

Utilização do amido de leguminosas

Elizabete Wenzel de Menezes, Franco María Lajolo

O aproveitamento do amido, ao longo do intestino delgado, tem sido avaliado através da sua velocidade de digestão e absorção que altera as respostas glicêmicas. O alimento que é digerido e absorvido lentamente produz reduzido aumento nos níveis plasmáticos de glicose e insulina pós-prandial. No passado, o principal objetivo do processamento do amido era aumentar sua digestibilidade e absorção; atualmente, porém passou a ser preconizado, em determinadas situações, o uso de alimentos com amido digerido lentamente em função de seus efeitos benéficos para a saúde. Do ponto de vista clínico, os efeitos sobre os níveis plasmáticos de insulina são de grande importância na prevenção e controle das diabetes e de hiperlipidemias. Estudos longitudinais mostraram que o consumo habitual de carboidratos e cereais está diretamente relacionado com a intolerância à glicose; ocorrendo o inverso com o consumo de leguminosas (1).

As informações necessárias para descrever com detalhes os fatores que influenciam no aproveitamento do amido, proveniente de diversas fontes, são bastante reduzidas e em algumas situações contraditórias; sendo que dentro de um mesmo alimento diversos componentes podem estar atuando simultaneamente. De um modo geral, os principais fatores descritos na literatura são: a forma física do alimento, o tipo de processamento do alimento, a natureza do amido, gelatinização e eventual retrogradação, a organização física do conteúdo celular, a presença da fibra alimentar e de fatores antinutricionais. Dessa forma é necessário aprofundar os conhecimentos sobre esses fatores que influem diretamente nas propriedades fisiológicas dos alimentos.

O grupo do Laboratório de Química e Bioquímica de Alimentos do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental - FCF - USP vem desenvolvendo estudos de curta e média duração com animais e humanos e «in vitro» para avaliar a utilização do amido do feijão em relação a outros alimentos de consumo habitual da população brasileira.

Em ensaio agudo com animais, após 180 minutos da administração do alimento, pudemos observar através da área produzida abaixo da curva glicêmica que as fontes de carboidratos complexos estudadas foram aproveitadas de forma diferente. As duas variedades de feijão ($844,7 \pm 59,2$; $844,6 \pm 57,8$ mmol x min/l) e a mandioca ($872,0 \pm 31,8$ mmol x min/l) produziram as menores áreas; já, a polenta ($1068,0 \pm 70,5$ mmol x min/l), arroz ($1029,3 \pm 80,9$ mmol x min/l), pão ($992,5 \pm 107,6$ mmol x min/l) e macarrão ($931,1 \pm 41,5$ mmol x min/l) as maiores e a canjica ($903,0 \pm 112,5$ mmol x min/l) e farinha de mandioca ($884,8 \pm 81,4$ mmol x min/l) áreas intermediárias ($p < 0,05$). Esses resultados foram, também, observados por outros

autores que têm estudado em humanos o aproveitamento de carboidratos complexos (2-3). Observamos que a porcentagem de hidrólise do amido «in vitro», após a incubação dos alimentos por 30 min com amiloglucosidase, está positivamente correlacionada com a área produzida abaixo da curva glicêmica e com o aumento máximo da glicemia acima do basal.

A partir dos resultados observados selecionamos três alimentos (milho, arroz e feijão) para serem estudados em humanos. Em ensaios de curta duração com humanos evidenciamos que o feijão ($915,4 \pm 69,7$ mmol x min/l) proporcionou menor aumento nos níveis plasmáticos de glicose que a polenta ($1066,9 \pm 107,3$ mmol x min/l), arroz ($1011,1 \pm 127,8$ mmol x min/l) e arroz com feijão ($972,5 \pm 91,7$ mmol x min/l) ($p < 0,05$). Verificamos que as respostas glicêmicas obtidas com humanos foram semelhantes às encontradas com animais, existindo correlação positiva entre a hidrólise «in vitro» das fontes de carboidratos estudadas e a área de glicose produzida abaixo da curva glicêmica para os dois grupos.

