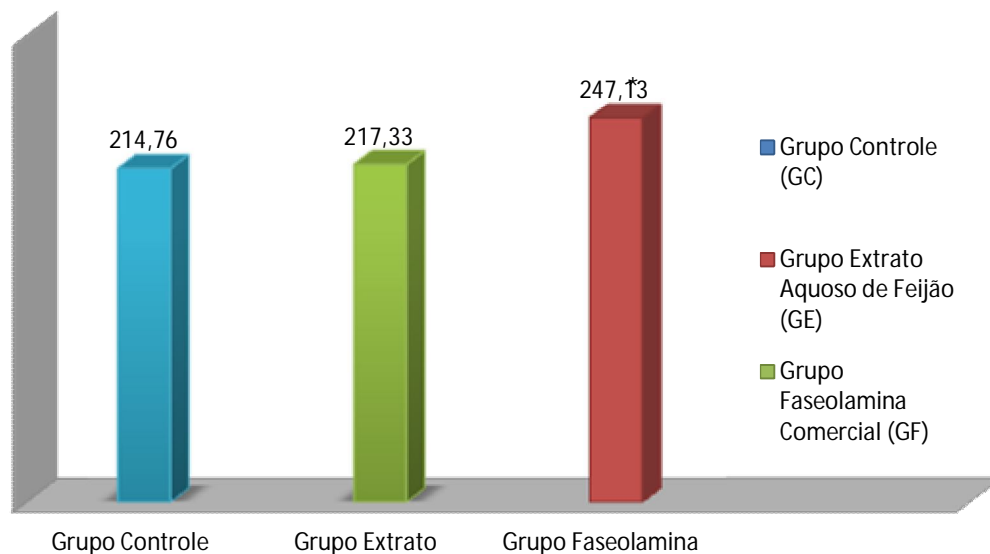


A figura 10 mostra a comparação da média da variação ponderal no início e após 30 dias de experimento (GC:  $p=0,341$ ; GE:  $p=0,576$  e GF:  $p=0,215$ ). Teste *T-Student* ( $p<0,05$ ).

A comparação do peso final entre o Grupo Controle (GC) com o Grupo Extrato Aquoso de Feijão (GE) e Grupo Faseolamina Comercial (GF), está exposto na figura 11. Nota-se que o GE apresentou um discreto aumento de peso quando comparado ao GC, não sendo estatisticamente significativo ( $p=0,613$ ), no entanto, o GF os animais



apresentaram aumento ponderal, sendo estatisticamente superior a média de peso final do GC ( $p=0,004$ ).



A figura 11 mostra a comparação da média do peso final entre os grupos experimentais (GC/CE: $p=0,613$ ; GC/GF:  $p=0,004$ ). Teste *T Student* ( $p<0,05$ ).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define a obesidade como acúmulo excessivo de gordura no corpo que pode acarretar problemas graves de saúde como doenças cardiovasculares, hipertensão e diabetes. Segundo a Organização, a obesidade é considerada a mais importante desordem nutricional, uma epidemia mundial. A incidência da doença é alta, tanto em países desenvolvidos, quanto em subdesenvolvidos e nenhuma faixa etária está livre desse problema. Em 2007 o Centro de Estudos em Psicologia da Saúde (CEPSIC) da USP realizou uma pesquisa com noventa obesos mórbidos. O resultado da pesquisa, que abordou diferentes áreas da vida de um obeso, constatou que 72% sofrem de hipertensão arterial, 61% apresentam alguma alteração na coluna, 39% têm distúrbios do sono, 44% possuem varizes. Outras doenças graves também foram detectadas como artrite, artrose e diabetes em 28% dos casos de obesidade.

Segundo Obiro, Zhang e Jiang (2008) o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta a isoforma 1 do inibidor da alfa-amilase, que apresenta potencial efeito no combate à obesidade e no tratamento adjuvante do diabetes. A faseolamina é uma glicoproteína extraída do *Phaseolus vulgaris* L. e tem como principal propriedade a inibição da enzima alfa-amilase (Qian *et al.*, 2005). As alfa-amilases são enzimas monoméricas que constituem uma família

de endoamilases que catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas dos carboidratos, ou seja, são enzimas que impedem a conversão de amido (carboidrato) em açúcar (Franco et al., 1999). A alfa-amilase, em mamíferos, é encontrada na saliva e na secreção pancreática. No pâncreas, a enzima é regulada pelo hormônio colecistoquinina (Qian *et al.*, 2005). Com a inibição da enzima alfa-amilase, o amido não é convertido em açúcar sendo, assim, diretamente eliminado nas fezes. A faseolamina, portanto, é uma boa opção no processo de emagrecimento. O amido contribui aproximadamente com um terço de calorias totais ingeridas pelas pessoas. Cada grama de faseolamina neutraliza 2.250 calorias, *in vitro*, o que equivale a 500g de amido (Calixto et al.; 1996). De acordo com Calixto *et al.* (1996), Chokshi, (2007) acredita que o inibidor extraído do feijão branco diminua o conteúdo calórico fornecido pela ingestão de carboidratos por inibir a enzima  $\alpha$ -amilase, responsável pela conversão dos carboidratos complexos (amido) em açúcares simples e consequentemente diminuindo a absorção de açúcar no intestino delgado.

Metodologias para purificação do inibidor faseolamina foram propostas desde a década de 1980 e os processos relatados envolvem tratamento por calor, precipitação, diálise, e cromatografias de filtração molecular, troca iônica, interações hidrofóbicas e de afinidade. A etapa de preparação da amostra torna-se um desafio para obtenção de métodos mais rápidos, que utilizem menores volumes e concentração mais eficiente de proteínas inibidoras (Marshall e Lauda, 1975). De acordo com o exposto, o presente estudo optou em testar a formulação proposta por Pereira *et al.* (2010), manipulando o extrato aquoso da farinha do feijão branco (*Phaseolus vulgaris* L.). De acordo com os dados obtidos, tanto o extrato aquoso do feijão branco quanto à faseolamina comercial não reduziram o peso dos animais tratados por 30 dias, em comparação aos valores obtidos do grupo controle. O grupo da Faseolamina (GF) comercial, ao contrário do esperado, aumentou significativamente o peso dos animais tratados ( $p=0,004$ ) em relação aos integrantes do grupo controle (GC).

