

Efeito do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*, L.) sem casca na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos

Carla O.B. Rosa, Neuza M. Brunoro Costa, Paulo F.G. Leal, Tânia T. Oliveira

Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Brasil

RESUMO. Estudos com feijão têm demonstrado seu efeito na redução de colesterol sanguíneo. O presente trabalho visou investigar o efeito da retirada da casca do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*, L.) na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. Foram utilizados 4 grupos de 8 ratos machos, da linhagem Wistar, com peso inicial de 200 g, os quais foram mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e ciclo claro-escuro de 12 horas, por 28 dias. O grupo Padrão foi alimentado com uma dieta basal de caseína. O grupo Controle recebeu a dieta basal adicionada de 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico. O terceiro grupo recebeu dieta semelhante à Controle, substituída, em base seca, por 30% de feijão preto integral (FPI). O último grupo recebeu o equivalente a 30% de feijão, porém, sem casca (FPSC). A adição de colesterol e ácido cólico elevou os níveis de colesterol do grupo Controle em 58%, em relação ao Padrão. A dieta FPI reduziu os níveis de colesterol sanguíneo total em 15% (não significativo-NS) e a dieta FPSC promoveu redução ($p<0,05$) de 35%, em relação ao grupo Controle. Os níveis de HDL-colesterol foram reduzidos ($p<0,05$) pelas duas dietas de feijão. A dieta FPSC promoveu maior excreção de colesterol nas fezes ($p<0,05$), em relação à dieta Controle. Isso sugere que o feijão preto sem casca promove uma maior eliminação do colesterol do organismo e o feijão integral, embora reduza o colesterol do sangue (NS), o conserva mais na circulação entero-hepática. Os componentes responsáveis pelo efeito hipocolesterolemizante do feijão parecem estar localizados, em sua maioria, no interior do grão, sendo necessários mais estudos para a identificação desses compostos e para elucidar seus mecanismos de ação.

Palavras-chave: Feijão, colesterol, rato.

SUMMARY. The cholesterol-lowering effect of black beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) without hulls in hypercholesterolemic rats. The cholesterol-lowering property of beans has been shown in several studies. The propose of the present work was to investigate the effect of black beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) without hulls on blood cholesterol of hypercholesterolemic rats. Four groups of 8 male rats, Wistar strain, initial body weight of 200g were kept at $\pm 25^{\circ}\text{C}$ in a light-dark cycle of 12h, for 28 days. The group Standard received a basal casein diet. Group Control received the basal diet added of 1% cholesterol plus 0.1% cholic acid. The group BB received a diet similar to the Control, substituted by 30% black beans, on dry-weight. The group SBB received black beans without hulls, equivalent to 30% of whole beans. The addition of cholesterol and cholic acid raised blood cholesterol levels of rats on Control diet by 58%, in relation to the Standard. BB diet reduced blood cholesterol by 15% (non-significant - NS) and SBB diet reduced ($p<0.05$) by 35%, in relation to the Control diet. The levels of HDL-cholesterol were reduced ($p<0.05$) by both bean diets. SBB diet promoted a higher excretion of fecal cholesterol, compared to the Control. This suggests that beans without hulls promote a higher cholesterol output and that the whole beans, although had lowered blood cholesterol (NS), kept it in the enterohepatic circulation. The hypocholesterolemic compounds of beans seem to be located in the inner part of the grain. Further studies are necessary to identify these compounds and to elucidate their mechanisms of action.

Key words: Beans, cholesterol, rat.

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde-OMS (1) ressalta que a chave mestra para aumentar a expectativa de vida de uma população é a prevenção das doenças cardiovasculares. Sabe-se que níveis altos de colesterol sanguíneo, particularmente a fração LDL, têm sido associados ao risco de doenças cardiovasculares e que pequena redução do seu nível plasmático está associada a um decréscimo significativo desse risco (2).

O colesterol sérico total e a fração LDL podem ser aumentados pela ingestão excessiva de calorias, gorduras saturadas e colesterol dietético e, possivelmente, por proteína animal. Entretanto, podem ser reduzidos por diminuição do peso corporal, substituição dietética dos ácidos graxos saturados

por ácidos graxos poliinsaturados, fibra alimentar solúvel (2) e pelo consumo de alguns alimentos com propriedade hipocolesterolemizante, como a aveia e as leguminosas (3).

Jenkins et al. (4) observaram que a inclusão de 140 g de feijão, diariamente, durante 4 meses, na dieta de pacientes hiperlipidêmicos reduziram em 7% o colesterol sérico total. Anderson et al. (5) estudaram o efeito hipocolesterolemizante de feijões secos «navy» e «pinto», consumidos em doses de 50 e 115 g/dia (peso seco), respectivamente. A incorporação dos feijões resultou em decréscimos de 15 a 23% no colesterol sérico total e de 13 a 24% no LDL-colesterol, após um período de três semanas. Os mesmos autores (6) investigaram 24 homens voluntários hiperlipidêmicos ingerindo dietas que continham feijões enlatados em doses diferentes, todas as

dietas reduziram os níveis séricos de colesterol em torno de 10%.