A existência de correlações positivas entre a digestibilidade «in vitro» dos diferentes alimentos fontes de amido e a resposta glicêmica produzida abaixo da curva em animais ($y = 721 + 3,7x$; $r = 0,824$ $p < 0,01$) e em humanos ($y = 787 + 3,9x$; $r = 0,835$ $p < 0,01$) sugerem o uso do teste «in vitro» para a seleção prévia de uma larga variedade de alimentos fontes de amido (teste em «screening») e a possibilidade de utilização de experimentos com animais para elucidar mecanismos que possam estar interferindo no aproveitamento do amido.

A quantificação dos níveis plasmáticos de glicose para a avaliação do aproveitamento de carboidratos complexos em humanos constitui apenas um dos parâmetros necessários para a seleção dos alimentos na elaboração de cardápios e dietas. Segundo Coulston e cols. (4) o Índice Glicêmico (IG), que compara o aumento da área abaixo da curva glicêmica produzida por um alimento em relação ao alimento controle (pão), ignora totalmente as respostas plasmáticas de insulina; apesar de seu significado clínico na população não diabética. Desta forma, avaliamos além dos níveis plasmáticos de glicose, os níveis de insulina após 15, 30, 45, 60, 120 e 180 minutos da ingestão de cada dieta.

A área abaixo da curva plasmática de insulina foi estatisticamente diferente tanto para a dieta de feijão ($16561,4 \pm 2567,0$ pmol x min/l) como de arroz com feijão ($16585,2 \pm 2961,4$ pmol x min/l) em relação a de polenta ($35982,2 \pm 7874,0$ pmol x min/l) e arroz ($32.119,8 \pm 8.001,2$ pmol x min/l) ($p < 0,05$). Essas diferenças não foram observadas para a glicose plasmática, somente a dieta de feijão apresentou diferença estatística na área de glicose produzida abaixo da curva glicêmica.

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

O'Dea & Wong (5) observaram que a lentilha triturada, antes da

cozido, proporcionou maiores aumentos na glicemia em relação a lentilha cozida inteira; mas, os níveis de insulina plasmática foram semelhantes. Esses autores sugerem que existam outros fatores nas leguminosas, além da velocidade de digestão do amido, que podem contribuir para a magnitude da resposta de insulina.

Alimentos produtores de baixos IG (6), em especial as leguminosas (7) tem sido recomendados para tratamento de indivíduos com hipertrigliceridemia, apesar de não serem conhecidos os mecanismos envolvidos na redução dos níveis de triglicérides séricos e nem na reduzida produção de insulina e glicose plasmática.

Em outro experimento com humanos, estudamos o efeito da ingestão do feijão com e sem casca sobre as respostas plasmáticas de glicose, insulina e GLP-1 7-36. Pudemos observar, mais uma vez, o reduzido aumento da área abaixo da curva glicêmica após 180 minutos da ingestão do feijão ($862,6 \pm 74,4$ mmol x min/l) em relação a polenta ($1020,3 \pm 101,9$ mmol x min/l) ($p < 0,05$). Paralelamente, o feijão sem casca ($886,7 \pm 33,7$ mmol x min/l) produziu respostas glicêmicas estatisticamente diferentes da polenta e iguais do feijão com casca, mostrando que a casca do feijão não tem qualquer efeito sobre a glicemia. As respostas plasmáticas de insulina seguiram o mesmo perfil das respostas de glicose, produzindo reduzido aumento da insulina plasmática com a dieta de feijão com ($17533,8 \pm 2531,6$ pmol x min/l) e sem casca ($18436,8 \pm 1924,7$ pmol x min/l) em relação a de polenta ($25503,4 \pm 4430,2$ pmol x min/l).

Thompson (8) observou que a remoção da casca do feijão tem a capacidade de aumentar a velocidade de digestão do amido «in vitro», enquanto que a readição da casca à farinha de feijão sem casca tem efeito inverso. Entretanto, nossos resultados de hidrólise «in vitro» foram próximos tanto para feijão com casca como sem casca. Portanto, componentes da casca do feijão parecem não interferir no aproveitamento «in vivo» e «in vitro» do amido do feijão.