Em um estudo com seres humanos foi usado 1500 mg de extrato de feijão branco, duas vezes ao dia, no almoço e no jantar, por 8 semanas, associado a uma dieta adequada, foi demonstrado que o grupo que recebeu a faseolamina obteve uma perda de peso 129% maior que o grupo controle, no entanto foi um estudo com amostra pequena, onde apenas 27 participantes seguiram as orientações até o fim do tratamento (Jay, Hardy, Madson, Damian, 2004). No presente estudo, a dosagem padronizada do extrato da faseolamina foi a mesma do estudo citado anteriormente, entretanto, houve diferença na posologia (administração uma vez

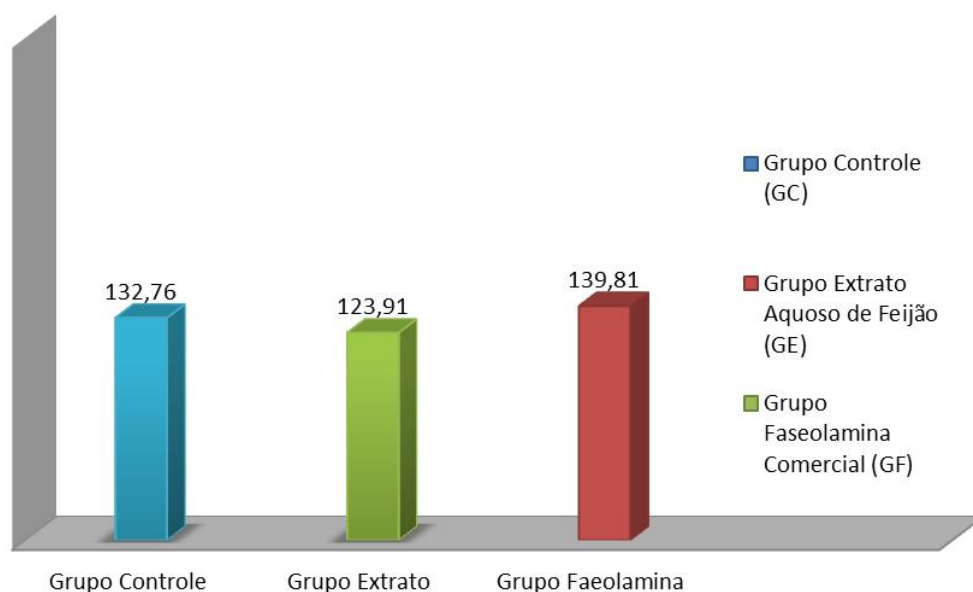
por dia de 1500 mg, enquanto que no estudo citado foi administrado o dobro da concentração estabelecida por dia).

Apesar desta consideração, outro estudo feito por Celleno *et al.* (2007) analisaram a suplementação dietética de 450 mg de extrato de *Phaseolus vulgaris* sobre a composição corporal de 60 voluntários com sobrepeso, por 30 dias consecutivos, sendo administrado antes das refeições ricas em carboidratos. Este estudo constatou que os indivíduos que receberam o extrato apresentaram resultados significativamente melhores quanto à perda de peso, redução do IMC, massa gorda, espessura do tecido adiposo e relação cintura e quadril, e ainda houve uma melhor manutenção da massa magra, quando comparados ao grupo placebo. Novamente os dados obtidos em comparação ao presente estudo estão em desacordo, ou seja, mesmo com menores concentrações do extrato notou-se uma redução de significativa do peso.

Segundo Dipiro *et al.* (1996), a faseolamina deve ser consumida cerca de 30 minutos antes da ingestão dos alimentos que contêm amido. Dessa maneira, a redução da absorção de gordura e açúcares pode ser mais eficaz. No presente estudo a impossibilidade de padronizar a posologia para os animais dos grupos de experimento possivelmente esteja relacionada a falta de êxito dos extratos testados na redução ponderal dos grupos experimentais.

## 5.2 CONSUMO DE RAÇÃO

Durante os 30 dias de tratamento, foram ofertadas a cada gaiola, composta por 6 animais, o equivalente a 400 g de ração para roedores da marca *Labina*. A figura 12 apresenta a média da ração consumida diariamente por gaiola (composta por 6 animais). A comparação do consumo médio obtido no GC com o GE não apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p=0,757$ ) e o mesmo ocorreu na comparação entre o GC com GF ( $p=0,826$ ).



A figura 12 mostra a comparação entre a média diária de ração consumo pelo grupos experimentais compostos por 6 animais por gaiola (GC/GE:  $p=0,757$ ; GC/GF:  $p=0,826$ ). Teste *T-Student* ( $p<0,05$ ).

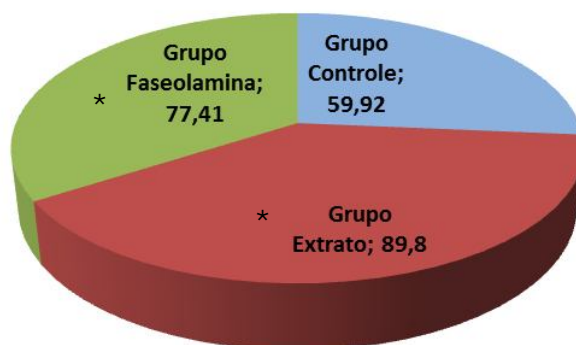
O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos alimentos mais importantes da dieta de milhões de pessoas de países subdesenvolvidos e desenvolvidos. É uma das principais fontes de proteínas, carboidratos, fibras alimentares, ferro, vitaminas, minerais, entre outros. O feijão possui, também, componentes químicos com ação funcional como, por exemplo, flavonóides, flavonóis (glicosados ou não), isoflavonas, ácidos fenólicos, antocianidinas e proantocianidinas (Lin *et al.*, 2008). Trata-se, também, de um alimento funcional, alimento que apresenta efeitos fisiológicos benéficos e que reduz o risco de doenças crônicas. Segundo estudos realizados com diversas variedades de feijão, seu potencial como alimento funcional foi comprovado, uma vez que diminuiu o risco de doenças cardiovasculares e renais, reduziu os níveis glicêmicos em pessoas portadoras de diabetes, aumentou a saciedade dos indivíduos que o consumiram e preveniu o câncer (ANDERSON *et al.*, 1999).