Rigotti et al. (7), estudando o efeito da dieta de feijão sobre a secreção biliar de lipídios, o metabolismo hepático de colesterol e a concentração sérica de colesterol em ratos machos, da linhagem Wistar, com peso entre 80 e 140 g, por 10 a 12 dias, observaram que a concentração de colesterol sérico total e a fração VLDL-colesterol decresceram significativamente em 27 e 50%, respectivamente, nos ratos alimentados com dieta de feijão.

Costa (8) observou que o feijão «baked beans» (*Phaseolus vulgaris*, L.) reduziu em 34% o colesterol sérico total de ratos hipercolesterolêmicos alimentados com uma dieta típica britânica, rica em lipídios saturados e suplementada com 1% de colesterol cristalino ou 0,2% de colesterol + 0,1% de ácido cólico. A redução foi mais acentuada nas lipoproteínas aterogênicas (LDL).

Estudos preliminares, realizados em nosso laboratório, demonstraram o potencial dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo em ratos hipercolesterolêmicos. O feijão preto reduziu em 16%, seguindo-se do vermelho 12% e do carioquinha 11%.

Os componentes atribuídos às leguminosas como responsáveis pelo seu efeito hipocolesterolemizante são proteína vegetal, fibra solúvel, saponinas, esteróis de plantas, polifenóis e isoflavonas (8). Alguns desses compostos podem estar reduzidos ou concentrados com a retirada da casca do feijão em certas preparações culinárias, afetando a propriedade do feijão de reduzir o colesterol sanguíneo.

O presente trabalho visou investigar o efeito da retirada da casca do feijão preto na redução do colesterol sanguíneo em ratos hipercolesterolêmicos. Selecionou-se o feijão preto, pois este foi o que mais reduziu o colesterol sanguíneo em nossos estudos prévios.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo do feijão

Utilizou-se o feijão preto adquirido no comércio local da cidade de Viçosa, Minas Gerais. O feijão foi dividido em dois lotes. Um deles foi preparado integralmente, sendo cozido em panela de pressão de uso doméstico durante 1 hora. O outro lote foi imerso em água destilada durante uma hora, sob refrigeração a $\pm 4^{\circ}\text{C}$, para facilitar o descasque manual para obtenção do feijão sem casca. Em seguida, procedeu-se à cocção em panela de pressão de uso doméstico durante 40 minutos. Ambos os lotes foram secos, junto com o caldo, em estufa com circulação de ar (Fanem, modelo 320-SE) a uma temperatura de 60°C , durante 24 horas, para proceder a sua moagem.

Após o preparo, determinaram-se os teores de umidade (9), cinzas, lipídios totais, proteína (10) e fibra: NDF - fibra detergente neutro (11), ADF - fibra detergente ácido (12) e

fibra solúvel (13); o carboidrato foi determinado por diferença.

Preparo das dietas experimentais

As dietas experimentais foram preparadas de modo a apresentarem teores de lipídios, proteínas, carboidratos e relação P/S (ácidos graxos poliinsaturados/saturados) semelhantes aos dos pacientes hipercolesterolêmicos de Viçosa, Minas Gerais (14). Planejou-se, portanto, um teor de 15,5% de energia provenientes das proteínas, 52,5% dos carboidratos e 32% dos lipídios e relação P/S de 0,54. A composição das dietas está mostrada na Tabela 1. Nas dietas Controle, FPI e FPSC adicionou-se colesterol cristalino (Sigma, C8503) (1 g/100 g de dieta) e ácido cólico (Sigma, C1129) (0,1 g/100 g de dieta). Na dieta FPI adicionou-se feijão preto integral (30 g/100 g) e na dieta FPSC, feijão preto sem casca (25,7 g/100 g). As dietas Padrão e Controle foram acrescidas de celulose, como fonte de fibra alimentar, em proporção equivalente ao teor de fibra das dietas contendo feijão. A banha de porco e o óleo de soja foram adicionados como fonte de lipídios para obter a relação P/S indicada. As dietas à base de feijão tiveram suas composições ajustadas de modo a apresentarem teores de nutrientes semelhantes aos da dieta Padrão. A quantidade de feijão preto sem casca utilizada foi equivalente à de feijão preto com casca, ou seja, 25,7 g de feijão sem casca equivalentes a 30 g de feijão integral. A adição de colesterol e de ácido cólico fez-se necessária para a produção de hipercolesterolemia nos ratos.

