

**EFEITO DAS DIETAS DE FEIJÃO (*Phaseolus Vulgaris*) AQUECIDO DE MODOS
E TEMPOS DIFERENTES COM E SEM ADIÇÃO DE METIONINA, NO
CRESCIMENTO, NO FÍGADO E NA TIREÓIDE DE RATOS.
ESTUDOS FEITOS COM ÁCIDO OLÉICO ¹²⁵I**

Nilda P. Sosa de Pereira

DISSERTAÇÃO E TESE - IPEN 2
IPEN - DT - 2

DEZEMBRO/1979

CONSELHO DELIBERATIVO

MEMBROS

Dr. Luiz Cintra do Prado – Presidente
Dr. Edgardo Azavedo Soares Júnior – Vice-Presidente

CONSELHEIROS

Dr. Hécio Modesto da Costa
Dr. Ivano Humbert Marchesi
Dr. Admar Cervellini
Dr. Waldyr Muniz Oliva

REPRESENTANTES

Dr. Jacob Charcot Pereira Rios
Dr. Paolo Enrico Maria Zaghen

SUPERINTENDENTE

Hermení Augusto Lopes de Amorim

**EFEITO DAS DIETAS DE FEIJÃO (*Phaseolus Vulgaris*) AQUECIDO DE MODOS
E TEMPOS DIFERENTES COM E SEM ADIÇÃO DE METIONINA, NO
CRESCIMENTO, NO FÍGADO E NA TIREÓIDE DE RATOS.
ESTUDOS FEITOS COM ÁCIDO OLÉICO ¹²⁵I**

Nilda P. Sosa de Pereira

**Tese para obtenção do Título de "Doutor em - Ciências
dos Alimentos" - Orientador Prof. Dr. Sérgio Miguel
Zucas. Apresentada e defendida em 26 de junho de
1979, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SÃO PAULO - BRASIL**

Série DISSERTAÇÃO E TESE IPEN

INIS Categories and Descriptors

C21

Diet

Phaseolus

Beans

Autoclaves

Methionine

Animal growth

Liver

Thyroid

Oleic acid

Iodine 125

SUMÁRIO

	Página
1 – INTRODUÇÃO.....	1
2 – REVISÃO DA LITERATURA.....	3
3 – PROPOSIÇÃO.....	8
4 – PLANO DE TRABALHO.....	9
5 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
5.1 – Materiais.....	9
5.1.1 – Animais.....	9
5.1.2 – Ração.....	9
a) Composição.....	11
b) Preparo da Ração.....	11
5.2 – Métodos.....	11
5.2.1 – Químicos.....	11
a) Preparação do Ácido Oléico ¹²⁵ I.....	11
b) Determinação da Fração Lipídica.....	11
c) Determinação do Nitrogênio Total.....	11
5.2.2 – Físicos.....	12
a) Determinação da Radioatividade da Ração.....	12
b) Determinação da Radioatividade dos Órgãos e Excretas dos Animais.....	12
5.2.3 – Biológicos.....	12
a) Avaliação do Valor Biológico das Rações.....	12
b) Avaliação do Coeficiente de Eficácia Protéica.....	12
c) Determinação da Radioatividade das Fezes.....	12
d) Determinação da Radioatividade da Urina.....	12
e) Balanço do ¹²⁵ I.....	12
f) Determinação da Captação do ¹²⁵ I.....	13
g) Determinação da Captação de ¹²⁵ I pela Tireóide.....	13
i) Determinação da Radioatividade Retida na Carcaça.....	13
5.2.4 – Estatísticos.....	13
6 – ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	14
7 – CONCLUSÕES.....	55
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

**EFEITO DAS DIETAS DE FEIJÃO (*Phaseolus Vulgaris*) AQUECIDO DE MODOS
E TEMPOS DIFERENTES COM E SEM ADIÇÃO DE METIONINA, NO
CRESCIMENTO, NO FÍGADO E NA TIREÓIDE DE RATOS.
ESTUDOS FEITOS COM ÁCIDO OLÉICO ¹²⁵I**

Nilda P. Sosa de Pereira

RESUMO

Ratos recém desmamados foram divididos em 13 Grupos de seis animais, e alimentados "ad libitum", durante quatro semanas, com dietas contendo caseína, como fonte protéica para o grupo controle, e feijão cozido em autoclave a 120° por 30, 45 e 60 minutos, ou cozido em panela comum por 60, 120 e 180 minutos, adicionados ou não de metionina.

Incorporou-se o ácido oléico ¹²⁵I, misturado com outros nutrientes às dietas, com a finalidade de estudar a distribuição da radioatividade no organismo do animal e sua excreção.

Observou-se a influência do aquecimento do feijão, em modos e tempos diferentes, com e sem suplementação de metionina no crescimento dos animais, verificado por meio do ganho de peso, coeficiente de eficácia alimentar (CEA) e coeficiente de eficácia protéica (CEP).

Efeituaram-se estudos nas fezes, urina e carcaça dos animais. Determinou-se também a quantidade de lípidos das fezes e carcaça.

Verificou-se a influência das dietas no fígado e tireóide, por meio de seus pesos e medidas de radioatividade desses órgãos.

A quantidade de radioatividade foi maior no fígado e menor na glândula tireóide nos animais alimentados com feijão sem adição de metionina.

Observou-se, também, que a excreção fecal e a radioatividade na urina foram mais altas nesses animais.

O valor nutritivo do feijão melhora com a adição de metionina.

1 – INTRODUÇÃO

As leguminosas representam a maior fonte de alimento para uma grande parte da população mundial.

Na América do Sul, excluindo Argentina e Uruguai onde há abundância de carne bovina, as leguminosas constituem prato obrigatório no cardápio familiar.

Aprovada para publicação em Agosto/1979.

Nota: A redação, ortografia, conceitos e revisão final são de responsabilidade do Autor.

Recentemente, o emprego da soja tem aumentado consideravelmente como substituto do leite de vaca na alimentação de crianças alérgicas a este produto, e em programas oficiais de merenda escolar.

No Brasil, o consumo de feijão, que é uma das leguminosas mais difundidas, é muito elevado, principalmente o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) que constitui alimento básico da população ao lado do arroz⁽²⁰⁾.

Tanto o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) como o macassar (*Vigna sinensis*) tiveram suas origens na Ásia tropical, altiplanos do México e Guatemala e no Brasil, no pantanal Mato-Grossense. Pelo seu fácil cultivo e seu valor alimentício se espalharam rapidamente pelo mundo.

Como era conhecido no velho mundo, antes de Colombo, foi considerado muito tempo originário da Índia. Posteriormente, por meio de pesquisas arqueológicas efetuadas em túmulos Incas, foi possível calcular que o cultivo desta leguminosa já era conhecida na América há aproximadamente 7.000 anos.

Brasil, China e os Estados Unidos são os maiores fornecedores destas leguminosas.

Muitas espécies de feijão com inúmeras variedades são conhecidas. Experiências são realizadas para melhorar a produção e qualidade destas leguminosas.

Os feijões, *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus aureus*, contêm 21 a 25% de proteínas, 58 a 64% de carboidratos e cerca de 1,5% de gorduras, além de tiamina, ferro, manganês e fosfato⁽²⁰⁾.

No alto teor protéico das leguminosas reside a sua importância alimentar. A contribuição que toda proteína fornece para satisfazer as necessidades protéicas, não depende somente da quantidade com que se encontram na alimentação, mas também da sua qualidade, que por sua vez depende da composição dos aminoácidos. Ainda que as proteínas das leguminosas tenham um valor biológico inferior ao da proteína animal, elas contribuem de modo importante para satisfazer as necessidades, quando se combinam com outras proteínas vegetais, devidamente selecionadas, que assegurem a ingestão de quantidades adequadas de todos os aminoácidos considerados essenciais^(7,16).

Os aminoácidos essenciais das proteínas de feijão se distribuem da seguinte maneira⁽²⁹⁾:

Aminoácidos	Porcentagem
Isoleucina	4,19
Leucina	7,60
Lisina	7,20
Metionina	1,00
Cistina	0,80
Total de aminoácidos sulfurados	1,80
Fenilalanina	5,20
Tirosina	2,50
Total de aminoácidos aromáticos	7,70
Treonina	3,97
Triptofano	1,00
Valina	4,80

A metionina é o aminoácido limitante primário das leguminosas, e sua suplementação melhora a qualidade nutricional de suas proteínas^(15,53).

Por outro lado, existem nas sementes desses vegetais substâncias tóxicas tais como: inibidores de tripsina, hemaglutininas, fatores dociogênicos, saponinas, etc. As ações deletérias que estes fatores poderiam provocar no homem e no animal, podem ser prevenidas por tratamento térmico, uma vez que esses componentes, antinutricionais, são termolábeis^(42,61).

Por outro lado, não podemos nos esquecer que o tratamento térmico excessivo pode acontecer a destruição de alguns aminoácidos.

Devido ao crescente interesse de expandir cada vez mais o uso das leguminosas como fonte protéica, em países em via de desenvolvimento, é sumamente importante na nutrição, o melhor conhecimento de seus componentes que poderiam influenciar ou não no metabolismo normal do organismo.

2 – REVISÃO DA LITERATURA

Embora as leguminosas assumam importante papel na dieta humana, elas tem ao mesmo tempo uma ampla variedade de substâncias as quais podem ser consideradas tóxicas para o homem e o animal⁽⁶¹⁾.

OSBORNE e MENDEL⁽⁷⁸⁾ foram os primeiros pesquisadores a observar que as dietas de leguminosas cruas, quando fornecidas a animais de experimentação, não promoviam um crescimento normal, melhorando seu valor biológico após o aquecimento.

Numerosos estudos tem sido realizados após os primeiros trabalhos de OSBORNE e MENDEL, para tratar de identificar a natureza química e o mecanismo de ação dos fatores antinutricionais encontrados nas leguminosas.

É a soja a leguminosa mais estudada pelos diversos pesquisadores dedicados ao campo da nutrição, embora existam outras, entre elas o feijão, que contém ação tóxica⁽⁴²⁾.

Segundo MUELENAERE⁽⁷²⁾ existem leguminosas que contém suficiente quantidade de substâncias tóxicas, letais, quando administradas intraperitonealmente. Este pesquisador afirma que a toxicidade do fator ou fatores encontrados na soja é menor que a encontrada em outras leguminosas.