Segundo Obiro, Zhang & Jian (2008), o feijão possuem fibras solúveis que, depois de ingeridas, transformam-se em um gel. Este gel permanece no estômago por um maior tempo, o que causa uma maior sensação de saciedade. Os relatos obtidos na revisão bibliográfica, citados acima, estão em acordo com o resultado obtido no presente estudo, uma vez que os extratos aquosos do feijão e da faseolamina não alteraram a conduta alimentar dos animais tratados (GF e GE, respectivamente) quando comparados ao grupo controle.

### 5.3 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

#### 5.3.1 Determinação dos níveis séricos de colesterol total

Os valores de referência estabelecidos para o Colesterol total de *Rattus norvegicus* adultos varia de 10 a 54 mg/dL, enquanto que os valores de triglicérides são 56 a 77 mg/dL (Mitruka e Rawnsley,1977). A figura 13 apresenta os valores de colesterol total obtidos nos grupos em estudo. Nota-se que os GE e GF, apresentaram níveis séricos de colesterol total superiores a média dos valores obtidos no GC, sendo a diferença estatisticamente significativa (GC/GE:  $p=0,046$  e GC/GF:  $p=0,06$ , respectivamente).



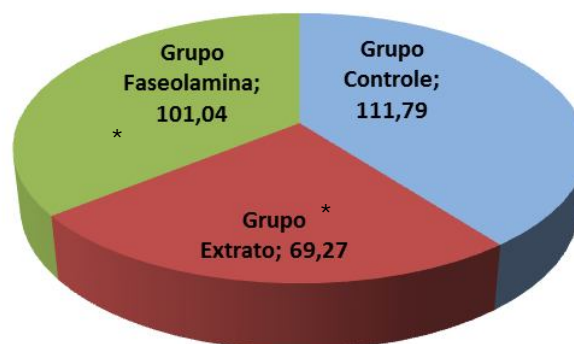
A figura 13 mostra a comparação dos valores de Colesterol total entre os grupos experimentais. (GC/GE:  $p=0,046$  e GC/GF:  $p=0,06$ ). Teste *T-Student* ( $p<0,05$ ).

Segundo Berthou *et al.* (1996), as fibras estão presentes em alimentos derivados de leguminosas, aveia, cevada, em frutas, nos grãos em geral, hortaliças e trigo. Podem ser classificadas de acordo com sua solubilidade em: solúveis em água e insolúveis em água. As fibras solúveis em água são representadas pelas gomas (em leguminosas) e pelas pectinas (frutas). As insolúveis em água, por sua vez, são representadas pela hemicelulose (grãos), lignina (hortaliças) e celulose (trigo). Estas atuam aumentando o trânsito intestinal e o volume fecal; retardam a absorção de glicose e amidos, não reduzem o colesterol, contudo, auxiliam na redução da ingestão calórica. Um estudo avaliou o valor nutricional, a biodisponibilidade de ferro e zinco e os efeitos funcionais de cinco cultivares de feijão: Branco (Outro Branco), Negro (Diamante Negro) e marrom-rajado (Pérola, BRS Radiante e Talismã). Para avaliar o

valor nutricional, foram utilizadas farinhas de feijão cru, cozido sem maceração, cozido com água de maceração e cozido sem água de maceração. Dentre os resultados obtidos, o feijão Diamante Negro teve a melhor ação hipocolesterolemiantes, enquanto que o feijão Ouro Branco foi o cultivar que menos diminuiu o colesterol, além de ter sido o único que não promoveu a redução de glicose (Cardenas, 2006). Os dados obtidos no presente estudo corroboram com os dados da literatura, visto que ao final de 30 dias de administração, os níveis séricos do colesterol total do GF e GE aumentaram quando comparados ao GC.

### 5.3.2 Determinação dos níveis séricos de Triglicerídeos

Os valores obtidos na determinação sérica de triglicerídeos estão na figura 14. Segundo Mitruka e Rawnsley, (1977) os valores de triglicerídeos são 56 a 77 mg/dL . Apesar dos níveis séricos de triglicerídeos obtidos nos GE e GF serem menores que os do GC, a diferença não foi estatisticamente significativa segundo o Teste T-Student ( $p < 0,05$ ), utilizado neste estudo (GC/GE:  $p = 0,092$ ; GC/GF:  $p = 0,707$ ).



A figura 14 mostra a comparação das médias dos valores de Triglicerídeos entre os grupos experimentais. (GC/GE:  $p = 0,046$  e GC/GF:  $p = 0,06$ ). Teste *T-Student* ( $p < 0,05$ ).

Segundo Jay *et al.* (2004), foi feito um estudo utilizando cinquenta adultos obesos, com idade média de 36,5 anos e média de peso de 193,1 libras. Neste estudo, os sujeitos foram alocados aleatoriamente para receber ou 1.500 mg de extrato de feijão *Phase 2* ou placebo idêntico duas vezes ao dia (almoço e jantar), durante oito semanas. Os sujeitos iniciaram uma dieta controlada contendo altos níveis de fibras e baixo conteúdo de gorduras. A ingestão de carboidratos lhes foi recomendada com bases nos requisitos diários estimados.

Foram, também, instruídos a ingerir a maior parte de carboidratos durante o almoço e jantar, uma vez que o *Phase 2* e o placebo eram administrados nessas horas. Ao final do experimento, os níveis de triglicerídeos das pessoas que utilizaram o *Phase 2* diminuíram, em média, 26,3 mg/dL. Esta redução foi três vezes maior que a queda de 8,2 mg/dL obtida no grupo de pessoas que tomaram o placebo. Outro estudo utilizando 60 voluntários com sobrepeso, recebendo 450 mg diárias de extrato de *Phaseolus vulgaris* L. antes das refeições, durante 30 dias, constatou que estes indivíduos apresentaram resultados significativamente melhores quanto à perda de peso, redução do IMC, massa gorda, espessura do tecido adiposo e relação cintura quadril comparados ao grupo placebo. Houve, também, redução dos níveis glicêmicos, de colesterol e de triglicerídeos (CELLENO *et al.*, 2007).