Sendo o GLP-1 7-36 (polipeptídeo semelhante ao glucagon-1 7-36), considerado o mais potente estimulador da secreção de insulina entre todos os GLIs (imunoreagentes semelhantes ao glucagon) (9), observamos sua liberação frente à ingestão do amido proveniente do feijão e da polenta. Pelos níveis plasmáticos de GLP-1 7-36 verificamos que tanto a polenta como o feijão com e sem casca estimulam a liberação desse hormônio gastrointestinal em relação ao jejum, mas não verificamos qualquer diferença na liberação decorrente dos diferentes alimentos.

Talvez outros hormônios gastrointestinais possam explicar as respostas plasmáticas de insulina obtidas com a ingestão do feijão. Dessa forma, parece interessante avaliar o efeito produzido pela ingestão do feijão sobre a liberação de certos hormônios gastrointestinais com ação insulínica e quais os possíveis mecanismos hormonais que estão envolvidos na reduzida liberação plasmática de insulina.

Outro ensaio de curta duração com animais foi realizado com a finalidade de elucidarmos parte dos fatores, presentes nos alimentos, que podem interferir no aproveitamento do amido. O feijão foi escolhido como modelo de estudo pois: representa um alimento de grande consumo, apresenta reduzido aproveitamento de seu amido e pode servir de parâmetro para explicar a utilização do amido proveniente de outras leguminosas.

Basicamente foram realizados diferentes tratamentos no feijão cozido visando verificar a importância da integridade da parede celular e da organização física dos grânulos de amido e da proteína sobre a disponibilidade do amido. Os tratamentos foram os seguintes: feijão cozido por 48 min; amido isolado de feijão cozido; amido isolado de feijão cozido acrescido de parede celular e casca do feijão;

feijão cozido incubado por 60 min com pepsina; fubá cozido por 20 min (polenta - grupo controle).

Pudemos evidenciar o reduzido aproveitamento do amido no grupo de animais que recebeu feijão em relação ao que recebeu polenta, ocorrendo diferenças na área produzida abaixo da curva glicêmica ($900,9 \pm 40,7$ mmol x min/l e $1051,7 \pm 36,0$ mmol x min/l, respectivamente) ($p < 0,05$). Também, pudemos verificar reduzida percentagem de hidrólise «in vitro» do amido do feijão, após 30 min de incubação com amiloglucosidade ($12,9 \pm 0,4\%$) em relação a da polenta ($68,0 \pm 2,0\%$). Verificamos pela estrutura microscópica do feijão que a estrutura tecidual do grão foi totalmente desintegrada e que grande parte das células apresentam a parede celular íntegra.

Tovar e cols. (10) utilizando feijão cozido manifestaram a necessidade de um rigoroso processo de homogeneização, com ruptura da parede celular, para aumentar a velocidade de hidrólise «in vitro» dos alimentos e possivelmente afetar seu aproveitamento «in vivo». Tal procedimento foi utilizado no isolamento dos grânulos de amido de feijão cozido; para garantirmos o completo rompimento da parede celular as amostras foram homogeneizadas no triturador Potter - Elvehjem por 40 min.

Os animais aos quais foi administrado o amido isolado do feijão cozido ($998,1 \pm 46,6$ mmol x min/l) produziram maior área abaixo da curva glicêmica que os animais que consumiram o feijão cozido ($900,9 \pm 40,7$ mmol x min/l) ($p < 0,05$). Paralelamente, o amido isolado de feijão cozido apresentou alta percentagem de hidrólise «in vitro» ($70,2 \pm 9,4\%$).

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

As diferenças estruturais, observadas por microscopia óptica, dos grânulos cozidos antes e depois de seu isolamento mostram que a parede celular pode interferir no processo de gelatinização. O amido isolado de feijão cozido (48 min) apresentou-se parcialmente gelatinizado. Já, o amido isolado de feijão cru, logo após sua cocção (48 min), apresentou-se completamente gelatinizado; a forma cristalina dos grânulos foi perdida, eles entumeceram, sofreram ruptura e solubilizaram-se formando um gel.