TABELA 1

Composição das dietas experimentais (g/100 g da mistura)

Ingredientes	Dietas			
	Padrão	Controle	FPI ¹	FPSC ²
Caseína	20,0	20,0	11,2	13,3
Oleo de soja	3,9	3,8	3,3	3,2
Banha de porco	10,9	10,8	10,6	10,6
Feijão preto integral	-	-	30,0	-
Feijão preto sem casca	-	-	-	25,7
Amido de milho	53,5	52,7	39,1	41,2
Colesterol cristalino	-	1,0	1,0	1,0
Acido cólico	-	0,1	0,1	0,1
Celulose	7,0	7,0	-	1,8
Cloreto de colina	0,2	0,2	0,2	0,2
Mistura salina ³	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica ³	1,0	1,0	1,0	1,0

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

3. Fonte: American Institute of Nutrition (15).

³ Todas as dietas foram adicionadas de misturas de vitaminas e minerais, segundo AIN-76 (15). As dietas foram preparadas, passando-se todos os ingredientes em peneira por três vezes, misturando previamente o colesterol e o ácido cólico ao óleo de soja e derretendo a banha em fogo brando.

As dietas foram analisadas quanto aos teores de umidade (9), cinzas, lipídios totais e proteína (10); o carboidrato foi determinado por diferença, considerando-se o teor de fibra analisado previamente do feijão.

Ensaio biológico

Utilizaram-se 32 ratos, machos, da linhagem Wistar, com peso médio inicial de aproximadamente 200 g, os quais foram mantidos em gaiolas individuais em ambiente com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e ciclo claro-escuro de 12 horas. Os animais foram divididos em quatro grupos de oito ratos distribuídos entre os grupos experimentais (Padrão, Controle, FPI e FPSC), de modo que a média dos pesos entre eles fosse a mais próxima possível.

As dietas experimentais e água destilada foram oferecidas ad libitum por 28 dias. Os pesos dos animais, assim como a ingestão alimentar, foram monitorados semanalmente. Determinou-se o coeficiente de eficiência alimentar (CEA), que relaciona o ganho de peso (g) pelo consumo alimentar (g).

Do 21º ao 27º dias do experimento, as fezes foram coletadas em sua totalidade. Para isso, as dietas foram marcadas com corante carmim (200 mg/100 g de dieta) a fim de identificar o início e o final do período de coleta. As fezes foram acondicionadas em recipientes individuais para cada rato e mantidas sob refrigeração. Após o período de colheita, as fezes foram limpas, pesadas e secas em estufa com circulação de ar (Fanem, modelo 320-SE) a 105°C , durante 24 horas, e pesadas novamente para determinação do peso úmido e seco; depois, foram moídas em multiprocessador de alimentos doméstico (ELO'S Arno, Modelo AMT48B) e congeladas a -18°C , para análises posteriores.

No final do experimento, os ratos foram anestesiados com éter etílico em dessecador e submetidos a uma incisão das cavidades abdominal e torácica para retirada do fígado e coleta de sangue por punção cardíaca. As amostras de sangue foram centrifugadas a 1.500 rpm, por 15 minutos, para a retirada do soro, que foi guardado a -18°C .

Os fígados retirados foram lavados em solução salina 0,9%, pesados e guardados a -18°C , para análises posteriores.

Colesterol sanguíneo total

A análise de colesterol foi feita com base na metodologia proposta por Allain et al. (16), com uso de Kit enzimático da marca Analisa (COD-ANA, cat. 260)

HDL-colesterol

O HDL-colesterol foi determinado, seguindo-se a metodologia proposta por Warnick et al. (17). As lipoproteínas VLDL e LDL foram precipitadas pela ação do ácido fosfotungstênico em conjunto com sulfato de magnésio, deixando a fração HDL em suspensão. Após a centrifugação a 1.500 rpm por 15 minutos, o colesterol foi dosado no sobrenadante, utilizando-se o Kit para determinação do HDL, marca Analisa (COD-ANA, cat. 213).

Triacilglicerol

Os triacilgliceróis foram determinados pelo método de Fossati e Prencipe (18), utilizando-se o Kit enzimático da marca Analisa (COD-ANA, cat. 259).

Glicose

A determinação da glicose foi feita baseando-se na metodologia proposta por Lott e Turner (19), com uso do Kit enzimático da marca Bioclin (COD. GOD-CLIN, cat. K 022).

Lipídios totais no fígado

Os lipídios totais foram analisados, seguindo-se a metodologia proposta pela AOAC (10). Os fígados foram previamente macerados em cadinho de porcelana e levados integralmente a cartucho de celulose, durante 8 horas em aparelho de Soxhlet, para desengordurar, usando-se como solvente o éter de petróleo (Synth-PA-ACS). A determinação dos lipídios foi feita pela diferença de peso dos balões antes e depois de os fígados serem desengordurados.