As informações acima citadas corroboram com o resultado obtido em nosso estudo, pois os níveis de triglicerídeos dos GF e GE foram menores do que o do GC. Entretanto, as demais variáveis não apresentaram relevância estatística perante a administração de ambos os extratos. Postula-se que a redução de triglicerídeos tenha ocorrido como consequência da intensa e persistente diarreia observada a partir da primeira semana de administração, nos animais tratados com os respectivos extratos. Esta redução parece não ter relação com a ação da Faseolamina, cuja atuação é inibir a digestão dos carboidratos.

#### 5.4 ANÁLISES HISTOLÓGICA E BIOMÉTRICA DO PÂNCREAS

Os inibidores da enzima  $\alpha$ -amilase com efeitos na inibição da digestão e absorção do amido têm sido utilizados na terapêutica como adjuvantes em dietas para perda de peso e efeito hipoglicemiante em pacientes portadores de diabetes mellitus não-insulino dependentes. No entanto o feijão comum possui alguns atributos indesejáveis, tais como: fitatos, fatores flatulentos, compostos fenólicos, inibidores enzimáticos, lectinas e alergênicos, os quais devem ser eliminados para sua efetiva utilização como alimento (Gupta, 1987; Sathe *et al.*, 1984). A presença do inibidor de tripsina em amostra comercial sugere não tratar-se de um inibidor de  $\alpha$ -amilase purificado e de boa qualidade. Os efeitos nocivos dos inibidores de tripsina em animais alimentados com leguminosa crua são complexos. Muitos estudos com animais monogástricos têm atribuído a estes inibidores efeitos deletérios, principalmente alterações metabólicas do pâncreas (aumento da secreção enzimática, hipertrofia e hiperplasia) e redução da taxa de crescimento (Al-WESALI *et al.*, 1995)

O pâncreas é uma glândula volumosa que se desenvolve, embriologicamente, a partir de um brotamento do intestino primitivo. É envolvido por uma cápsula de tecido conjuntivo da qual partem delicados septos que se dispõem entre os diversos lóbulos aí existentes.

O pâncreas é um órgão glandular que apresenta uma forma alongada e cônica e está situado transversalmente na parte superior da cavidade abdominal. É possível distinguir três segmentos distintos no pâncreas: a cabeça, que corresponde à porção mais larga, orientada para a direita e adjacente ao duodeno, para onde deságua as suas secreções digestivas; o corpo, que corresponde à porção central e mais extensa, a qual cruza a cavidade abdominal até a esquerda, por trás do estômago e à frente da coluna vertebral; a cauda, que corresponde à porção mais fina e estreita, prolonga-se até a parte esquerda do abdômen, próximo do baço.

O pâncreas tem uma dupla função: por um lado, o pâncreas exócrino encarrega-se de fabricar e enviar enzimas digestivas para o intestino delgado; por outro lado, o pâncreas endócrino é o responsável pela elaboração e secreção dos hormônios insulina e glucagon para o sangue.



A insulina exerce a sua ação sobre receptores específicos que se encontram nas membranas de diversos tipos de células, principalmente nas células musculares e adiposas. A ação principal da insulina é igualmente específica, pois quando este hormônio se fixa aos seus receptores, a parede celular fica permeável à glicose, o que possibilita a passagem deste nutriente, a principal fonte de energia das células, do sangue para o interior das células.

O glucagon é o hormônio fabricado pelas células alfa das ilhotas de Langerhans do pâncreas. A ação específica mais importante deste hormônio é promover a degradação do glicogênio armazenado nas células hepáticas e propiciar a saída para o sangue das moléculas de glicose geradas a partir deste processo metabólico. Todavia, o glucagon tem uma ação hiperglicemiante, ou seja, contrária à da insulina, pois favorece o aumento da concentração de glicose no sangue.

Considerando as citações, o presente estudo realizou a avaliação histológica e morfométrica do pâncreas na intenção de avaliar possíveis alterações decorrentes da presença de inibidores de tripsina nos extratos utilizados.

#### 5.4.1 Análise histológica

A análise histológica do pâncreas dos animais do grupo controle (GC) (figura 10) não evidenciou alterações histológicas nas células produtoras do suco pancreático, também chamadas ácinos pancreáticos e nas Ilhotas de Langerhans, situadas na região medular do órgão. Entretanto, nas lâminas dos animais tratados com o extrato aquoso de feijão (GE) e Faseolamina comercial (GF), ocorreu evidência de intenso infiltrado inflamatório perivascular (figuras 11 e 12).

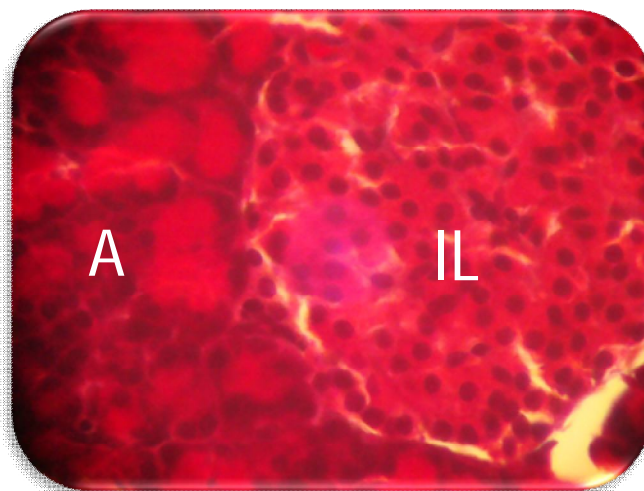


Figura 15 – A: Ácinos pancreáticos; IL: Ilhota de Langerhans com aspectos histológicos normais. Grupo Controle (GC). Aumento 40x. H.E.