A maioria dos efeitos tóxicos ou antinutricionais das leguminosas podem ser parcialmente eliminados por aplicação apropriada do calor. A destruição destes fatores tóxicos é manifestada pela elevação do valor biológico do alimento. Aquelas leguminosas cujos valores nutricionais são aumentados pelo calor, geralmente contém mais de um componente tóxico, ficando difícil saber qual é o fator responsável pelo menor valor nutricional das leguminosas não aquecidas⁽⁶¹⁾.

BOOTH e cols.⁽¹¹⁾ e RACKIS⁽⁸⁵⁾ acreditam que o termo "toxicidade" usado frequentemente para descrever os efeitos antinutricionais das leguminosas não é correto, porque, os efeitos deletérios por elas produzidas, podem ser rapidamente abolidos após alimentação com dietas destas leguminosas submetidas a tratamento térmico adequado; a destruição destes fatores antinutricionais depende da temperatura, tempo de aquecimento e condições de umidade.

Talvez, dos fatores antinutricionais das leguminosas, os mais conhecidos sejam os inibidores da tripsina, assim chamada pela capacidade de inibir a ação da tripsina, encontrada no trato digestivo do homem e do animal⁽⁶¹⁾.

Numerosos esforços tem sido realizados para isolar e caracterizar os inibidores da tripsina.

KUNITZ⁽⁵⁶⁾ foi um dos primeiros a isolar da soja uma proteína cristalina, que inibe a ação proteolítica da tripsina.

KAKADE e cols.⁽⁵²⁾ realizaram estudos para extrair e determinar a atividade inibidora da tripsina de soja, usando métodos precisos, com o fim de obter determinações seguras e reproduzíveis.

Os inibidores da tripsina parecem estar presentes na maioria das sementes vegetais comestíveis, entretanto, há controversias acerca da existência desses inibidores em sementes de girassol⁽⁸⁷⁾.

Entre várias leguminosas estudadas foi observado que o feijão e a soja contém valores mais altos de atividade antitriptica. Contudo, existe uma grande variação de atividade bioquímica tanto "in vitro" como "in vivo" entre diferentes variedades de feijão^(32,46).

Os inibidores da tripsina são substâncias protéicas as quais se ligam fortemente à tripsina, bloqueando o sítio ativo desta enzima⁽¹⁰⁾. Este inibidor quando isolado com alto grau de pureza é rico em cistina. A proteína de feijão contém aproximadamente 2,5% de cistina e o inibidor da tripsina contribui com 32% a 40% da cistina total da proteína de feijão⁽⁵¹⁾.

Os resultados obtidos por OZAWA e LASKOWSKI⁽⁷⁹⁾ sugerem que a interação inibidor-tripsina, envolve um evento químico que consiste na quebra de uma simples ligação peptídica arginina-isoleucina, dando como resultado dois NH₂ terminais, do ácido aspártico ou asparagina e isoleucina, e um COOH terminal da arginina.

Vários pesquisadores^(12,42) acham ser pouco provável que os inibidores da tripsina sejam os responsáveis da atividade tóxica das leguminosas, embora não possa ser excluída, a possibilidade desse inibidor não possuir ação fisiológica que contribua com os efeitos produzidos pelo consumo de leguminosas cruas.

Tem sido demonstrado por KAKADE e cols.⁽⁵¹⁾ que preparações purificadas do inibidor da tripsina do feijão diminuem o crescimento de animais.

Entretanto os resultados obtidos por SCHINGOETHE e cols.⁽⁸⁸⁾ com frações da soja crua, indicam que pelo menos algumas das atividades inibidoras do crescimento de camundongos, pode ser devida a um composto de peso molecular menor que 5.000. A ligação deste composto com proteínas maiores pode explicar a inibição do crescimento, atribuída ao inibidor da tripsina.

Experiências posteriores realizadas por estes pesquisadores⁽⁸⁹⁾ demonstraram a presença de pelo menos quatro componentes nas frações isoladas da soja, que são responsáveis pela inibição do crescimento dos camundongos.

Por análises químicas e fracionamento por cromatografia em coluna, executadas em pâncreas de ratos alimentados com farinha de soja, KONIJN e cols.⁽⁵⁴⁾ demonstraram haver nessa glândula mudanças no perfil enzimático, induzidas por substâncias termolábeis, encontradas nesse alimento. NITZAN e LIENER⁽⁷³⁾, observaram que a ingestão de farinha de soja crua estimula a secreção de todas as enzimas pancreáticas.

Conforme LYMAN e cols.⁽⁶²⁾ o inibidor da tripsina da soja atua provocando aumento na secreção da enzima pancreática por remoção da tripsina ativa e quimotripsina do intestino delgado. Estes pesquisadores observaram que a atividade da tripsina e quimotripsina detectada no intestino de ratos alimentados com dieta contendo esse inibidor era somente um décimo da encontrada nos animais usados como controle, indicando desta forma que a enzima intestinal estava completamente ligada ao inibidor. A grande quantidade de quimotripsinogênio presente no intestino delgado era devida à insuficiência de

tripsina livre. Neste experimento, foi também observado, que o quimotripsinogênio é incapaz de suprimir a secreção da enzima pancreática.

Das séries de trabalhos realizados por OLDS e cols.⁽⁷⁶⁾ foi observado que a proteína dietética no intestino é o maior regulador da secreção da enzima pancreática.

Foi sugerido que a toxicidade dos feijões se encontra reduzida na ausência da microflora intestinal, embora não esteja completamente anulada, sugerindo a possibilidade de que o feijão contém mais que uma toxina, ou só uma toxina em várias formas, fato observado por RATTRAY e cols.⁽⁸⁶⁾ em estudos sobre toxicidade do feijão em ratos convencionais e gnotobiótico.

A atividade antitriptica das leguminosas se elimina quase que totalmente pelo tratamento com calor⁽³²⁾. Segundo TIDEMANN e SCHINGOETHE⁽⁹⁷⁾ o fator inibidor da tripsina pode ser destruído, inativado ou retido por tratamento do produto com carvão vegetal ativado.

Os experimentos realizados com feijão, por BOWMAN⁽¹³⁾, mostraram que o extrato aquoso dessa semente contém uma substância termolábil que diminui a atividade da amilase pancreática sobre a digestão de amido.

JAFFÉ e LETTE⁽⁴⁶⁾ estudando os fatores bioquimicamente ativos de algumas variedades de feijão, verificaram que ratos alimentados com dietas contendo feijão da variedade *Phaseolus vulgaris* tinham as fezes ligeiramente esbranquecidas, significando presença de amido. Por meio desse estudo concluíram que estes feijões continham grande quantidade de inibidor da amilase.

Acredita-se que a presença deste fator em dieta livre de outros inibidores do crescimento e ricos em amido causaria uma diminuição na utilização energética⁽⁴²⁾:

LAJOLO⁽⁵⁷⁾ verificou por centrifugação e eletroforese em sistema alcalino, que o inibidor da amilase, isolado do *Phaseolus vulgaris*, é uma glicoproteína homogênea.

Este pesquisador conclui de seus estudos, que este inibidor diminui a velocidade da digestão de amido no intestino delgado de ratos, o que provoca diminuição do aproveitamento energético dos alimentos, o que confirma a hipótese anterior⁽⁴²⁾.

A presença de substâncias nas leguminosas, com capacidade de aglutinar células vermelhas de várias espécies de animais, tem sido amplamente reconhecida. Estas hemaglutininas são referidas como fitohemaglutininas ou lectinas.

Pelas inúmeras pesquisas realizadas é lícito suspeitar que as hemaglutininas são também responsáveis por manifestações tóxicas observadas em seres humanos que ingeriram legumes crus^(39,61).

Embora as fitohemaglutininas pareçam ter pouca significância na soja, a situação com respeito a algumas outras leguminosas que são de ingestão popular em países menos desenvolvidos, é completamente diferente. Algumas variedades de *Phaseolus vulgaris* exibem níveis significantes de atividade hemaglutinante chamando muito o interesse por seu marcável efeito no sistema biológico^(60,69,96,99).

As fitohemaglutininas são glicoproteínas homogêneas de peso molecular de cerca de 120.000 e ponto isoelétrico ao redor de 6,9^(1,75). EVANS e cols.⁽²⁶⁾ observaram que uma das frações isoladas do feijão está composta de duas proteínas de peso molecular semelhante. Pode ser que uma das proteínas seja responsável pela inibição do crescimento dos animais e outra pela atividade estimulante dos linfócitos. Outra possibilidade observada, neste experimento, é que esta fração seja um dímero composto de dois monômeros similares, que se dissociam em duas partes em pH 4,0.

Vários pesquisadores^(43,69) asseguram que existem nos feijões de diferentes variedades, fitohemaglutininas muito tóxicas e outras de pouca ou nenhuma toxicidade.

Estas observações foram confirmadas por MANCINI⁽⁵⁴⁾ em experimentos realizados em diferentes variedades de feijões brasileiros demonstrando a presença de teores variáveis de hemaglutininas. Este pesquisador concluiu, por meio de seus resultados, que a capacidade hemaglutinante dessas variedades depende do tipo de hemácia empregada.

As fitohemaglutininas dos feijões "black bean" e "kidney bean" quando adicionadas à dieta basal, em níveis baixos (como 0,5%), inibem o crescimento de ratos, causando até 100% da mortalidade após duas semanas⁽⁶⁰⁾.

Pesquisas efetuadas, indicam que a ingestão de feijão cru e de soluções de frações extraídas desta leguminosa, reduz a absorção no intestino delgado, razão pela qual supõem-se tratar de uma inibição não específica na absorção intestinal, fato que explica a toxicidade oral dos feijões^(44,46).

A atividade hemaglutinante, pode ser devida a uma reação entre as aglutininas com alguns grupos receptores da superfície das membranas dos eritrócitos. A toxicidade oral talvez seja causada por combinações com grupos receptores da superfície das células da mucosa gástrica, da mesma maneira como se combinam com os eritrócitos⁽⁴²⁾.

A toxicidade parenteral da aglutinina do feijão é similar à da soja, entretanto a toxicidade oral é maior⁽⁴⁶⁾.

CONTRERAS e TAGLE⁽¹⁹⁾ asseguram que existe pouca informação sobre o mecanismo de ação das fitohemaglutininas no organismo.

Segundo vários pesquisadores^(45,60,69) a toxicidade destas hemaglutininas pode ser destruída pelo tratamento térmico. A mortalidade dos animais de experimentação é nula quando os feijões são submetidos ao aquecimento a 110°C durante 30 minutos, previamente embebidos em água.