Colesterol total no fígado

O colesterol total foi determinado após a extração do lipídio total. Ao balão com gordura adicionaram-se 30 ml de acetona (Merck) para dissolução. Em seguida, tomou-se o filtrado e concentrou-o até a metade do volume, refluxando-o com 50 ml de solução alcoólica de KOH 10% por 20 minutos. Após o resfriamento, o material refluxado foi transferido para um funil de decantação, lavando-se o balão com 60 ml de água destilada. Ao funil, adicionaram-se 30 ml de éter de petróleo (Synth-PA-ACS). Agitou-se o funil de decantação e, em seguida, ele foi deixado em repouso para decantar. Após a decantação, drenou-se a fase aquosa inferior, desprezando-a. Evaporou-se a fração etérea, ficando o colesterol retido no frasco. Acrescentaram-se 50 ml de ácido acético glacial (Merck), incubando-o a 37°C por 10 horas, para completa dissolução, em banho-maria. Após esse tempo, transferiu-se todo o material para balão volumétrico de 100 ml, completando o volume com ácido acético glacial. Foi retirado 0,05 ml da amostra, acrescentaram-se 2,5 ml do reagente de cor contendo anidro acético, ácido acético e ácido sulfúrico (Kit não-enzimático para determinação do colesterol, in vitro Diagnostica, CAT: 010) e agitou-se. Incubou-se a amostra a 37°C por 10 minutos, e em seguida foram efetuadas as leituras fotométricas a 625 nm, num intervalo de 10 minutos.

Nitrogênio total nas fezes

A análise de nitrogênio total foi feita pelo método semi-micro Kjeldhal, com amostras em triplicata, de acordo com a metodologia proposta pela AOAC (10).

Lipídios totais nas fezes

A determinação dos lipídios totais das fezes foi feita, baseado-se na metodologia proposta pela AOAC (10). As fezes previamente trituradas foram colocadas integralmente

em cartuchos de papel-filtro e desengorduradas em aparelho de Soxhlet por oito horas, usando-se como solvente éter de petróleo (Synth-PA-ACS).

Colesterol total nas fezes

A análise de colesterol total nas fezes seguiu a mesma metodologia descrita anteriormente para análise de colesterol total no fígado.

Análise estatística

Procedeu-se à análise de variância (ANOVA) para determinação do valor de "F". Para "F" significativo, utilizou-se o teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade para comparação entre as médias. A dispersão da média foi expressa, nas tabelas de resultados, como desvio-padrão da média.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dietas e animais

A composição centesimal do feijão preto (integral e sem casca) está mostrada na Tabela 2. O ganho de peso dos animais e a quantidade de alimentos consumida não diferiram entre os grupos (Tabela 3), o que refletiu-se em médias estatisticamente semelhantes da percentagem de coeficiente de eficiência alimentar (CEA).

TABELA 2

Composição centesimal do feijão preto integral e sem casca (g/100 g)

Composição	Integral	Sem Casca
Proteína	19,51	22,17
Lípido	2,35	2,49
Carboidrato	46,30	48,35
Umidade	6,11	6,52
Cinzas	3,89	3,11
Fibra total ¹	21,84	17,36
Celulose	8,36	5,16
Hemicelulose	5,12	5,29
Lignina	3,69	1,48
ADF ²	12,05	7,24
NDF ³	17,17	12,53
Pectina total	4,67	4,83
Pectina solúvel	0,49	0,26
Protopectina	4,18	4,57

1. Fibra total = NDF + pectina total.

2. Fibra detergente ácido = celulose + lignina.

3. Fibra detergente neutro = celulose + hemicelulose + lignina.

Colesterol sanguíneo total

Estudos feitos por Costa (8) demonstraram que 1% de colesterol mais 0,1% de ácido cólico adicionado à dieta foram eficazes em induzir hipercolesterolemia moderada em ratos. O presente estudo comprovou esse efeito, pois houve aumento

significativo de 58% do colesterol sérico dos ratos alimentados com a dieta Controle quando comparados com os alimentados com a dieta Padrão (Tabela 4).

TABELA 3

Ganho de peso (GP) e consumo alimentar dos ratos e percentagem do coeficiente de eficiência alimentar (CEA) das dietas experimentais (média ± desvio padrão)

Dietas	GP* (g)	Consumo Alimentar* (g)	CEA* (%)
Padrão	83,00±22,03	437,50±59,20	19,06 ±3,12
Controle	92,25±11,14	487,90±67,88	18,95±0,96
FPI ¹	82,50±13,15	471,90±50,69	17,44±1,55
FPSC ²	89,62±18,28	473,00±44,67	18,81±2,48

*As médias (dentro da mesma coluna) não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F (p<0,05).