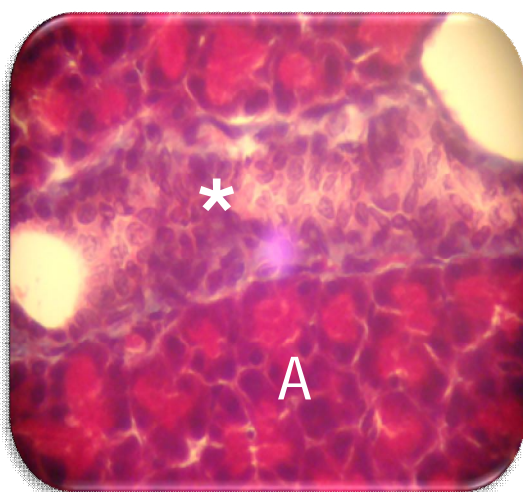


Figura 16- Intenso infiltrado inflamatório (\*) perivascular na região cortical do pâncreas. A: ácinos pancreáticos. Grupo Extrato (GE) e Grupo Faseolamina (GF) Aumento 40x. Tricrômico de Masson.

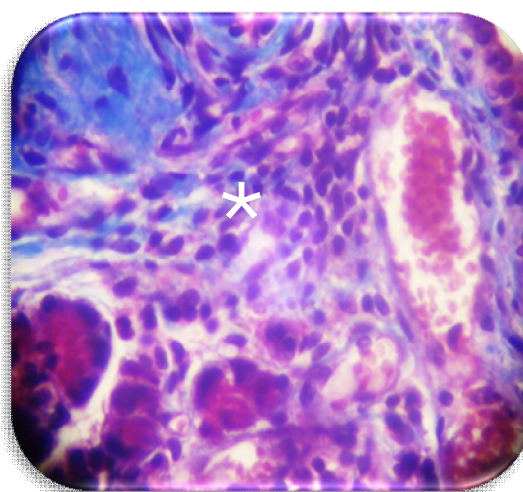


Figura 17- Infiltrado inflamatório perivascular (\*) observado na região cortical do pâncreas. Grupo Extrato (GE) e Grupo Faseolamina (GF). Aumento 40x. Tricrômico de Masson

Os inibidores da enzima  $\alpha$ -amilase com efeitos na inibição da digestão e absorção do amido têm sido utilizados na terapêutica como adjuvantes em dietas para perda de peso e efeito hipoglicemiante em pacientes portadores de diabetes mellitus não-insulino dependentes. No entanto o feijão comum possui alguns atributos indesejáveis, tais como: fitatos, fatores flatulentos, compostos fenólicos, inibidores enzimáticos, lectinas e alergênicos, os quais devem ser eliminados para sua efetiva utilização como alimento (Gupta, 1987; Sathe *et al.*,

1984). A presença do inibidor de tripsina em amostra comercial sugere não tratar-se de um inibidor de  $\alpha$ -amilase purificado e de boa qualidade. Os efeitos nocivos dos inibidores de tripsina em animais alimentados com leguminosa crua são complexos. Muitos estudos com animais monogástricos têm atribuído a estes inibidores efeitos deletérios, principalmente alterações metabólicas do pâncreas (aumento da secreção enzimática, hipertrofia e hiperplasia) e redução da taxa de crescimento (Al-Wesali *et al.*, 1995). De acordo com os resultados evidenciados na análise histológica do pâncreas do presente estudo, notou-se a presença de intenso infiltrado inflamatório perivascular na área adjacente aos ácinos pancreáticos. Este evento não ocorreu na análise do pâncreas dos animais do grupo controle (GC) o que supostamente possa estar associado a administração dos extratos utilizados neste experimento.

#### 5.4.2 Biometria do pâncreas

Os dados obtidos após a realização da biometria do pâncreas não evidenciam alterações no comprimento do pâncreas de ambos os grupos de experimento. A tabela 1 apresenta os dados obtidos de acordo com análise estatística do Teste *T-Student* ( $p < 0,05$ ).

Tabela 1 – Comparação das médias do comprimento do pâncreas dos grupos de experimento. Teste *T-Student*  $p=0,05$  (GC/GF:  $p=0,969$ ; GC/GE:  $p=0,782$ )

Grupo	n	Média do Comprimento do pâncreas (cm)	Desvio padrão
Grupo Controle (GC)	6	2,58	$\pm 0,954$
Grupo Faseolamina (GF)	6	2,56	$\pm 0,413$
Grupo Extrato (GE)	6	2,70	$\pm 0,316$

Quanto a largura do pâncreas (tabela 2) não foram evidenciadas alterações dos grupos experimentais quando comparados ao grupo controle (GC).

Tabela 2 – Comparação das médias da largura do pâncreas dos grupos de experimento. Teste *T-Student*  $p=0,05$  (GC/GF:  $p=1,000$ ; GC/GE:  $p=0,550$ )

Grupo	n	Média da Largura do pâncreas (cm)	Desvio padrão
-------	---	-----------------------------------	---------------

Grupo Controle (GC)	6	1,01	$\pm 0,538$
Grupo Faseolamina (GF)	6	1,01	$\pm 0,366$
Grupo Extrato (GE)	6	1,27	$\pm 0,581$

De acordo com Proll *et al.* (1998) as leguminosas de maneira geral podem conter fatores antinutricionais e outras substâncias nocivas a saúde, desta forma, grãos não convencionais com potencial de uso na alimentação, devem ser testados em dietas animais antes da utilização em dietas humanas.

Antunes e Sgarbieri (1980) obtiveram inativação total de inibidor de tripsina em feijões (*Phaseolus vulgaris* L.) embebidos em água destilada por uma noite e submetidos à temperatura de 97°C por 7,5 minutos. Esse fato demonstra, segundo os autores, que inativação total do inibidor de tripsina pode ser alcançada em feijões embebidos em água e aquecidos a 100°C por 5 a 10 minutos. A facilidade relativa com que os inibidores de proteases podem ser destruídos pelo calor permitiu o uso popular de feijões, como uma fonte importante de proteína na dieta humana e animal (Liener, 1994). Abbey *et al.* (1979) relataram a possível existência de outros fatores além do inibidor de tripsina em feijão cru, capazes de causarem hipertrofia pancreática e elevação dos níveis de tripsina e quimotripsina no intestino de ratos.