Interessante é a observação de que a concentração de feijão na dieta é mais importante no desenvolvimento da toxicidade que a ingestão total do feijão⁽³⁸⁾.

As demonstrações de que as hemaglutininas das leguminosas são tóxicas quando administradas a animais de experimentação, confirmam sua importância nas implicações no campo da nutrição humana⁽³⁹⁾.

Existe uma teoria antiga, referindo-se à possibilidade de que certos constituintes da dieta, poderiam contribuir no desenvolvimento do bócio. Não obstante a aceitação médica desta teoria tenha variado em diferentes períodos, este conceito de base nutricional ainda persiste. Apesar da deficiência de iodo ser bem estabelecida como um fator etiológico de bócio endêmico, parece que outros agentes também podem ser responsáveis^(33,34,35).

Estes autores sugerem que os tiocinatos que se encontram em grandes quantidades nas sementes do gênero Brassica, poderiam ser os agentes responsáveis pelo bócio, desde que foi estabelecido que os tiocinatos atuam quase que exclusivamente inibindo a concentração do iodo inorgânico na tireóide.

Um composto antitireoídico de potência equivalente à do tiouracil tem sido isolado do nabo e repolho. Esta substância foi provada ser L-5-vinil-1-2-tiooxazolidona⁽⁶⁾.

A ação bociogênica do amendoim é devida a seus glicosídeos, que competem com a tiroxina na captação do iodo elementar, formando no sítio glandular, derivados estáveis desse halogênio. A incorporação do iodo na dieta contorna parcialmente a ação bociogênica dos pigmentos antociânicos encontrados no amendoim^(70,71).

Mc CARRISON⁽⁶³⁾, em seus estudos, pode verificar que a soja crua contém propriedades bociogênicas, e que a hipertrofia da tireóide ocorria, mesmo após ingestão de maiores quantidades de iodo.

Embora a falta de iodo seja a principal causa do bócio, os produtos de soja que contém grandes quantidades desse halogênio produz hipertrofia e murchanças hipertróficas na tireóide de crianças, galinhas, ratos e suínos, nenhum efeito deletério foi observado no crescimento de galinhas^(94,102).

Entretanto SCHINGOETHE e cols.⁽⁸⁹⁾ sugerem que os fatores bociogênicos podem diminuir o crescimento dos animais, ainda que esta evidência seja limitada.

De acordo com KONIJN e cols.⁽⁵⁵⁾ o fator bociogênico parece ser oligopetídeo ou um glicopetídeo de peso molecular baixo, composto por um ou dois aminoácidos e de uma molécula de açúcar. Este fator quando adicionado a dietas de ratos diminui a captação de iodo pela tireóide e aumenta a ligação de triiodotironina do soro.

O mecanismo de ação dos fatores bociogênicos ainda não está totalmente esclarecido. O efeito bociogênico da soja pode estar relacionado com alteração na absorção intestinal⁽⁶¹⁾.

VAN WIK e cols.⁽¹⁰¹⁾ revelaram que a soja não interfere com a absorção de iodo, captação de iodo pela tireóide, oxidação de iodeto a iodo, afirmando que o agente bociogênico presente nas leguminosas, interfere com a síntese de hormônio da tireóide somente em indivíduos susceptíveis, mesmo quando estes ingerem quantidades adequadas do halogênio.

Em trabalhos por nós realizados⁽⁸¹⁾ anteriormente, procuramos analisar a captação de ^{125}I pela glândula tireóide de ratos alimentados com dietas cuja fonte protéica era soja ou caseína. Verificamos que os animais alimentados com dieta a base de soja apresentaram uma captação significativamente menor de que aqueles alimentados com caseína, o que vem confirmar que a soja parece ter realmente substâncias capazes de inibir a utilização do iodo pela glândula tireóide.

Há discrepâncias na literatura a respeito do controle do bócio por administração de iodo. Alguns dados demonstram que somente a deficiência de iodo não é causa primária de bócio. Numerosos exames, demonstraram que a ação bociogênica das leguminosas não é dependente de seu conteúdo de iodo⁽⁹⁰⁾.

Conforme KONIJN e cols.⁽⁵⁵⁾ o efeito bociogênico, provavelmente, não resulta da deficiência de iodo somente, desde que o aumento do nível dietético da farinha de soja, aumenta o nível de iodo disponível, agravando esta condição antes que melhorá-la.

HALVERSON e cols.⁽³⁶⁾ contudo afirmam que as propriedades bociogênicas das leguminosas não são importantes na nutrição animal, desde que pequenas quantidades de iodo podem prevenir a hipertrofia, por conseguinte, nenhum efeito danoso poderia resultar do uso de leguminosas nas dietas.

Os fatores bociogênicos das leguminosas podem ser extraídos com solventes orgânicos e destruídos parcialmente pelo calor^(36,90,101).

Além dos compostos antinutricionais das leguminosas, existem outros fatores principais que determinam o valor nutritivo do alimento como fonte protéica. Assim sendo, temos:

- 1) conteúdo de proteína na relação aos sólidos totais;
- 2) composição dos aminoácidos essenciais e a utilização destes aminoácidos para o anabolismo protéico^(53,67).

O conteúdo protéico dos alimentos não é um bom índice de avaliação nutricional. Os aminoácidos são importantes na avaliação nutricional das proteínas, dependendo emplemente, mas não inteiramente, das proporções existentes entre eles⁽⁶⁸⁾.

A maioria das leguminosas contém alto nível de proteína, mas devido ao baixo nível de

metionina, um importante aminoácido sulfurado, seus valores nutricionais são limitados. A adição deste aminoácido nas dietas de leguminosas aumenta consideravelmente seu valor nutritivo^(53,61,65,84).

O baixo valor biológico das proteínas das leguminosas também pode ser atribuído à reduzida digestibilidade e absorção de aminoácidos. Pode ser que a metionina presente nesse produto não seja suficientemente utilizada devido aos fatores antitripticos nele encontrado^(38,67,74).

Sabe-se que os lípidos se acumulam no fígado de animais alimentados com dietas deficientes em metionina e também por ingestão de alguns alimentos⁽¹⁰⁴⁾.

Conforme AOYAMA e cols.⁽⁴⁾ um dos maiores fatores determinantes do nível de lípidos no fígado seria o conteúdo de aminoácidos sulfurados na dieta.

Trabalhando com ácido oléico marcado com ¹²⁵I adicionado à dieta contendo soja e caseína, podemos verificar que aqueles animais alimentados com soja apresentavam no fígado uma radioatividade significativamente mais elevada que os alimentados com dieta a base de caseína, o que nos levou a concluir que a dieta a base de soja promove um acúmulo de ácidos graxos ao nível de liposoma hepático devido ao baixo teor de metionina⁽⁸¹⁾.

O aumento de lípidos no fígado de animais experimentais, devido à deficiência de metionina, lisina ou treonina da dieta, pode ser atribuído à diminuição no transporte de lípidos neutros⁽¹⁷⁾.

A ação lipotrópica da metionina se deve ao fato de ser um agente metilante ativo na síntese de acetilcolina⁽⁹⁸⁾.

De acordo com WILLIAN e HURLEBANS⁽¹⁰³⁾, em certas condições, a metionina é lipotrópica. Este aminoácido, quando incluído em dietas isentas de proteínas, é marcadamente antilipotrópico com respeito a lípidos neutros e colesterol.

A causa de fígado gorduroso, devida a suplementação de metionina às dietas não protéicas, não está claro. Entretanto, parece que a inibição de transporte de lipoproteína do fígado ao plasma seja a principal razão. Geralmente o aumento de lípidos no fígado é atribuído a:

- 1) aumento da síntese de lípidos;
- 2) diminuição de oxidação de lípidos;
- 3) aumento de transporte de lípidos de tecidos extrahepáticos ao fígado;
- 4) diminuição de transporte de lípidos do fígado aos tecidos extrahepáticos⁽⁴⁰⁾.

3 – PROPOSIÇÃO

Pelo exposto, os propósitos deste trabalho são:

- 3.1 – Verificar se o aquecimento do feijão, de modo e tempos diferentes, provoca destruição dos fatores tóxicos, melhorando seu valor biológico.
- 3.2 – Verificar se a deficiência de metionina no feijão influi ou não no crescimento dos animais.
- 3.3 – Verificar a influência do feijão suplementado ou não com metionina, na deposição de gorduras no fígado, analisados pela determinação da radioatividade do ácido oléico ¹²⁵I.

3.4 – Verificar a influência das dietas de feijão, com e sem suplementação de metionina na captação de iodo pela glândula tireóide.

4 – PLANO DE TRABALHO

Dados os objetivos do presente trabalho, estabeleceu-se o seguinte plano de trabalho: 78 ratos, pesando de 35 a 45 gramas foram divididos em 13 grupos contendo cada um seis animais, mantidos em gaiolas metabólicas durante quatro semanas.

O primeiro grupo (controle 1) recebeu ração nutricionalmente adequada tendo como fonte protéica a caseína, e adicionando-se à mesma ácido oléico marcado com ^{125}I .

Os outros grupos foram similares ao grupo 1, porém, a fonte protéica utilizada foi o feijão submetido a dois modos de cocção, utilizando-se:

- a) panela comum
- b) autoclave a 120°C e 1,5 atm. de pressão.

Para cada modo de cocção foram estabelecidos três tempos diferentes, e para cada um destes tempos estudou-se o efeito da adição de metionina.

Durante o período experimental foram coletadas fezes e urinas, e fez-se o controle de consumo de ração e de peso dos animais. Após 28 dias de experiência, os animais foram deixados em jejum por um período de 18 horas, aproximadamente, e posteriormente sacrificados. A radioatividade foi medida nas fezes, urina, tireóide, fígado e carcaça.

A radioatividade foi também determinada nas gorduras extraídas das fezes e da carcaça.

Os resultados obtidos com base nos 12 grupos experimentais foram cotejados com aqueles obtidos com o grupo controle (Grupo 1) de maneira a avaliar as rações administradas, e suas influências no crescimento dos animais e distribuição dos lípidos no organismo.