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

TABELA 4

Colesterol total, HDL-colesterol, glicose e triacilgliceróis do soro sanguíneo (mg/dL) de ratos alimentados com dietas experimentais após 28 dias (média ± desvio padrão)

Dieta	Colesterol Total*	HDL -Colesterol*	Glicose**	Triglicéridios**
Padrão	75,79±9,46 ^a	57,63±6,58 ^a	167,30±63,34	73,21±24,30
Controle	119,48±3,76 ^b	58,64±9,90 ^a	122,76±32,84	51,10±11,06
FPI ¹	101,92±24,74 ^{ab}	30,47±11,51 ^b	137,15±41,96	55,42±20,99
FPSC ²	77,20±14,43 ^a	37,43±10,70 ^b	143,46±43,83	53,77±12,90

* As médias (dentro da mesma coluna) seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,005).

** As médias (dentro da mesma coluna) não diferem estatisticamente entre si, pelo teste "F" (p< 0,05)

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

A adição de feijão preto integral (FPI) à dieta reduziu em 15% (NS-não-significativo) o colesterol sérico em relação ao grupo Controle, e a dieta de feijão sem casca (FPSC) o fez significativamente em 35% (p<0,05) (Tabela 4), embora não tenha havido diferença significativa entre o feijão integral e o sem casca.

Os mecanismos de ação hipocolesterolemiantes do feijão não são completamente entendidos, mas algumas hipóteses têm sido propostas, como as que atribuem o efeito às fibras solúveis, às saponinas e à proteína.

As proteínas das leguminosas podem exercer importante papel hipocolesterolemiantes, com base na sua composição aminoacídica (20). A eliminação de fatores antinutricionais presentes na casca, como os polifenóis, permite uma melhor utilização da proteína, porque aparentemente os polifenóis, durante o processo de aquecimento, reagem com as proteínas presentes no cotilédono, diminuindo a sua eficiência (21). A possível eliminação de fatores antinutricionais com a retirada

da casca do feijão pode ter favorecido uma maior absorção dos minerais relatados por possuir ação hipocolesterolemiantes, como o zinco (22), cobre (23) e cálcio (24), uma vez que tais fatores interferem negativamente na absorção desses minerais (25).

As fibras solúveis são também apontadas em diminuir o colesterol sanguíneo, mas, como se pode observar na Tabela 2, não existe diferença entre os níveis de pectina total entre os feijões. Portanto, esse componente não parece ter sido o maior responsável pelo efeito hipocolesterolemiantes do feijão neste estudo.

HDL-colesterol

Pelos resultados obtidos para as dietas Padrão e Controle (Tabela 4), observa-se que os níveis de HDL-colesterol não foram alterados com a adição de colesterol e ácido cólico, apesar de o colesterol total ter sido significativamente maior na dieta Controle. Isso significa que o aumento do colesterol total se deu nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL e, ou, VLDL-colesterol). Entretanto, os níveis de HDL-colesterol foram reduzidos significativamente pelas dietas de feijão (FPI e FPSC), não havendo diferença entre o feijão com e o sem casca, porém a relação colesterol total/HDL-colesterol foi menor (2,06) na dieta de FPSC do que na de FPI (3,35).

Rigotti et al. (7) evidenciaram uma redução, porém não-significativa, do HDL-colesterol em ratos alimentados com dieta de feijão por 10 a 12 dias. Também, Shutler et al. (26) observaram redução nos níveis de HDL-colesterol em indivíduos consumindo 450 g de feijão «baked beans» por 14 dias. Ao contrário, dados obtidos por Costa (8), em um estudo com ratos, indicaram que o feijão aumentou o HDL-colesterol, apesar de ter diminuído o colesterol total e as lipoproteínas de baixa densidade. Em porcos, entretanto, os níveis de HDL-colesterol não foram afetados pelo feijão (3, 27).

Tal redução nos níveis de HDL não é desejável, visto que essas lipoproteínas estão associadas à redução do risco de doenças cardiovasculares, em razão do seu papel no transporte reverso de colesterol e, também, da inibição da deposição de LDL nas paredes da artéria (28).

Glicose e triacilglicerol

Os níveis de triacilgliceróis não têm sido influenciados pelas proteínas, fibras ou saponinas presentes no feijão. Contudo, tem sido relatado que a redução da glicemia e o aumento da insulina (29), utilizando dietas com altos teores de fibra solúvel, podem diminuir a síntese de triacilgliceróis hepática. Apesar de as dietas de feijão serem ricas em fibras, não se verificou diferença entre os níveis de triacilgliceróis e glicose sanguínea entre os grupos experimentais neste estudo (Tabela 4).

Peso dos fígados

A média de peso dos fígados dos ratos alimentados com as dietas experimentais após 28 dias está apresentada na Tabela

5. Os animais alimentados com a dieta Controle apresentaram média de peso superior ($p < 0,05$) à dos animais alimentados com a dieta Padrão. Esse aumento do peso tem sido associado à deposição de lipídios (30), água (31), proteína (32) e glicogênio (30) no fígado.