As evidências experimentais induzem a aceitação do mecanismo de inibição retroativa do controle da secreção do pâncreas, para a explicação da hipertrofia pancreática provocada em ratos com administração de altas doses de inibidor de tripsina. No mecanismo de inibição retroativa proposto, para a regulação da secreção enzimática do pâncreas, os níveis de tripsina e/ou quimotripsina livres no intestino delgado determinam a quantidade de secreção pancreática, isto é, quando o nível de tripsina reduz a certo limiar, o pâncreas é induzido através da colecistoquinina a secretar mais enzima (Rackis & Gumbmann, 1982). O inibidor de tripsina bloqueia a ação da tripsina resultando em aumento excessivo da concentração plasmática de colecistoquinina e desta forma, o pâncreas é continuamente estimulado a liberar mais enzima, provocando hipertrofia pancreática (LIDDLE *et al.*, 1984).

Bender (1987) relata que existem discordâncias entre autores sobre a hipertrofia de pâncreas em animais. Uma vez que, alguns pesquisadores observaram aumento do número de células e outros aumento do tamanho das células ou ambos fenômenos. Embora a hipertrofia pancreática seja frequentemente reportada em animais de laboratório, e supostamente

desencadeada pela presença de inibidores de protease, não existem evidências de efeitos deletérios em seres humanos (Deshpande e Nielsen, 1987). No presente estudo não ocorreu hipertrofia do pâncreas dos animais tratados com extrato aquoso da Faseolamina comercial (GF), sendo o mesmo evidenciado no grupo extrato aquoso de feijão (GE).

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

De acordo com os dados obtidos no presente estudo, conclui-se que:

- ✓ Variação ponderal: os extratos manipulados não reduziram o peso dos animais tratados por 30 dias
- ✓ Consumo diário de ração: Não ocorreu interferência na conduta alimentar dos animais tratados com extrato aquoso do Feijão (GE), sendo o mesmo evidenciado no grupo tratado com a Faseolamina comercial (GF)
- ✓ Níveis séricos de colesterol total: contradizendo ao que foi encontrado na literatura, os dados obtidos no presente estudo não demonstram eficiência dos extratos testados na redução dos níveis séricos de colesterol.
- ✓ Níveis séricos de Triglicerídeos: o extrato aquoso do feijão reduziu significativamente este parâmetro bioquímico quando comparado aos animais do grupo controle (GC) possivelmente por ter desencadeado diarreia, observada nos animais deste estudo a partir da primeira semana de tratamento.

De acordo com o exposto, os dados obtidos demonstram a importância de novos estudos para elucidar os efeitos (terapêuticos e adversos) dos inibidores de amilase, assim como o

desenvolvimento de novas propostas para extração correta da faseolamina presente no feijão branco (*Phaseolus vulgaris* L.) e inativação dos seus fatores antinutricionais.

## REFERÊNCIAS

ABBEY, B.W., NEALE, R.J. , NORTON, G. **Nutritional effects of field bean (*Vicia faba* L.) proteinase inhibitors fed to rats.** British Journal of Nutrition, London, v.41, n.1, p.31-38, 1979a.

ACEVEDO, E.; BRESSANI, R. Contenido de fibra dietetica y digestibilidad del nitrogeno en alimentos centroamericanos: Guatemala. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.40, n. 3, p. 439-451, 1990.

AGRIANUAL. Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2008. 352p.

AL-WESALI, M. *et al.* The influence of pea seed trypsin inhibitors on the *in vitro* digestibility of casein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v.68, n.4, p.431-437, 1995.

ANDERSON, J. W.; SMITH, B. M.; WASHNOCK, C. S.; *AM., J. Clin. Nutr.* **1999**, 70, 464.

ANTUNES, P.L., SGARBIERI, V.C. **Effect of heat treatment on the toxicity value of dry bean (*Phaseolus vulgaris* var. Rosinha G2) proteins.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington DC, v.28, n.5, p.935-938, 1980.

AYKROYD, W. R. & DOUGHTY, J. **Las leguminosas en la alimentación humana**. Roma, F. A. O. 1964. (Publicaciones de la F. A. O. sobre nutrición, 19).

Beninger, C.W.; Hosfield, G.L., 1999. **Flavonol glycosides from Montcalm dark red kidney bean: implications for the genetics of seed coat color in *Phaseolus vulgaris* L.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4079-4082.

BERTHOUL *et al.* Opposite regulation of human versus mouse apolipoprotein AI by fibrates in human apo AI transgenic mice. *J Clin Invest.* 1996; 97: 2408-2416.

BENDER, A.E. **Effects on nutritional balance: antinutrients.** In: WATSON, D.H. **Natural toxicants in food: progress and prospects.** London : Ellis Horwood International Publishers, 1987. p.110-124.

BIRO, W.C. *et al.* The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* alpha – amylase inhibitor. *Brasil, J. Nutr.*, v.100, n.1, p. 1-12, 2008.

BURTON, B. T. **Nutrición humana.** Washington, D. C. OPAS, 1966. p.51-2 (publicación científica, 146).

BUTTERFIELD, D.A. *et al.* Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 13, n. 8, p. 444-461, 2002

CALABRESE, V.; LODI, R.; TONON, C.; D'AGATA, V.; SAPIENZA, M.; SCAPAGNINI, G.; MANGIAMELI, A.; PENNISI, G.; STELLA, A.M.; BUTTERFIELD, D.A., 2005. **Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia.** *Journal of the Neurological Sciences*, 233, 145-62.

CALIXTO, F. S. *et al.* **Formation of resistance starch in deproteinized and non-deproteinized beans.** *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 46, p. 109-111, 1996.

CANÇADO, R. D & CHIATTONE, C. S. **Anemia de doença crônica.** *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 2002; 4: 127-136.

CÁRDENAS, L. LA. R. **Biodisponibilidade de zinco e de ferro, valor nutricional e funcional de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamentos domésticos.** Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, 2006.

CARPENTER, C. E. & MAHONEY, A. **Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition.** Crit Rev Food Sc Nutr, 1992; 31: 333-367.

CDC-Center for Disease Control and Prevention. **Recommendation to prevent and control iron deficiency in the United States.** Morbid and Mortality Weekly Reports, 1998; 47: 1-29.

CELLENO. L, TOLAINI MV, D'AMORE A, PERRICONE NV, PREUSS HG. A Dietary Supplement Containing Standardized Phaseolus Vulgaris Extract Influences Body Composition Of Overweight Men And Women. **Int J Med Sci.** 2007 Jan 24;4(1):45- 52.