Segundo Wursch e cols. (11) a parede celular pode interferir no processo de gelatinização limitando o entumescimento dos grânulos de amido e limitando o transporte de água necessária para a completa gelatinização. A limitação física, proporcionada pela presença da parede celular, no entumescimento dos grânulos pode ser observada através do tamanho dos grânulos de amido do feijão submetidos a uma segunda cocção. O amido isolado de feijão cozido apresentou diâmetro médio de 27,68 u de largura e 44,92 u de comprimento. Após a segunda cocção o diâmetro médio passou para 41,60 u e 67,20 u, respectivamente. Esse aumento no tamanho dos grânulos mostra que a parede celular dificultou o entumescimento dos grânulos. Dessa forma, a presença da parede celular íntegra no feijão cozido inteiro, associada à possibilidade de sua interferência no entumescimento e na gelatinização do grânulo de amido, pode explicar, em parte, as reduzidas respostas glicêmicas observadas com a ingestão desse alimento.

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

A dieta de amido isolado de feijão cozido acrescido de parede celular e casca apresentou menor percentagem de hidrólise «in vitro»

(59,6 ± 1,9%) do que a dieta composta só de amido isolado de feijão cozido (70,2 ± 2,4%). Paralelamente, observamos significativo retardo no aumento da glicemia pós prandial, após 30 min da administração da dieta, 5,9 ± 0,8 mmol/l e 6,7 ± 0,5 mmol/l, respectivamente (p<0,05).

A princípio, os efeitos observados podem ser explicados pela presença dos fatores anti-nutricionais nas leguminosas. O feijão contém naturalmente uma série desses fatores, tais como: inibidores de alfa-amilase e proteases, fitatos, taninos e saponinas que podem interferir no aproveitamento dos nutrientes. Apesar da cocção destruir ou reduzir os níveis dos fatores descritos, Thompson (8) sugeriu que quantidades residuais dos fatores anti-nutricionais podem diminuir a velocidade de digestão e absorção dos carboidratos e, explicar, em parte, o reduzido aumento da glicemia após a ingestão de determinadas fontes de carboidratos complexos. A autora observou correlação negativa entre a concentração destes compostos provenientes de leguminosas e a velocidade de hidrólise «in vitro» do amido e; entre a resposta glicêmica produzida em humanos.

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

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

Pudemos observar que o tratamento do feijão cozido com pepsina proporcionou aumento na percentagem de hidrólise «in vitro», passando de 12,9 ± 0,41% para 31,7 ± 0,8%. Dessa forma, alterações da proteína presente no conteúdo celular e ou na parede celular podem facilitar a ação da amiloglucosidase junto aos grânulos de amido.

Esses resultados «in vitro» estão de acordo com os encontrados por Wong e cols. (12) e Tovar e cols. (10) os quais observaram em leguminosas que alterações proteolíticas na parede celular, decorrentes do tratamento com pepsina, produziram alterações nas associações físicas entre o amido e a proteína e consequentemente melhoraram a disponibilidade do amido.

A quantidade de glicose plasmática liberada após 30 e 60 min da administração da dieta de feijão tratado com pepsina (6,5 ± 0,4 e 6,5 ± 0,3 mmol/l) e a área abaixo da curva glicêmica (981,3 ± 41,5 mmol x min/l) foram estatisticamente diferentes do grupo que recebeu feijão não tratado (5,2 ± 0,3; 5,7 ± 0,4 e 900,9 ± 40,7 mmol x min/l, respectivamente) (p<0,05). Esses resultados confirmaram «in vivo» o aumento da digestibilidade observado «in vitro» com o tratamento do feijão cozido com pepsina. Nas condições experimentais descritas pudemos observar, através da incubação prévia do feijão cozido com pepsina, a possível participação da organização física entre os grânulos de amido e a proteína no aproveitamento do amido.