TABELA 5

Peso úmido, lipídio total e colesterol total dos fígados de ratos alimentados com dietas experimentais após 28 dias (média \pm desvio padrão)

Dieta	Peso (g)	Lipídios (g/100g)	Colesterol Total (g/100g)
Padrão	9,46 \pm 1,29 ^a	0,51 \pm 0,18 ^a	0,19 \pm 0,14 ^a
Controle	15,33 \pm 2,31 ^b	2,45 \pm 1,14 ^b	0,40 \pm 0,20 ^{ab}
FPI ¹	12,46 \pm 1,62 ^c	2,85 \pm 1,25 ^b	0,61 \pm 0,26 ^b
FPSC ²	12,36 \pm 1,68 ^c	1,82 \pm 0,73 ^b	0,28 \pm 0,09 ^a

As médias (dentro da mesma coluna) seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

Os pesos dos fígados dos ratos com dietas de feijão (FPI e FPSC) mostraram-se significativamente reduzidos ($p < 0,05$) em relação à dieta Controle, porém aumentados ($p < 0,05$) em relação ao Padrão. Portanto, o aumento de peso do fígado causado pela adição de colesterol e ácido cólico na dieta foi parcialmente anulado pela presença de feijão, possivelmente devido a uma menor deposição de lipídios, água, proteína e, ou glicogênio no fígado.

Lipídios e colesterol total no fígado

O consumo de colesterol e ácido cólico pelo grupo Controle levou ao aumento da deposição de lipídios no fígado dos ratos (Tabela 5), em relação ao grupo Padrão. Essa deposição de lipídios, especialmente do colesterol, tem sido extensivamente relatada na literatura (32-37). Em nosso estudo, a dieta Controle aumentou a deposição de colesterol, porém a níveis não significativos.

A adição de feijão não promoveu alteração significativa na deposição de lipídios e de colesterol nos fígados dos animais, em comparação com a dieta Controle, embora o peso dos fígados tenha sido significativamente menor (Tabela 5). Portanto, o feijão não previne a deposição de lipídios e colesterol no fígado de animais alimentados com dieta de colesterol e ácido cólico, mas pode reduzir a deposição de outros compostos, como água, proteína e glicogênio, resultando em menor peso do fígado.

Peso das fezes

As médias de peso das fezes dos animais alimentados com dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 6. Não houve diferença significativa entre as médias de peso das fezes dos grupos.

TABELA 6

Peso úmido, nitrogênio, lipídios totais e colesterol total das fezes dos ratos alimentados com dietas experimentais (média \pm desvio padrão)

Dieta	Peso* (g)	Nitrogênio (g/100g)**	Lipídios Totais** (g/100 g)	Colesterol Total** (g/100 g)
Padrão	8,11 \pm 0,84	1,60 \pm 0,19 ^a	5,23 \pm 2,36 ^a	0,20 \pm 0,08 ^a
Controle	9,03 \pm 1,41	1,77 \pm 0,12 ^b	9,76 \pm 2,75 ^b	1,46 \pm 0,58 ^b
FPI ¹	9,64 \pm 1,02	3,54 \pm 0,14 ^c	7,49 \pm 4,21 ^b	2,16 \pm 0,72 ^{bc}
FPSC ²	8,83 \pm 2,04	3,11 \pm 0,33 ^d	8,45 \pm 0,84 ^b	2,99 \pm 0,83 ^c

* As médias (dentro da mesma coluna) não diferem estatisticamente entre si, pelo teste "F" (p<0,05).

**As médias (dentro da mesma coluna) seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

1. FPI: Dieta de feijão preto integral

2. FPSC: Dieta de feijão preto sem casca

Nitrogênio total nas fezes

Observa-se na Tabela 6 aumento acentuado da excreção de N nas dietas de feijão (FPI e FPSC). Esse resultado pode ser devido à presença de fatores antinutricionais presentes no feijão, que são geralmente associados com partes fibrosas das plantas e podem ter efeito negativo na digestibilidade e utilização da proteína (38).

A dieta FPSC apresentou menor excreção de N (p<0,05) em relação à dieta de FPI. Isso pode ser atribuído ao fato de certos fatores antinutricionais, como os taninos, terem sido eliminados com a casca, pois segundo Bressani (39), 75% dos taninos são perdidos com a retirada da casca do feijão.

Lipídios totais e colesterol nas fezes

A adição de colesterol e ácido cólico às dietas resultou no aumento na excreção de lipídios totais e de colesterol pelas fezes em relação à dieta Padrão (Tabela 6).

A dieta de feijão sem casca (FPSC) promoveu perda significativa de colesterol pelas fezes, em relação à dieta Controle. Esse efeito pode ter sido o responsável pela redução do colesterol sanguíneo observada naquele grupo (Tabela 4). De acordo com Rigotti et al. (7), dietas de feijão possuem alguns componentes (como as fibras e saponinas) que induzem alta colesterogênese hepática e baixa esterificação do colesterol hepático, tendo como consequência uma elevada excreção de colesterol pelas fezes, com consequente redução do colesterol sanguíneo.