CHEN, et al. **Purification of an alpha amylase inhibitor in a polyetileneglycol / fructose 1,6-bisphosphate trisodium salt aqueous two-phase system.** Process Biochem., v.43, p.765, 2008.

CHOKSHI, D. Subchronic oral toxicity off standardized white kidney bean (Phaseolus vulgaris) extract in rats.**Food Chem. Toxicol.**, v. 45, n. 1, p. 32-40, jan. 2007.

CNNPA (1978). *Resolução - CNNPA nº 12, de 1978.* Anvisa. Página visitada em 6/10/2010.

CORDEIRO, R., Nunes, V. A., Almeida, C. R. **Plantas que curam.** Editora Três Ltda. São Paulo, 1996.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L. **Patologia Básica.** 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan. 1994, cap. 17.

COZZOLINO, S. M. F. *Valor biológico da proteína da mistura de arroz e feijão, suplementada com metionina, cálcio e retinol. Ensaio em ratos alimentados "ad libitum" e com restrição.* São Paulo, 1975. (Dissertação mestrado).



CUNHA,A.P.; SILVA,A.P; ROQUE,O.R. **Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia**. Lisboa,Fundação Calouste Gulbenkian,2003 p.320-321..

DEBOUK, D. Systematics and morphology. IN: SCHOONHOVEN, A. VAN & VOYEST, O. (EDS). **Common beans – Research for crop improvement**. Cali, **CAB International, CIAT, 1993**.

DE CARLI, L.; ROSSO, N. D.; SCHNITZLER, E.; CARNEIRO, P. I. B. **Estudo da estabilidade do complexo ácido fítico e o íon Ni(II)**. Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 26, n. 1, p. 19-26, jan./mar. 2006.

DELFINO, R. A.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. **Interação de polifenóis e proteínas e o efeito na digestibilidade protéica de feijão comum (Phaseolus vulgaris L.) cultivar Pérola**, 2010, p. 308-309.

DESHPANDE, S.S., NIELSEN, S.S. **In vitro digestibility of dry bean (Phaseolus vulgaris L.) proteins: the role of heat-stable protease inhibitors**. Journal of Food Science, Chicago, v.52, n.5, p.1330-1334, 1987.

DIPIRO, J. T; TALBERT, R. L; YEE, G. C; MATZKE, G. R.; WELLS, B. G.; POSEY, L. M. **Pharmacoterapy – A Phatologic Approach**, 3rd Edition, USA: Appleton & Lange, 1996, p.2729.

FERREIRA, A.P. **Feijão pré-cozido irradiado com raios gama do Cobalto-60: uma alternativa de consumo**: tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutorado em Ciências, Piracicaba, 2010, p. 22.

FRANCO, O.L. *et al.* **Resistência de plantas a insetos**. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Brasília, n.11, p. 36-40, 1999.

FOOD AND NUTRITION BOARD. **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc.** Washington: National Academy of Sciences; 2001.

FRIZZAS, M.R.; CUNHA, U.S.; MACEDO, L.P.M. **Plantas transgênicas resistentes a insetos.** Revista Brasileira de Agrociência. Pelotas, v. 10, n.1, p. 13-18, Jan/Mar. 2004.

GEPTS, P. DPBOUK, D. 1991. **Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Common beans: Research for Crop Improvement, Van Schoonhoven A and Voyset O (Eds), Wallingford, England: CAB International, pp 7-53.**

GROSSI DE SÁ, M. de F. G.; CHRISPPEELS, M. J. **Molecular cloning of bruchid (*Zabrotes subfasciatus*)  $\alpha$  amilases cDNA and interactions of the expressed enzyme with bean amylase inhibitors.** Insect Biochemistry and Molecular Biology, v. 27, n. 4, p. 271-281, 1997.

GUERRA, N.B. *et al.* Modificações do método gravimétrico não enzimático para determinar fibra alimentar não solúvel e insolúvel em frutos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n.1, p.45-52, 2004.

GUPTA, Y. P. Antinutritional and toxic factors in food legumes: a review. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.37, n.3, p.201-208, 1987.

HOSFIELD, G.L. Genetic control of production and food quality factors in dry bean. **Food Technology**, Chicago, v.45, n.9, p.98-103, 1991.

INDICE TERAPÊUTICO FITOTERÁPICO: ITF. 1ª edição, Petrópolis, RJ: EPUB, 2008, p.157.

JAFFÉ, W. G. **Factores tóxicos en leguminosas.** *Arch. Latinoamer. Nutr.* 18: (3) 205-18, 1968.

JAY U.M.D.; HARDY, M.D.; DAMIAN C. MADSON, B.A. **Uso de Extrato de feijão Branco marca Phase 2 Starch Neutralizer™ para perda de peso: um experimento controlado aleatorizado.** 2004. Disponível em: <[http://www.amway.com.br/downloads/misc/Extrato\\_Feijao\\_Branco\\_CB2.pdf](http://www.amway.com.br/downloads/misc/Extrato_Feijao_Branco_CB2.pdf)> Acesso em: 13/11/2011.

JUNIOR, B. A. **Guia prático de plantas medicinais: Descubra o que os vegetais podem fazer pela sua saúde;** São Paulo: Universo dos livros, 2005, p.55.

LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I.; MENEZES, E. W. Qualidade nutricional. In: ARAUJO, R. S.; AGUSTÍNRAVA, C.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. (Coords.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil.** Piracicaba: Potafos, 1996. p. 71-99.

LARA, V.J.D. *et al.* **Efeitos microbiológicos e toxicológicos de Perla Black Bean (Phaseolus vulgaris L.) Extractos: In Vitro e in vivo.** Basic & Clinical Pharmacology e Toxology – BCTP. Volume 104, Issue 2, páginas 81-86, fevereiro de 2009. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-7843.2008.00330.x/full>>

LAYER, P.; CARLSON, G. L.; DIMAGNO, E.P. **Partially purified white bean amylase inhibito reduces starch digestion in vitro and inactivates intraduodenal amylase in humans.** Gastroenterology. New York, v. 88, p. 1895-1902, 1985.