Apesar dos nossos resultados evidenciarem melhora no aproveitamento do amido, após o tratamento do feijão cozido com pepsina, sua ingestão não proporcionou níveis plasmáticos de glicose semelhantes aos obtidos com a polenta ou com qualquer outro tratamento a que o feijão foi submetido. Esse fato, mostra que além da proteína natural das leguminosas outros fatores estão interferindo

no aproveitamento do amido.

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

Resumidamente, a partir dos resultados obtidos nesse ensaio pudemos evidenciar que: a integridade da parede celular é um importante fator que interfere no aproveitamento do amido do feijão, podendo atuar como uma barreira física que dificulta o entumescimento, a completa gelatinização dos grânulos e a ação de enzimas hidrolíticas sobre o amido; a organização física entre os grânulos de amido e as proteínas existentes nas sementes de feijão podem interferir, parcialmente, no aproveitamento do amido, compostos presentes na parede celular e casca do feijão não podem explicar o reduzido aproveitamento do amido

Com a finalidade de avaliarmos o aproveitamento do amido do feijão após seu consumo por um período mais longo, foi realizado um ensaio de média duração com animais sob restrição energética. Os animais foram adaptados durante 7 dias a consumir uma ração à base de caseína e amido de milho durante uma hora por dia e sob restrição energética. Após este período os animais foram divididos em três grupos e receberam as seguintes rações por 13 dias: ração à base de caseína «ad libitum» e polenta ou feijão como fonte de amido sob restrição energética. Pelos resultados obtidos de ganho de peso; deposição de lípidos na carcaça; excreção fecal; glicose plasmática; liberação de maltase; invertase e alfa-amilase no intestino delgado e amido residual no intestino delgado evidenciamos que o reduzido aproveitamento do amido do feijão persistiu apesar da adaptação dos animais a essa fonte de amido.

REFERÊNCIAS

1. Coulston A M, Hobenbeck CB & Reaven GM. Utility of studies measuring glucosa and insuin responses to various carbohydrate-containing foods. *Am J Clin Nutr* 39: 163-166, 1984.
2. Feskens EJM, Bowless CH & Kromhout D. Carbohydrate intake and body mass index in relation to the risk of glucose intolerance in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 54: 136-40, 1991.
3. Jenkins DJA, Wolever TM, Kalmusky J, Giudiosi S, Giordano C, Wong GC, Bird JN, Patten R, Hall M, Buckley G, Little JA. Low glycemid index carbohydrate foods in the management of hyperlipidemia. *Am J Clin Nutr* 42: 604-617, 1985.
4. Jenkins DJA, Wong GC, 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* 38: 567-73, 1983.
5. Morgan L M, fiat PR & Marks V. Nutrient regulation of the entero-insular axis and insulin secretion. *Nutr Res Rev* 1, 79-97, 1988.
6. O'Dea K & Wong S. The rate of starch hydrolysis in vitro does not predict the metabolic responses to legumes in vivo. *Am J Clin Nutr* 38: 382-387, 1983.
7. Thompson LU. Antinutrients and blood glucose. *Food Technol.* 42 (4): 123-132, 1988.
8. Tovar J, Bjorck IM & Asp N-G. Analytical and nutritional implications of limited enzymic availability of starch in cooked red kidney beans. *J Agric Food Chem* 38: 488-93, 1990.
9. Wolever TMS, Jenkins DJA, Jenkins AL & Jossé RG. The glycemid index: methodology and clinical implication. *Am J Clin Nutr* 54: 846-54, 1991.
10. Wong S, Traianedes K & O'Dea K. Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in legumes. *Am J Clin Nutr* 42: 38-43, 1985.
11. Wursch P. Starch in human nutrition. *World Rev Nutr Diet* 60: 199-256, 1989.
12. Wursch P, Del Vedomo S & Koeltreuter B. Cell structure and starch nature as key determinants of digestion rate of starch in legume. *Am J Clin Nutr.* 43: 25-9, 1986.