O aumento da excreção de colesterol pelas fezes pode ser também devido ao bloqueio da circulação êntero-hepática dos sais biliares e, ainda, à baixa absorção intestinal de colesterol promovida pelos esteróis das plantas (40), pela ligação do colesterol com fibra solúvel (41) e pela formação de complexos saponina-colesterol não absorvidos (42).

Em adição ao exposto, muitos estudos têm indicado que o

consumo de saponinas está associado com aumento na excreção fecal de ácidos biliares e esteróides neutros, graças à formação de complexo saponina-ácidos biliares (43, 44).

Possivelmente, a retirada da casca do feijão preto possibilitou a potencialização da ação de alguns desses componentes com propriedade hipocolesterolemiantes presentes nas leguminosas, devendo esta ser pesquisada mais detalhadamente em futuros experimentos.

CONCLUSÃO

A adição de 1% de colesterol cristalino + 0,1% de ácido cólico às dietas foi eficaz em promover hipercolesterolemia nos ratos, sem grandes alterações hepáticas.

A dieta de feijão sem casca (FPSC) promoveu redução nos níveis de colesterol sanguíneo nos ratos, em relação à dieta Controle, assim como maior excreção de colesterol nas fezes. Isso sugere que o feijão preto sem casca promove uma maior eliminação do colesterol do organismo e o feijão integral, embora reduza o colesterol do sangue (NS), o conserva mais na circulação êntero-hepática.

Os componentes responsáveis pelo efeito hipocolesterolemiantes do feijão parecem estar localizados, em sua maioria, no interior do grão, sendo necessários mais estudos para a identificação desses compostos e para elucidar seus mecanismos de ação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da FAPEMIG e CNPq.

REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial De Saúde-OMS. Prevention of coronary heart disease, report of a WHO Expert Committee. Geneva, 1982; p.53. (Technical report series, 678).
2. Anderson JW. Dietary fiber, lipids and atherosclerosis. Am J Cardiol, 1987; 60:17-22.
3. Shutler SM, Low AG. Influence of baked beans on plasma lipids in pigs fed on a hipercolesterolaemic diet. Proc Nutr Soc, 1988; 47:97A.
4. Jenkins DJ, Wong GS, Patten R, Bird J, Hall M, Buckley GC, McGuire V, Reichert R, Little JA. Leguminous seeds in the dietary management of hyperlipidemia. Am J Clin Nutr, 1983; 38:567-73.
5. Anderson JW, Story L, Sieling B, Chen WJL, Petro MS, Story JA. Hypocholesterolemic effect of oat-bran or bean intake for hypercholesterolemic men. Am J Clin Nutr, 1984; 40:1146-55.
6. Anderson JW, Gustafson NJ, Spencer DB, Tietjen J, Bryant CA. Serum lipid response of hypercholesterolemic men to single and divided doses of canned beans. Am J Clin Nutr, 1990; 51:1013-19.
7. Rigotti A, Marzolo MP, Ulloa N, Gonzáles O, Nervi F. Effect of bean intake on biliary lipid secretion and on hepatic cholesterol metabolism in the rat. J Lipid Res, 1989; 30:1041-47.