LAYER, P.; ZINSMEISTER, A. R.; DIMAGNO, E. P. **Effects of decreasing intraluminal amylase activity on starch digestion and postprandial gastrointestinal function in humans.** Gastroenterology. New York, v. 91, p.41-48, 1986.

LEE, J. R. **Microcitose e as anemias associadas com síntese prejudicada da hemoglobina.** In: LEE, G. R. *et al.* Wintrobe – Hematologia Clínica. São Paulo: Mir; 1998a. p.884-919.

LEWIS, G.P.; SCHIRIRE, B.D.; MACKINDER, B.A. & Lock, J.M. 2005. **Legumes of the World.** Kew, Royal Botanic Gardens.

LIDDLE, R.A., GOLDFINE, I.D., WILLIAMS, J.A. **Biossay of plasma cholecystokinin in rats: effects of food, trypsin inhibitor, and alcohol.** *Gastroenterology*, Philadelphia, v.87, n.3, p.542-549, 1984.

LIENER, I.E. **Implications of antinutritional components in soybean foods.** *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v.34, n.1, p.31-67, 1994.

LIENER, I. E. **Toxic factors in edible legumes and their elimination.** *Am. J. clin. Nutr.*, 1\_1281-98.1962.

LIN, Z.; HARNLY, J. M.; PASTOR-CORRALES, M. S.; LUTHRIA, D. L.; *Food Chem.* **2008**, *107*, 399.

LIPNICK, R.L., COTRUVO, J.A, HILL, R.N. BRUCE, R.D. STITZEL, K.A., WALKER *et al.* Comparação do up-and-down, LD convencional 50, e em dose fixa os procedimentos de toxicidade aguda *Food Chem Toxicol* 1995; 33: 223 -.. 31.

LIMA, H.C. 2000. **Leguminosas arbóreas da mata atlântica: uma análise da riqueza, padrões de distribuição geográfica e similaridades florísticas em remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro.** Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MACHADO, C.M.; FERRUZZI M.G.; NIELSEN, S.S; **Impacto f the hard-to-cook phenomenon on phenolic antioxidants in dry beans (*Phaseolus vulgaris*).** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington DC, v.56, n.9, p.3102- 3110, 2008

MARCHIONI, D. et al. **Feijão Amigo: Pesquisas confirmam propriedades preventivas de um dos alimentos tradicionais do brasileiro em relação a algumas formas da doença.** *Brasil, Revista Nutri*, outubro 2009 p. 42-45.

MARSHALL, J. J.; LAUDA, C. M. Purifi cation and properties of phaseolamin, an inhibitor of  $\alpha$  amylase, from the kidney bean, *Phaseolus vulgaris*. **J. Biol. Chem.**, v. 250, p. 8030-8037, 1975.

MESQUITA, F. R. *et al.* **Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): Composição Química e digestibilidade protéica.** *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1114-1121, jul./ago., 2007.

MESQUITA, F.R. CORRÊA, A.D. ABREU, C.M.P.de.;LIMA,R.A.Z.;ABREU,A.de.F.B. **Linhagens de feijão ( *Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica**, 2006 p. 1115.

OBIRO, W.C. *et al.* **The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* alpha – amylase inhibitor.** *Brasil, J. Nutr.*, v.100, n.1, p. 1-12, 2008.

ONKAMO, P. *et al.* **Worldwide increase in incidence of type 2 diabetes: the analysis of the data on published incidence trends.** *Diabetologia*, 1999.

Pellegrini, N.; Serafini, M.; Salvatore, S.; Del Rio, D.; Bianchi, M.; Brighenti, F., 2006. **Total antioxidant capacity of spices, dried fruits, nuts, pulses, cereals and sweets consumed in Italy assessed by three different in vitro assays.** *Molecular Nutrition & Food Research*, 50, 1030-1038.

POLHILL, R.M., P.H. Raven & C.H. Stirton. 1981. **Evolution and systematics of the Leguminosae.** In: R.M. Polhill & P.H. Raven (eds.). *Advances in Legume Systematics part I.* pp. 1-26. Royal Botanic Gardens, Kew.

QIAN, M. *et al.* **Molecular basis of the effects of chloride ion on the acide-base catalyst in the mechanism of pancreatic  $\alpha$ -amylase.** *Biochemistry*, v. 44, n. 9, p. 3194-3201, Feb. 2005.

RACKIS, J.J., GUMBMAN, M.R. **Protease inhibitors: physiological properties and nutritional significance.** In: ORY, R.L. *Antinutritional and natural toxicants in foods.* Westport : Food & Nutrition Press, 1982. p.203-237.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*: a review I chemical composition: proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 20, n. 1, p. 1-46, 1984.

SOARES, A. G. **Consumo e qualidade nutritiva. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO**, 5., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFGO, 1996. v. 2, p. 73- 79.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Tratamento e acompanhamento de iabetes mellitus: Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**. Rio de Janeiro, 2008.

SOUZA, V.C. & LORENZI, H. 2005. **Fabaceae (Leguminosae). In: Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, São Paulo, Pp. 291-328.

STEVENS, M.A. **Varietal influence on Nutritional Value**. In: White, D.L e SELVEY, n.(ed) **Nutritional Quality of Fresh fruits and Vegetables**. New York: Futura Publishing, 1994. p.87.

TOPPING, D.L. Soluble fiber polysaccharides: Effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. **Nutrition Reviews**, Catalunya, v.49, n.7, p.195-203, 1991.

Valko, M.; Rhodes, C.J.; Moncol J.; Izakovic, M.; Mazur, M., 2006. **Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico Biological Interection*, 160, 1- 40.**

WINGARD, R.L., PARKER, R.A., ISMAIL, .N, HAKIM, R.M. Efficacy of oral iron therapy in patients receiving recombinant human erythropoietin. *Am J Kidney Diseases* 1995; 25: 433-439.

WHO. World Health Organization. 2003. OMS para explosão de diabetes. Disponível em: < [http://www.bbc.co.uk/portuguese/ciencia/story/2003/11/031114\\_diabetescg.shtml](http://www.bbc.co.uk/portuguese/ciencia/story/2003/11/031114_diabetescg.shtml).>

WORWOOD, M. **Regulação do metabolism do ferro.** Anais Nestlé, 1996; 52: 1-10.