5 – MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 – Materiais

5.1.1 – Animais

Utilizamos em nosso trabalho 78 ratos (*Rattus norvegicus* variedade *Albinus*) linhagem Wistar, machos, recém desmamados, pesando de 35 a 45 gramas, obtidos de colônias mantidas no biotério do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

Estes animais foram divididos em 13 grupos experimentais, cada grupo com seis animais, e mantidos em gaiolas metabólicas individuais durante quatro semanas, recebendo rações contendo 10% de proteína. A ração e a água foram fornecidos "ad-libitum". Diariamente a urina e as fezes foram coletadas e o consumo de ração foi determinado. Uma vez por semana foi registrado o peso corporal.

5.1.2 – Ração

O primeiro grupo (Controle 1) recebeu como fonte proteica caseína e os outros grupos receberam dietas de feijão mulatinho (*Phaseolus vulgaris*).

Apresentamos a seguir o tratamento realizado com o feijão.

Quadro I

Dietas	Tempo de cocção (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	
Caseína (controle)	—	—	1	
Feijão autoclavado 120°C e 1,5 atm de pressão	30	—	2	
		sim	3	
	45	—	4	
		sim	5	
	60	—	6	
		sim	7	
	Feijão cozido em panela comum	60	—	8
			sim	9
120		—	10	
		sim	11	
180	—	12		
	sim	13		

a) Composição da ração

As rações fornecidas tiveram a seguinte composição:

Proteína ^(*)	10%
Sacarose	10%
Sabugo	4%
Mistura salina	4%
Mistura vitamínica ^(**)	1%
Ácido linoleico + ácido oléico ¹²⁵ I	8%
Amido q.s.p.	100%

A mistura salina utilizada foi a de FOX e BRIGGS⁽³⁰⁾.

b) Preparo da ração

Os feijões cozidos como descrito em 5.1.2 foram secos em estufa ventilada a 55°C e pulverizados. Com a mistura dos vários componentes das rações, preparamos um granulado vermicular que foi dessecado a 45°C em estufa ventilada⁽⁵⁸⁾.

5.2 – Métodos

5.2.1 – Químicos

a) O ácido oléico marcado com ¹²⁵I preparado segundo a técnica utilizada no Centro de Processamento de Material Radioativo do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares⁽⁸⁰⁾.

Para a marcação do ácido oléico, escolhemos o ¹²⁵I de preferência aos ¹³¹I (T_{1/2} = 8 dias e E = 360 KeV) por apresentar uma meia-vida (60 dias) compatível com o trabalho proposto e baixa energia (36 Kev).

Como o nosso trabalho teve um período experimental de quatro semanas, e além disso, pelo menos mais 12 semanas seriam necessárias para o desenvolvimento dos métodos de medida, optou-se pelo isótopo de meia-vida mais longa ou seja, o ¹²⁵I.

b) Determinação da fração lipídica

A determinação da fração lipídica foi realizada pelo processo de extração contínua em aparelho de Soxhlet, usando-se como solvente o éter etílico anidro.

c) Determinação do nitrogênio total

Para determinação do nitrogênio total foi empregado o método de micro-Kjeldahl⁽⁶⁾.

(*) Foi utilizada como fonte proteica a caseína ou o feijão.

(**) Padronizado no Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental de FCF da USP.

5.2.2 – Físicos

a) Determinação da radioatividade da ração

A radioatividade da ração, foi determinada após homogeneização da mesma. Alíquotas de peso conhecido foram contadas em detetor de cintilação do tipo cristal de poço de iodeto de sódio ativado com tálio (Automatic gama counting Systems Nuclear Chicago Corporation), e a radioatividade total expressa em relação ao peso total da ração.

b) Determinação da radioatividade dos órgãos e excretas dos animais

Inicialmente as amostras foram pesadas, e a radioatividade do ^{125}I foi determinada por meio do detetor de cintilação.

Em todos os experimentos foram utilizados como padrão, amostras das respectivas rações administradas. Os tempos de contagens variaram conforme a sua radioatividade, de 1 a 20 minutos.

5.2.3 – Biológicos

a) Avaliação do valor biológico das rações (C.E.A.)

A avaliação do valor biológico das rações foi obtida por meio do coeficiente de eficácia alimentar (C.E.A.) que é a relação entre o ganho de peso do animal por grama de ração ingerida.

b) Avaliação do coeficiente de eficácia protéica (C.E.P.)

O coeficiente de eficácia protéica (C.E.P.) foi calculado pela relação entre o ganho de peso do animal por grama de proteína ingerida.

c) Determinação da radioatividade das fezes

Inicialmente as fezes foram secas, pesadas e homogenizadas, posteriormente realizamos a contagem da radioatividade das mesmas como em 5.2.2.b, e logo procedemos a extração dos lípidos como descrito em 5.2.1.b.

No material seco e desengordurado como também na fração éter solúvel, procedemos a determinação da radioatividade.

Os dados obtidos foram transformados em percentagens em relação a radioatividade ingerida.

d) Determinação da radioatividade da urina

A radioatividade da urina foi determinada como descrito em 5.2.2.b, tomando-se alíquotas de 1,0 ml, e a radioatividade total foi expressa em relação ao volume total de urina eliminada durante o período experimental. Posteriormente os dados foram transformados em percentagens em relação a radioatividade absorvida.

e) Balanço do ^{125}I

A partir dos dados obtidos por meio da ingestão de radioatividade e eliminação pelas fezes, obtivemos a radioatividade absorvida, e a partir desta e eliminação urinária, determinamos o retido.

f) Determinação da captação do ^{125}I pelo fígado

Após o sacrifício dos animais, o fígado foi removido, lavado em solução fisiológica, seco, pesado, e a radioatividade medida como em 5.2.2.b. Posteriormente o peso do órgão e a radioatividade do mesmo foram calculados para 100 gramas de peso corporal. Calculou-se além disso a percentagem da radioatividade retida no fígado em relação a radioatividade absorvida.

g) Determinação da captação de ^{125}I pela tireóide

Após o sacrifício do animal e ablação da glândula tireóide procedemos a determinação do peso e da radioatividade como preconizado em 5.2.2.b. Efetuou-se para a tireóide os mesmo cálculos como descritos em 5.2.3.f.

h) Determinação da radioatividade retida na carcaça

Inicialmente as carcaças foram pesadas, secas e desengorduradas, pulverizadas para em seguida realizar medidas da radioatividade.

Procedemos a extração dos lípides como descrito em 5.2.1.b. No material seco e desengordurado, como também na fração éter solúvel, procedemos à determinação da radioatividade como descrita em 5.2.2.b.

A percentagem da radioatividade dos lípides extraídos da carcaça foi calculada por meio da radioatividade total da mesma.

5.2.4 – Estatísticos

Para o cálculo estatístico dos dados foi analisada cada variável separadamente.

O mesmo tipo de análises foi adotado para cada uma das variáveis. Estes dados foram transformados, "ab initio", quando se tratava de proporções.

A análise consistiu de:

a) Ajustar os modelos lineares:

$$a.1. Y_{ij} = \mu + (\text{grupo})_i + (\text{réplica})_j + e_{ij}$$

$$i = 1, \dots, 13 \text{ (12 grupos experimentais e 1 grupo controle)}$$

$$j = 1, \dots, 6$$

$$a.2. Y_{ijkl} = \mu + (\text{metionina})_i + (\text{modo de cocção})_j + (\text{metionina} \times \text{modo de cocção})_{ij} + \\ + \text{tempo} (\text{modo de cocção})_{jk} + \text{metionina} \times \text{tempo} (\text{modo de cocção})_{ijk} + \\ + (\text{réplica})_{ijkl}$$

- b) Todas as hipóteses necessárias ao ajuste por mínimos quadrados dos modelos acima (homocedasticidade dos resíduos, independência) foram verificados por meio de gráficos de resíduos x variável ajustado a gráfico probabilístico dos resíduos.
- c) Quando necessária, a transformação dos dados e/ou eliminação de valores aberrantes foram feitas com o intuito de obter resíduos homogêneos.
- d) Pelo teste de DUCAN⁽²⁷⁾ fizeram-se comparações múltiplas a fim de verificar-se os grupos não significantemente diferentes, no caso do modelo a.1 não ser rejeitado. No caso do modelo b.1 não ser rejeitado, realizaram-se as comparações múltiplas para os fatores não significantes.
- e) Cálculos

Os cálculos e demais manuseio dos dados foram realizados pelo Statistical Analysis Systems (SAS), em computador IBM/370-155.

6 – ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Sabemos, conforme exposto na revisão da literatura, que os feijões são tóxicos para animais de experimentação quando ingerido cru; esse efeito foi demonstrado pela perda de peso e morte desses animais. Esta toxicidade é atribuída à presença de fatores tóxicos nas leguminosas, entretanto o alimento autoclavado previne a morte dos animais, porém, os mesmos crescem menos e em alguns casos perdem peso. Mas, quando o feijão é embebido em água antes de ser submetido ao calor e adicionado de metionina promove um crescimento normal equivalente ao obtido com a caseína⁽³⁹⁾.

Outros investigadores como CONTRERAS e TAGLE⁽¹⁹⁾ sugerem que a embebição das leguminosas em água, como único tratamento, não afeta a atividade tóxica e como pré-tratamento interferem muito pouco na eliminação dos fatores tóxicos.

MORA⁽⁶⁹⁾ conclui por meio de experimentos, que a mortalidade dos animais é nula quando o feijão previamente embebido em água é submetido ao aquecimento de 110°C durante 30 minutos; verificou também que a dieta constituída de feijão cru suplementada com metionina, não diminui a mortalidade dos ratos nem melhora o aumento do peso corporal, quando comparado com animais alimentados com dieta de feijão cozido, usados como controle.

Entretanto, JAFFÉ⁽⁴²⁾ afirma que o valor alimentício de uma leguminosa crua, melhora muito mais pela suplementação com metionina que pelo aquecimento.

Segundo GALLARDO e cols.⁽³²⁾ os fatores tóxicos das leguminosas são eliminados, quase que totalmente, em todos os tratamentos com calor úmido, independente se for panela comum ou autoclave. A prévia embebição em água não tem influência no tratamento, afirmando bastar o calor úmido para destruir estes fatores.

A divergência que existe entre os vários pesquisadores sobre a anulação da toxicidade das leguminosas pelo aquecimento, mostra a importância em conhecer as condições adequadas deste para assegurar a inativação dos fatores tóxicos.

Os dados referentes a média do peso inicial (g), peso final (g) e a média de peso (g) dos animais alimentados com dietas que receberam diversos tratamentos térmicos, estão na Tabela I.