8. Costa NMB. Investigation into the cholesterol-lowering property of baked beans (*Phaseolus vulgaris*). Reading. 200p. Tese (PhD University of Reading), 1992.
9. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas, São Paulo, 1985. v.1.
10. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC. Washington, D.C., 1975; p.1094.
11. Mendez MHM, Derivi SCN, Rodrigues MCR, Fernandes ML. Método de fibra detergente neutro modificado para amostras ricas em amido. Ciênc Tecnol Alim, 1985; 5:123-31.
12. Van Soest PJ. Use detergents in the analysis of feeds. J Assoc Off Agric Chem, 1963; 46:825-9.
13. McCready RM, McComb EA. Extraction and determination of total pectic material in fruits. Anal Chem, 1952; 24:1986-8.
14. Berdague C, Nunes RM, Rosa COB; Costa NMB. Estudo da ingestão alimentar de indivíduos hipercolesterolêmicos da cidade de Viçosa, MG. Oikos, 1996; 9 (In press).
15. American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Committee on standards for nutritional studies. J Nutr, 1977; 107:1340-8.
16. Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem, 1974; 20:470-5.
17. Warnick GR, Benderson J, Albers JJ. Dextran sulfate-Mg²⁺ precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. Clin Chem, 1982; 28:1379-88.
18. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clin Chem, 1982; 28:2077-80.
19. Lott JA, Turner K. Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. Clin Chem, 1975; 21:1754-60.
20. Kritchevsky D. Vegetable protein and atherosclerosis. J Am Oil Chem Soc, 1979; 56:135-40.
21. Stanley DW. A possible role for condensed tannins in bean hording. Food Res Int, 1992; 25:187-92.
22. Koo SI, Williams DA. Relationship between the nutritional status of zinc and cholesterol concentration of serum lipoproteins in adult male rats. Am J Clin Nutr, 1981; 34:2376-81.
23. Samman S, Roberts DCK. Dietary copper and cholesterol metabolism. Nutr Res, 1985; 5:1021-34.
24. Van der Meer R, De Vries H, West CE, De Waard H. Casein-induced hypercholesterolaemia in rabbits in calcium dependent. Atherosclerosis, 1985; 56:139-47.
25. Geil PB, Anderson JM. Nutrition and health implications of dry beans: A review. J Am Coll Nutr, 1994; 6:549-58.
26. Shutler SM, Bircher GM, Tredger JA, Morgan LM, Walker AF, Low AG. The effect of daily baked bean (*Phaseolus vulgaris*) consumption on the plasma lipid levels of young, normo-cholesterolaemic men. Brit J Nutr, 1989; 61:257-65.
27. Costa NMB, Low AG, Walker AF; Owen RW; Englyst HN. Effect of baked beans (*Phaseolus vulgaris*) on steroid metabolism and non-starch polysaccharide output of hypercholesterolaemic pigs with or without an ileo-rectal anastomosis. Brit J Nutr, 1994; 70:871-86.
28. Steinberg D. The rediscovery of high density lipoprotein: a negative risk factor in atherosclerosis. Eur J Clin Invest, 1978; 8:107-9.
29. Jenkins DJA, Wolever TMS, Taylor RH, Ghafari H, Jenkins AL, Barker H, Jenkins MJ. Rate of digestion of food and post prandial glycaemia in normal and diabetic subjects. Brit Med J, 1980; 281:14-17.
30. Meijer GW, Debruijne JJ, Beynen AC. Dietary cholesterol-fat type combinations and carbohydrate and lipid metabolism in rats and mice. Int J Vit Nutr Res, 1987; 57:319-26.
31. Ridout JH, Lucas CC, Patterson JM, Best CH. Changes in chemical composition during the development of cholesterol fatty livers. Biochem. J, 1954; 58:297-301.
32. Tawde S, Das BR. Studies in experimental hypercholesterolemia in rats. IV. Effect of dietary cholesterol on plasma and hepatic proteins of adult rats maintained on high fats diets. J Lab Clin Med, 1962; 60:284-90.
33. Story JA, Kritchevski D. Bile acid metabolism and fiber. Am J Clin Nutr, 1978; 31:5199-202.
34. Rönnemaa T. Effect of high cholesterol, olive oil diet on the lipids and connective tissue in rat liver. A biochemical study. Scand J Gastroenterol, 1976; 11:849-55.
35. Story JA, Baldino A, Czarnecki SK, Kritchevsky D. Modification of liver cholesterol accumulation by dietary fiber in rats. Nutr Rep Int, 1981; 24:1213-19.
36. Martins M, Dhoperhwarkar GA. Effect of high-cholesterol low-carbohydrate diet on serum and liver lipids in rats. Nutr Rep Intern, 1982; 25:921-9.
37. Beynen AC, Lemmens AG, Debruijne JJ. Interaction of dietary cholesterol with cholate in rats: effect on serum cholesterol, liver cholesterol and liver function. Nutr Rep Int, 1986; 34:557-63.
38. Eggum BO. The influence of dietary fibre on protein digestion and utilisation. In: Schweizer, TFE; Edwards, CA, editors. Dietary fibre - a component of food. Londres: Springer-verlag, 1992:153-65.
39. Bressani R. Revision sobre la calidad del grano de frijol. Arch. Latinoam Nutr, 1989; 39:419-42.
40. Lees AM, Mok HYI, Less RS, McCluskey MA, Grundy SM. Plant sterols as cholesterol-lowering agents: clinical trials in patients with hypercholesterolaemia and studies of sterol balance. Atherosclerosis, 1977; 28:325-38.
41. Kay RM. Effects of dietary fibre on serum lipid levels and faecal bile acid excretion. Can Med Assoc J, 1980; 123:1213-17.
42. Oakenfull D. Saponins in food. A review. Food Chem, 1981; 6:19-40.
43. Topping DL, Storer GB, Calvert GD, Illman RJ, Oakenfull DG, Weller RA. Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, plasma lipids and lipoprotein turnover in the pig. Am J Clin Nutr, 1980; 33:783-6.
44. Oakenfull DG, Fenwick DE, Hood RL, Topping DL, Illman RJ, Storer GB. Effects of saponins on bile acids and plasma lipids in the rat. Brit J Nutr, 1979; 42:209-16.

Recibido: 27-05-1997

Aceptado: 05-06-1998