Analisando os resultados apresentados na Tabela I, verificamos que o peso final dos grupos de animais alimentados com feijão aquecido em autoclave a 120° durante 80 minutos (Grupo 7) e

Tabela I
Efeito das Diversas Dietas Experimentais no Crescimento dos Animais

Dietas	Tempo de cocção (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Peso ganho (g)
Caseína (controle)	—	—	1	45,25 ± 0,60	130,30 ± 4,30	85,00 ± 4,10
		—	2	35,95 ± 0,90	64,67 ± 2,17	28,75 ± 1,90
Feijão autoclavado a 120°C e 1,5 atm de pressão	30	—	2	35,95 ± 0,90	64,67 ± 2,17	28,75 ± 1,90
		sim	3	37,92 ± 0,50	90,67 ± 9,75	52,67 ± 9,30
	45	—	4	44,25 ± 1,00	72,41 ± 2,17	28,17 ± 2,40
		sim	5	39,58 ± 0,75	107,75 ± 8,00	68,17 ± 8,00
	60	—	6	43,17 ± 0,90	69,42 ± 1,42	26,25 ± 1,25
		sim	7	45,75 ± 0,58	124,50 ± 5,58	78,75 ± 5,75
Feijão cozido em panela comum	60	—	8	42,67 ± 0,66	81,17 ± 4,80	38,42 ± 4,75
		sim	9	40,92 ± 0,90	114,25 ± 8,20	73,33 ± 8,66
	120	—	10	43,83 ± 1,00	70,75 ± 5,00	26,92 ± 4,00
		sim	11	42,30 ± 1,50	123,00 ± 9,30	80,67 ± 7,75
	180	—	12	47,17 ± 1,00	68,17 ± 2,80	26,50 ± 2,17
		sim	13	40,83 ± 1,00	110,50 ± 8,00	69,67 ± 5,00

aquecido em panela comum por 60, 120 ou 180 minutos (Grupos 9, 11, 13) suplementados com metionina, não é diferente dos resultados obtidos com os do grupo controle (Grupo 1).

Os resultados dos grupos de animais alimentados com feijão autoclavado por 30 ou 45 minutos, suplementados com metionina (Grupos 3 e 5) foram ligeiramente inferiores aos do grupo controle, enquanto que os dos animais que não receberam suplementação (Grupos 2, 4, 6, 8, 10 e 12) foram inferiores.

O ganho de peso dos animais que receberam dietas suplementadas com metionina foi similar ao do grupo controle, e o dos animais que receberam dieta sem suplementação mostrou-se inferior.

Quando se compara o crescimento dos grupos de animais alimentados com feijão aquecido em panela comum com aqueles alimentados com feijão autoclavado, observou-se que os primeiros tiveram os pesos finais e ganhos de pesos ligeiramente superiores aos dos últimos.

O grupo de animais que recebeu feijão cozido em panela comum durante 60 minutos sem suplementação de metionina (Grupo 8), teve o peso final e ganho de peso ligeiramente superior ao dos outros grupos não suplementados (Grupos 2, 4, 6, 8, 10 e 12).

Pelo tratamento estatístico sobre estas variáveis verificou-se que os fatores: metionina, modo e tempo de cocção, tiveram influência no crescimento dos animais, este fato pode ser observado na Tabela II e III.

Os nossos resultados estão de acordo com aqueles obtidos por JAFFÉ e MORA^(42,69), uma vez que estes pesquisadores trabalhando de maneira similar à nossa, obtiveram também resultados semelhantes.

Com o intuito de melhor verificarmos o aproveitamento biológico das diferentes dietas, utilizadas no presente trabalho, procuramos determinar o CEA e CEP (coeficiente de eficácia alimentar e coeficiente de eficácia protéica) como descrito em materiais e métodos. Os nossos resultados acham-se na Tabela IV.

A análise dos resultados expostos na Tabela IV mostra que o coeficiente de eficácia alimentar dos grupos de animais alimentados com dietas de feijão cozido em autoclave por 30, 45 e 60 minutos, suplementado com 0,3% de metionina (Grupos 3, 5 e 7), e dos grupos alimentados com feijão cozido em panela comum por 60, 120 e 180 minutos com suplementação de metionina (Grupos 9, 11 e 13), foi inferior quando comparado ao do controle e superior quando comparado ao dos grupos não suplementados (Grupos 2, 4, 6, 8, 10 e 12).

Não se observaram diferenças significantes entre os coeficientes de eficácia alimentar dos grupos que receberam dietas de feijão cozido em panela comum e dos grupos que receberam feijão autoclavado.

A ação da metionina revelou-se altamente significativa no C.E.A como podemos observar nas Tabelas V e VI.

A análise realizada sobre os valores do coeficiente de eficácia protéica revelou o mesmo comportamento do coeficiente de eficácia alimentar, isto é, o coeficiente de eficácia protéica do grupo controle, foi superior aos dos grupos experimentais alimentados com feijão cozido em autoclave ou panela comum, suplementados com metionina (Grupos 3, 5, 7, 9, 11 e 13), e muito superior aos dos grupos não suplementados (Grupos 2, 4, 6, 8, 10 e 12). Ao mesmo tempo, não se observou diferença do CEP dos grupos alimentados com feijão autoclavados e cozido em panela comum.

Embora os grupos que mostraram valores menores do CEP foram os Grupos 7 e 13 (animais alimentados com feijão autoclavado durante 60 e 180 minutos com adição de metionina), estes valores não foram estatisticamente diferentes dos outros suplementados (vide Tabela VII e VIII).

Tabela II

Comparação Estatística do Peso Final e Ganho de Peso entre os Grupos Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
Peso final	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
Grupo 1 x Grupo 13	N.S	
Ganho de peso	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
Grupo 1 x Grupo 13	N.S	

N.S = não significativamente diferentes ao nível de 5%

S = significativamente diferentes ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não, diferentes do grupo controle(1), não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela III

Resultados Estatísticos de Influência dos Fatores: Metionina, Modo e Tempo de Cocção no Peso final e Ganho de Peso dos Animais

Variável	Fator	N.S.F. (%)
Peso final	Metionina	0,01
	Modo de cocção	5,00
	Metionina x Modo de cocção	63,88 N.S
	Tempo (modo de cocção)	0,10
	Metionina x Tempo (M. de cocção)	8,34 N.S
Ganho de peso	Metionina	0,01
	Modo de cocção	7,98 N.S
	Metionina x Modo de cocção	48,38 N.S
	Tempo (modo de cocção)	14,85 N.S
	Metionina x Tempo (M. de cocção)	2,50

N.S.F = nível de significância de Fisher

N.S. = não significativamente diferentes

Tabela IV

Resultados dos Coeficientes de Eficácia Alimentar (CEA)* e Proteica (CEP)** Obtidos com os Diferentes Grupos Experimentais

Dietas	Tempo de coção (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Ganho de peso (g)	Alimento ingerido (g)	Radioatividade do alimento ingerido (C.P.M.)***	Proteína ingerida (g)	C.E.A	C.E.P
Caséina (controle)	—	—	1	85,00 ± 4,10	245,25 ± 11,00	27.741.944 ± 1.244.287	24,99 ± 1,12	0,340 ± 0,010	3,41 ± 0,13
Feijão autoclavado a 120° e 1,5 atm de pressão	30	—	2	28,75 ± 1,90	191,75 ± 10,58	20.305.450 ± 1.116.065	19,94 ± 1,10	0,150 ± 0,007	1,44 ± 0,08
		sim	3	52,67 ± 9,30	207,50 ± 31,80	22.467.685 ± 3.437.826	21,36 ± 3,26	0,250 ± 0,030	2,45 ± 0,27
	45	—	4	28,17 ± 2,40	237,25 ± 10,33	21.570.543 ± 947.484	23,91 ± 0,78	0,120 ± 0,005	1,17 ± 0,05
		sim	5	68,17 ± 8,00	230,75 ± 16,80	25.755.161 ± 1.878.852	23,63 ± 1,73	0,290 ± 0,020	2,84 ± 0,23
	60	—	6	26,25 ± 1,25	186,00 ± 18,33	18.288.821 ± 1.802.662	19,53 ± 1,92	0,150 ± 0,016	1,40 ± 0,15
		sim	7	78,75 ± 5,75	292,17 ± 11,66	28.191.161 ± 1.125.717	30,40 ± 1,20	0,260 ± 0,010	2,58 ± 0,09

continua ...

continuação

20

Dietas	Tempo de cocção (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Ganho de peso (g)	Alimento ingerido (g)	Radioatividade do alimento ingerido (C.P.M.)***	Proteína ingerida (g)	C.E.A	C.E.P
Feijão cozido em panela comum	60	-	8	38,42 ± 4,75	234,92 ± 13,66	21.708.179 ± 1.270.610	23,72 ± 1,38	0,160 ± 0,010	1,60 ± 0,10
		sim	9	73,33 ± 8,66	275,42 ± 13,00	27.429.847 ± 1.294.722	28,36 ± 1,34	0,260 ± 0,020	2,52 ± 0,20
	120	-	10	26,92 ± 4,00	202,58 ± 16,00	22.357.299 ± 1.765.776	20,46 ± 1,61	0,130 ± 0,010	1,30 ± 0,11
		sim	11	80,67 ± 7,75	284,25 ± 26,00	30.992.855 ± 2.730.173	28,98 ± 2,66	0,280 ± 0,005	2,78 ± 0,05
	180	-	12	26,50 ± 2,17	190,55 ± 10,50	22.277.451 ± 1.227.891	19,81 ± 1,09	0,140 ± 0,005	1,33 ± 0,05
		sim	13	69,67 ± 5,00	254,25 ± 21,17	42.747.815 ± 3.558.815	26,94 ± 2,73	0,270 ± 0,010	2,61 ± 0,14

$$*CEA = \frac{\text{ganho de peso}}{\text{alimento ingerido}}$$

$$**CEP = \frac{\text{ganho de peso}}{\text{proteína ingerida}}$$

$$***CPM = \text{contagem por minuto}$$

Tabela V

Comparação Estatística do Alimento ingerido e C.E.A. entre os Grupos Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
Alimento ingerido	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 4	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 8	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 10	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 12	S
	Grupo 1 x Grupo 13	N.S.
	C.E.A	Grupo 1 x Grupo 2
Grupo 1 x Grupo 3		S
Grupo 1 x Grupo 4		S
Grupo 1 x Grupo 5		S
Grupo 1 x Grupo 6		S
Grupo 1 x Grupo 7		S
Grupo 1 x Grupo 8		S
Grupo 1 x Grupo 9		S
Grupo 1 x Grupo 10		S
Grupo 1 x Grupo 11		S
Grupo 1 x Grupo 12		S
Grupo 1 x Grupo 13		S

N.S. = não significativamente diferentes ao nível de 5%

S = significativamente diferentes ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não, diferentes do grupo controle (1), não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela VI

Resultados Estatísticos da Influência dos Fatores: Metionina, Modo e Tempo de Cocção no Alimento Ingerido e C.E.A.

Variável	Fator	N.S.F (%)
Alimento ingerido	Metionina	0,01
	Modo de cocção	9,65 N.S
	Metionina x Modo de cocção	24,50 N.S
	Tempo (modo de cocção)	5,00
	Metionina x Tempo (M de cocção)	1,00
C.E.A.	Metionina	0,01
	Modo de cocção	57,96 N.S
	Metionina x Modo de cocção	71,28 N.S
	Tempo (modo de cocção)	63,21 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	8,09 N.S

N.S.F = nível de significância de Fisher

N.S = não significantemente diferentes

Tabela VII
Comparação Estatística do C.E.P, entre os Grupos
Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
C.E.P	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
	Grupo 1 x Grupo 13	S

S = significativamente diferentes ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não diferentes do grupo controle (1), não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela VIII
Resultados Estatísticos da Influência dos Fatores Metionina,
Modo e Tempo de Cocção no C.E.P.

Variável	Fator	N.S.F (%)
C.E.P	Metionina	0,01
	Modo de cocção	59,22 N.S
	Metionina x Modo de cocção	53,10 N.S
	Tempo (modo de cocção)	51,14 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	7,34 N.S

N.S.F = nível de significância de Fisher

N.S = não significativamente diferentes

BORCHERS e ACKERSON⁽¹²⁾ e LIENER⁽⁶⁹⁾ estudando o valor nutritivo de várias sementes de leguminosas observaram que algumas dessas sementes melhoram os seus valores nutritivos após autoclavagem, como foi julgado pelo crescimento dos animais alimentados com leguminosas como única fonte protéica, ao nível de 12%, enquanto que outras leguminosas não tiveram aumento do valor nutritivo, concluindo que não existe correlação entre o aumento do valor nutritivo após autoclavagem e a presença ou ausência de fatores tóxicos nas leguminosas cruas.

Vários investigadores^(73,83) afirmam que ratos alimentados com farinha de soja aquecida mostram melhor crescimento e menor pâncreas que ratos alimentados com o alimento cru.

Este fato também foi visualizado por FOLSCH e cols.⁽²⁸⁾, concluindo de seus estudos que os animais ganham peso de 2,5 vezes mais em um período de 20 dias.

Quando animais experimentais são alimentados com dietas de feijão como única fonte protéica, observa-se menor ingestão de alimento e diminuição de ganho de peso⁽³¹⁾.

KAKADE e EVANS^(49,50) observaram que ratos alimentados com feijão cru perdem peso, consomem menos alimento e morrem num período experimental de 28 dias. Por outro lado, ratos alimentados com feijão autoclavado por 5 minutos, ganham peso e se observa considerável aumento de ingestão de alimento. Entretanto, valores menores do CEP para ratos alimentados com dietas autoclavadas por mais de 5 minutos indicaram efeito adverso do tratamento do calor no valor nutritivo do feijão. É possível que estes valores do CEP sejam devidos à destruição ou inativação dos aminoácidos essenciais.

Estes autores sugerem que a autoclavagem do feijão por 5 minutos destrói 80% da atividade inibidora do crescimento e 100% da atividade de hemaglutinina. Destes resultados pode-se concluir que o baixo valor nutritivo do feijão cru pode ser devido à presença de tripsina e hemaglutininas termolábeis.

Ainda estes investigadores afirmam que o ganho de peso e a ingestão de alimentos diminuem quando o nível de feijão aumenta na dieta. Ratos alimentados com feijão cru ao nível de 20% de proteína morrem nos primeiros 5 a 10 dias do experimento, o que está completamente de acordo com a hipótese de que o efeito do fator ou fatores tóxicos poderia aumentar com o nível de ingestão de alimentos.

A inibição do crescimento de ratos alimentados com feijão cru, pode ser em parte resultado de menor ingestão de alimento, aumento da perda de nitrogênio endógeno e diminuição da absorção de aminoácidos⁽⁴⁸⁾.

Outros estudos demonstram que a diminuição do crescimento pode ser devida a um pobre balanço de aminoácidos totais ou a uma menor digestibilidade da proteína de feijão, resultando em diminuição da utilização de aminoácidos para o crescimento dos ratos⁽¹⁴⁾.

Ratos alimentados com dietas de feijão autoclavado suplementado com metionina crescem tão bem quanto os ratos alimentados com caseína^(14,50).

Inadequado suprimento de um aminoácido essencial pode ter efeito na síntese de proteína em geral, pois sabemos que dietas deficientes em metionina conduzem a um menor ganho de peso em comparação com animais controle^(2,49).

Suplementação com metionina nas dietas de leguminosas aumenta significativamente o coeficiente de eficácia alimentar, o coeficiente de eficácia protéica, o coeficiente de digestibilidade, e utilização de proteína líquida e valor biológico⁽⁵³⁾.

O aquecimento do feijão pode destruir alguns dos valores nutritivos de suas proteínas. Por outro lado, a adição de 0,2% de metionina à dieta basal aumenta o ganho de peso dos animais

experimentais em mais de 2 vezes e melhora significativamente o C.E.P. quando comparado à dieta basal controle⁽¹⁵⁾.

EVANS e cols.⁽²⁴⁾ indicam que 0,25% de suplementação de metionina é melhor que 0,20%, embora as diferenças não sejam estatisticamente significantes.

Segundo RACKIS⁽⁸⁵⁾, ganho de peso e hipertrofia pancreática dependem da idade dos ratos. Máxima hipertrofia ocorre em ratos de 3 a 4 semanas de idade alimentados com 50% de soja crua. Após a 5ª semana de idade a hipertrofia é mais reduzida. Estes resultados indicam que a hipertrofia pancreática é uma resposta fisiológica, mais sensível em ratos jovens.

Como podemos observar pela presente exposição, diversos autores, acima citados, já haviam obtido resultados semelhantes aos nossos, o que mais uma vez fica demonstrado que o feijão apresenta deficiência de metionina, e que o aquecimento quer em autoclave quer em panela comum nos diferentes períodos por nós estudados não alteram significativamente o aproveitamento biológico das rações.

Em estudo anterior⁽⁸¹⁾, quando trabalhamos com soja, tivemos a oportunidade de estudar a excreção de lípidos através das fezes, e verificamos que os animais alimentados com soja apresentavam um ligeiro aumento nessa excreção, por outro lado, diversos pesquisadores verificaram que quando há uma desnutrição observa-se uma esteatorrêia.

Com o intuito de verificarmos o efeito de nossas dietas nesse parâmetro, determinamos a excreção de lípidos nas fezes.

Os resultados obtidos no presente trabalho acham-se na Tabela IX.

A análise dos dados expressos na Tabela IX mostrou que há diferença significativa entre as médias de percentagem de fezes eliminadas pelos animais que receberam dietas de feijão autoclavado por 30, 45 e 60 minutos e cozidos em panela comum por 60, 120 e 180 minutos, sem adição de metionina (Grupos 2, 4, 6, 8, 10 e 12) e as médias do grupo controle (Grupo 1) e grupos alimentados com feijão cozido em autoclave por 60 minutos e panela comum por 60, 120 e 180 minutos, adicionados de metionina (Grupos 7, 9, 11 e 13). Observaram-se valores superiores nos grupos não suplementados.

Os grupos de animais que receberam dietas de feijão autoclavado por 30 e 45 minutos com adição de metionina (Grupos 3 e 5), mostraram percentagens de fezes eliminadas ligeiramente superiores às dos ratos do grupo controle e às dos outros grupos de ratos suplementados.

Comparando as percentagens de fezes dos grupos de animais suplementados com as dos não suplementados, verificou-se que os primeiros mostraram valores inferiores.

Relacionando percentualmente a eliminação de radioatividade das fezes com a radioatividade ingerida (Tabela IV) e analisando os resultados estatisticamente notou-se que não existe diferença significativa entre as médias dos diferentes grupos de animais e a do controle (ver Tabela X e XI).

Relacionando também percentualmente a quantidade de lípidos eliminados como o ingerido, observou-se que os animais que receberam feijão cozido em autoclave ou panela comum em quaisquer tempos citados, suplementados com metionina (Grupos 3, 5, 7, 9, 11 e 13), mostraram valores não significativamente diferentes aos do grupo controle e significativamente diferentes aos dos grupos de animais não suplementados (Grupos 2, 4, 6, 8, 10 e 12).

Não houve diferença significativa entre os resultados dos grupos alimentados com feijão autoclavado por 30, 45 e 60 minutos e cozido em panela comum por 60, 120 e 180 minutos, suplementados com metionina. Não houve também diferença entre as médias dos grupos não suplementados.

Tabela IX

Quantidade de Fezes e Lípidos Eliminados e sua Radioatividade nos Diversos Grupos Experimentais

Dietas	Tempo de cocção (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Lípidos ingeridas (g)	Fezes eliminadas (g)	% de fezes eliminadas	Radioatividade das fezes (CPM)	% de radioatividade das fezes	Total de lípidos das fezes (g)	% de lípidos das fezes	Radioatividade dos lípidos das fezes (CPM)	% de radioatividade dos lípidos das fezes
Caseína	—	—	1	19,62 ± 0,88	44,58 ± 1,07	18,25 ± 0,36	8.005.805 ± 299.205	29,01 ± 1,28	3,26 ± 0,14	16,63 ± 0,16	3.033.710 ± 203.332	10,93 ± 0,34
Feijão autoclavado a 120°C e 1,5 atm de pressão	30	—	2	15,34 ± 0,85	42,37 ± 1,60	22,19 ± 0,38	5.171.445 ± 287.058	25,79 ± 2,26	2,95 ± 0,18	19,18 ± 0,40	2.463.541 ± 50.133	12,26 ± 0,56
		sim	3	16,60 ± 2,54	41,83 ± 3,83	20,82 ± 1,40	5.608.593 ± 680.869	24,97 ± 1,04	2,70 ± 0,34	16,47 ± 0,42	2.467.161 ± 298.005	11,18 ± 0,53
		—	4	18,82 ± 0,83	49,87 ± 1,43	21,30 ± 0,46	5.330.034 ± 744.967	24,30 ± 2,86	3,46 ± 0,14	18,45 ± 0,35	2.612.468 ± 128.014	12,10 ± 0,38
	45	sim	5	18,46 ± 1,20	45,80 ± 3,20	19,85 ± 0,71	5.799.579 ± 221.092	22,78 ± 0,78	3,11 ± 0,21	16,82 ± 0,16	2.766.222 ± 279.516	10,67 ± 0,44
		—	6	14,88 ± 1,47	39,83 ± 2,88	22,45 ± 3,20	4.867.944 ± 810.151	26,48 ± 3,24	2,81 ± 0,25	18,99 ± 0,37	2.256.716 ± 308.382	12,14 ± 0,64
	60	—	7	23,38 ± 0,93	53,52 ± 1,72	18,32 ± 0,17	6.993.200 ± 931.657	24,49 ± 1,98	3,79 ± 0,06	16,36 ± 0,35	2.992.129 ± 125.977	10,61 ± 0,10

continua ...

continuação

Dietas	Tempo de cozido (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Lípidos ingeridos (g)	Fezes eliminadas (g)	% de fezes eliminadas	Radioatividade das fezes (CPM)	% de radioatividade das fezes	Total de lípidos das fezes (g)	% de lípidos das fezes	Radioatividade dos lípidos das fezes (CPM)	% de radioatividade dos lípidos das fezes
Feijão cozido em panela comum	60	-	8	18,78 ± 1,10	49,92 ± 1,37	21,38 ± 0,68	5.048.006 ± 556.320	23,07 ± 1,48	3,51 ± 0,18	18,76 ± 0,40	2.657.455 ± 166.072	12,26 ± 0,50
		sim	9	22,03 ± 1,05	50,95 ± 1,83	18,60 ± 0,60	7.378.436 ± 1.067.892	26,05 ± 3,13	3,67 ± 0,15	16,70 ± 0,23	2.973.460 ± 192.388	10,80 ± 0,22
	120	-	10	16,22 ± 1,28	44,18 ± 2,90	22,08 ± 1,05	5.638.545 ± 327.102	24,81 ± 2,03	3,05 ± 0,22	18,90 ± 0,46	2.739.766 ± 171.647	12,41 ± 0,43
		sim	11	22,73 ± 2,10	52,85 ± 2,00	19,27 ± 1,42	7.597.101 ± 669.406	25,68 ± 3,15	3,68 ± 0,27	16,28 ± 0,25	3.106.082 ± 163.612	10,60 ± 1,13
	180	-	12	15,25 ± 0,85	39,98 ± 1,78	21,06 ± 0,60	6.683.291 ± 901.106	29,73 ± 3,36	2,88 ± 0,17	18,86 ± 0,30	2.757.474 ± 553.868	12,27 ± 0,65
		sim	13	20,33 ± 1,68	48,35 ± 2,08	19,23 ± 0,74	13.050.723 ± 955.494	30,77 ± 1,52	3,36 ± 1,57	16,58 ± 0,18	4.801.836 ± 494.485	11,25 ± 0,68

Tabela X

Comparação Estatística da % de Fezes e % de Radioatividade das Fezes,
entre os Grupos Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
% de fezes eliminadas	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 6	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 12	S
	Grupo 1 x Grupo 13	N.S.
% de radioatividade das fezes	Grupo 1 x Grupo 2	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 4	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 6	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 8	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 10	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 12	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 13	N.S.

N.S. = não significativamente diferente ao nível de 5%

S = significativamente diferente ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não diferentes do grupo controle (1), não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela XI

Resultados Estatísticos da Influência dos Fatores Metionina, Modo e Tempo de Cocção na
% de Fezes Eliminadas e % de Radioatividade das Fezes

Variável	Fator	N.S.F (%)
% de fezes eliminadas	Metionina	0,01
	Modo de cocção	74,13 N.S
	Metionina x Modo de cocção	30,16 N.S
	Tempo (modo de cocção)	7,11 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	97,66 N.S
% de radioatividade das fezes	Metionina	89,01 N.S
	Modo de cocção	13,94 N.S
	Metionina x Modo de cocção	25,41 N.S
	Tempo (modo de cocção)	13,63 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	96,52 N.S

N.S.F = nível de significância de Fisher

N.S = não significativamente diferentes

Por outro lado, as percentagens de radioatividade dos lípides mostrou um comportamento diferente, somente o Grupo 11 mostrou diferença do grupo controle e dos outros experimentais.

O tratamento estatístico demonstrou que a metionina foi o único fator que teve influência na obtenção destes resultados (Tabelas XII e XIII).

Os resultados, após análise, podem ser interpretados como tendo ocorrido uma esteatorréia nos animais alimentados com dietas sem adição de metionina.

JAFFÉ e cols.⁽⁴⁷⁾ afirmam que existe no feijão um fator que interfere na absorção intestinal normal.

MASEK e HILL^(37,66) asseguram que a má nutrição pode ser causa de diarreia, por exemplo, no "Kwashiorkor", que é uma síndrome nutricional, observa-se mudanças no trato intestinal e no pâncreas, resultando numa dificuldade digestiva, pobre absorção e diarreia, o que confirma nossos resultados.

Sabe-se que as leguminosas contêm fatores que impedem a captação de iodo pela tireóide, e que o iodo não captado pela glândula é excretado pela urina, isto é, em caso de deficiência tireoidiana pois a captação de iodo pela tireóide é reduzida, aumentando por conseguinte a sua excreção urinária.

Na tentativa de obter dados sobre a ação do feijão cozido de formas e tempos diferentes na excreção urinária de iodo pelos ratos alimentados com essas dietas, determinamos a percentagem de eliminação desse excreta e sua radioatividade.

Os resultados obtidos neste experimento são encontrados na Tabela XIV.

Analisando os resultados da Tabela XIV, verificou-se que a quantidade de urina eliminada pelos animais alimentados com feijão cozido em panela comum por 180 minutos e suplementados com metionina (Grupo 13), não foi diferente ao do grupo controle.

Os grupos de ratos que receberam ração de feijão cozido em autoclave por 30, 45 e 60 minutos e em panela comum por 60 e 120 minutos adicionados de metionina (Grupos 3, 5, 7, 9 e 11) apresentaram quantidade de urina eliminada ligeiramente inferior a do controle.

Os grupos acima citados mostraram valores significativamente superiores aos dos grupos de ratos alimentados com feijão autoclavado por 30, 45 e 60 minutos e cozidos em panela comum por 60, 120 e 180 minutos, não suplementados com metionina (Grupos 2, 4, 6, 8, 10 e 12).

Relacionando percentualmente a radioatividade absorvida (radioatividade ingerida – radioatividade eliminada nas fezes) com a excretada na urina, notou-se que os animais suplementados com metionina tiveram maior excreção radioativa, ligeiramente superior a dos animais controle e inferior a dos animais não suplementados.

Os resultados estatísticos dos dados estão nas Tabelas XV e XVI.

Em trabalho anterior, com soja, também constatamos que a excreção de radioatividade pela urina era superior nos animais alimentados com soja quando comparado com a dos animais alimentados com caseína⁽⁸¹⁾.

SRINIVASAN e cols.⁽⁹⁶⁾ estudando o fator bociogênico presente no amendoim, utilizando ratos albinos que receberam iodo radioativo, observaram que a percentagem de radioatividade excretada na urina de 24 horas estava aumentada, revelando assim uma excreção de iodo nesses animais.

Tabela XII

Comparação Estatística de % de Lípidos das Fezes e % de Radioatividade dos Lípidos das Fezes entre os Grupos Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
% de lípidos das fezes	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 12	S
Grupo 1 x Grupo 13	N.S.	
% de radioatividade dos lípidos das fezes	Grupo 1 x Grupo 2	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 4	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 6	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 8	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 10	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 12	N.S.
Grupo 1 x Grupo 13	S	

N.S. = não significativamente diferentes ao nível de 5%

S = significativamente diferentes ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não diferentes do grupo controle (1), não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela XIII

Resultados Estatísticos da Influência dos Fatores Metionina, Modo e Tempo de Cocção na % de Lípides das Fezes e % de Radioatividade dos Lípides das Fezes

Variável	Fator	N.S.F (%)
% de lípides das fezes	Metionina	0,01
	Modo de cocção	88,05 N.S
	Metionina x Modo de cocção	99,19 N.S
	Tempo (modo de cocção)	96,02 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	34,99 N.S
% de radioatividade dos lípides das fezes	Metionina	0,01
	Modo de cocção	50,89 N.S
	Metionina (modo de cocção)	22,65 N.S
	Tempo (modo de cocção)	11,75 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	2,00

N.S.F = nível de significância de Fisher

N.S = não significativamente diferentes

Tabela XIV

Eliminação de Urina. Medida de Radioatividade da Urina do Absorvido nos Diversos Grupos Experimentais

Dieta	Tempo de cocção (minuto)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Radioatividade absorvida (CPM)	Urina eliminada (ml)	Radioatividade da urina (CPM)	% de radioatividade da urina
Caseína (controle)	—	—	1	19.736.139 ± 1.214.565	90,97 ± 3,00	11.386.538 ± 614.647	57,80 ± 0,29
Feijão autoclavado a 120°C e 1,5 atm de pressão	30	—	2	15.134.005 ± 1.077.152	37,57 ± 1,46	11.626.141 ± 851.911	76,98 ± 1,90
		sim	3	16.859.092 ± 2.756.957	74,68 ± 2,28	10.880.324 ± 1.421.755	65,12 ± 2,07
	45	—	4	16.239.510 ± 2.953.798	30,80 ± 1,66	12.244.974 ± 558.224	75,32 ± 1,39
		sim	5	19.955.582 ± 1.657.760	81,70 ± 2,30	12.960.133 ± 734.969	64,96 ± 0,66
	60	—	6	13.420.877 ± 1.521.489	26,70 ± 1,90	10.199.744 ± 1.205.374	77,75 ± 1,22
		sim	7	21.197.961 ± 627.461	83,87 ± 2,70	14.426.865 ± 570.954	68,00 ± 1,21

continua . . .

continuação

34

Dietas	Tempo de cocção (minuto)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Radioatividade absorvida (CPM)	Urina eliminada (ml)	Radioatividade da urina (CPM)	% de radioatividade da urina
Feijão cozido em panela comum	60	-	8	16.660.173 ± 785.511	42,12 ± 2,77	12.368.486 ± 663.903	74,32 ± 1,67
		sim	9	20.051.421 ± 1.276.258	83,88 ± 2,68	13.544.225 ± 637.660	68,03 ± 2,58
	120	-	10	16.835.420 ± 1.494.876	29,80 ± 1,73	12.536.845 ± 997.725	74,72 ± 1,05
		sim	11	23.395.755 ± 2.252.814	81,95 ± 3,36	15.941.967 ± 1.652.929	68,64 ± 2,76
	180	-	12	15.594.159 ± 845.483	29,50 ± 2,10	11.847.631 ± 423.762	76,45 ± 3,34
		sim	13	29.697.091 ± 2.736.877	88,20 ± 2,12	18.668.704 ± 1.913.129	63,26 ± 3,77

Tabela XV

Comparação Estatística da Eliminação de Urina e % de Radioatividade da Urina
entre os Grupos Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
Eliminação de urina	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
	Grupo 1 x Grupo 13	N.S.
% de radioatividade da urina	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
	Grupo 1 x Grupo 13	N.S.

N.S. = não significativamente diferentes ao nível de 5%

S = significativamente diferentes ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não diferentes do grupo controle (1), não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela XVI

Resultados Estatísticos da Influência dos Fatores Metionina, Modo e Tempo de Cocção na Eliminação de Urina e % de Radioatividade da Urina

Variável	Fator	N.S.F (%)
Eliminação de urina	Metionina	0,01
	Modo de cocção	1,00
	Metionina x Modo de cocção	34,73 N.S
	Tempo (modo de cocção)	4,00
	Metionina x Tempo (M. de cocção)	0,01
% de radioatividade da urina	Metionina	0,01
	Modo de cocção	92,92 N.S
	Metionina x Modo de cocção	49,44 N.S
	Tempo (modo de cocção)	84,10 N.S
	Metionina x Tempo (M. de cocção)	26,68 N.S

N.S.F. = nível de significância de Fisher

N.S. = não significativamente diferentes

MOUDGAL e cols.^(70,71) também observaram, em experimentos realizados com animais alimentados com dietas de amendoim, que esses animais apresentavam uma maior porcentagem de excreção urinária de fenóis livres e conjugados. Uma significativa quantidade de iodo estava presente na fração fenólica da urina excretada.

A maior quantidade de radioatividade encontrada na urina dos animais de nosso experimento foi como o esperado, sugerindo que o feijão assim como a soja e o amendoim tem propriedades que interferem no metabolismo normal do iodo.

Estes resultados nos levam a acreditar na possibilidade do fator ou fatores antinutricionais serem parcialmente destruídos pelo aquecimento ficando algum remanescente que anula o efeito benéfico procurado, ou pode ser, também, que a deficiência de metionina seja a causa do distúrbio renal observado.

OLSON e cols.⁽⁷⁷⁾ indicam que nos estados de inanição se observam lesões renais com hemorragia, corroborando os nossos resultados.

Estudamos também neste experimento o efeito das dietas no depósito de lípidos e sua radioatividade na carcaça. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela XVII.

Quando se relaciona percentualmente a radioatividade absorvida (Tabela XIV) e a radioatividade total da carcaça, observou-se que os grupos de ratos alimentados com feijão autoclavado e cozido em panela comum, sem suplementação com metionina (Grupo 2, 4, 6, 8, 10 e 12), tiveram a radioatividade total da carcaça significativamente inferior quando comparada a dos outros grupos de animais (Grupos 1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13).

A análise dos resultados obtidos quanto a relação percentual de lípidos absorvidos e quantidades de lípidos da carcaça, verificou-se que somente o grupo de animais alimentados com feijão cozido em panela comum durante 120 minutos com adição de metionina (Grupo 1^a), teve a porcentagem de lípidos da carcaça semelhante ao do controle.

Os resultados dos grupos de ratos alimentados com feijão autoclavado por 30, 45 e 60 minutos e cozido em panela comum por 60 e 180 minutos com adição de metionina, foram inferiores aos do grupo controle e Grupo 11, e os resultados dos grupos de ratos alimentados com feijão autoclavado ou cozido em panela comum, não suplementados, foram inferiores.

Os grupos suplementados com metionina tiveram maior porcentagem de lípidos que os não suplementados, como se esperava, visto que estes grupos tiveram maior ganho de peso (Tabela I).

A radioatividade de lípidos da carcaça relacionou-se percentualmente à radioatividade total, a fim de conhecer-se a quantidade de radioatividade da carcaça que estava na fração lipídica. De $21\% \pm 0,49$ de radioatividade retida na carcaça do grupo controle, $17,25\% \pm 0,89$ estava na fração lipídica.

Observou-se que os grupos suplementados com metionina tiveram valores inferiores aos do grupo controle e superiores aos dos grupos não suplementados.

Os resultados da análise estatística encontram-se nas Tabelas XVIII, XIX, XX e XXI'

Foi visto na Tabela I que o ganho de peso dos animais alimentados com caseína (controle) e aqueles alimentados com feijão autoclavado a 120°C ou aquecidos em panela comum, com suplementação de metionina, foi maior que o dos animais não suplementados, conseqüentemente, o peso médio da carcaça é superior.

Tabela XVII

Efeito das Dietas na Disposição de Lípidos e sua Radioatividade na Carcaça nos Diferentes Grupos Experimentais

Dietas	Tempo de cocção (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Lípidos absorvidos (g)	Peso da carcaça (g)	Total de radioatividade da carcaça (CPM)	% de radioatividade da carcaça	Total de lípidos da carcaça (g)	% de lípidos da carcaça	Total de radioatividade de lípidos da carcaça (CPM)	% de radioatividade de lípidos da carcaça
Caseína (controle)	--	--	1	16,36 ± 0,74	104,59 ± 4,40	4.151.747 ± 283.167	21,00 ± 0,49	8,27 ± 1,02	50,08 ± 4,00	720.644 ± 69.327	17,25 ± 0,89
Feijão autoclavado a 120°C a 1,5 atm de pressão	30	--	2	12,39 ± 0,67	47,32 ± 2,07	2.034.489 ± 66.566	13,71 ± 0,30	2,68 ± 0,17	21,63 ± 0,82	205.812 ± 9.858	10,15 ± 0,51
		sim	3	13,99 ± 2,28	66,58 ± 8,20	3.145.150 ± 390.817	18,82 ± 0,90	4,47 ± 0,76	34,17 ± 3,32	489.373 ± 115.115	14,83 ± 1,80
	45	--	4	15,35 ± 0,69	57,28 ± 2,02	2.314.855 ± 143.500	14,28 ± 1,06	3,34 ± 0,19	21,68 ± 0,58	159.507 ± 5.284	10,33 ± 0,11
		sim	5	15,35 ± 1,13	80,31 ± 6,20	3.554.909 ± 252.374	18,19 ± 2,15	5,86 ± 0,47	37,76 ± 2,25	532.153 ± 53.191	14,88 ± 0,46
	60	--	6	12,07 ± 1,23	54,73 ± 1,65	2.132.222 ± 257.819	15,81 ± 0,46	2,22 ± 0,24	18,30 ± 0,38	191.949 ± 9.975	11,22 ± 0,87
		sim	7	19,59 ± 0,87	96,62 ± 5,40	3.858.329 ± 158.062	18,29 ± 0,98	8,46 ± 0,62	43,05 ± 1,54	605.156 ± 46.175	15,69 ± 1,16

continua ...

continuação

Dietas	Tempo de cozido (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Lípidos absorvidos (g)	Peso da carcaça (g)	Total de radioatividade da carcaça (CPM)	% de radioatividade da carcaça	Total de lípidos da carcaça (g)	% de lípidos da carcaça	Total de radioatividade de lípidos da carcaça (CPM)	% de radioatividade de lípidos da carcaça
Feijão cozido em panela comum	60	-	8	15,27 ± 0,92	62,16 ± 3,80	2.628.968 ± 231.984	15,73 ± 0,61	3,84 ± 0,43	24,95 ± 1,26	162.773 ± 17.821	10,60 ± 0,19
		sim	9	18,36 ± 0,90	86,45 ± 7,08	2.440.642 ± 161.602	17,99 ± 0,78	7,35 ± 0,42	40,04 ± 0,79	598.203 ± 65.551	14,23 ± 0,51
	120	-	10	13,17 ± 1,06	52,82 ± 4,19	1.995.388 ± 223.925	15,83 ± 1,23	2,68 ± 0,19	20,52 ± 0,45	244.330 ± 28.069	12,26 ± 0,47
		sim	11	19,05 ± 1,81	93,40 ± 8,67	4.224.463 ± 272.562	18,92 ± 1,45	8,70 ± 0,80	45,01 ± 1,39	683.108 ± 17.869	14,28 ± 1,86
	180	-	12	12,37 ± 0,68	51,97 ± 2,97	2.235.479 ± 109.295	14,39 ± 0,69	2,60 ± 0,12	19,86 ± 0,70	245.889 ± 12.532	11,08 ± 0,61
		sim			16,97 ± 1,42	84,45 ± 3,85	5.500.082 ± 545.156	18,47 ± 0,27	6,52 ± 0,50	38,55 ± 0,55	859.866 ± 69.458

Tabela XVIII

Comparação Estatística da % de Radioatividade da Carcaça entre Grupos Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
% de radioatividade da carcaça	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S.
	Grupo 1 x Grupo 12	S
	Grupo 1 x Grupo 13	N.S.

N.S. = não significativamente diferente ao nível de 5%

S = significativamente diferente ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não diferentes do grupo controle (1) não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela XIX

Resultados Estatísticos da Influência dos Fatores: Metionina, Modo e Tempo de Cocção na % de Radioatividade da Carcaça

Variável	Fator	N.S.F (%)
% de radioatividade de carcaça	Metionina	0,01
	Modo de cocção	46,28 N.S
	Metionina x Modo de cocção	53,51 N.S
	Tempo (modo de cocção)	73,46 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	56,51 N.S

N.S.F = nível de significância de Fisher

N.S = não significativamente diferentes

Tabela XX

Comparação Estatística da % de Lípidos da Carcaça e % de Radioatividade de Lípidos da Carcaça entre os Grupos Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
% de lípidos da carcaça	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
Grupo 1 x Grupo 13	S	
% de radioatividade de lípidos da carcaça	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
Grupo 1 x Grupo 13	N.S	

N.S = não significativamente diferentes ao nível de 5%

S = significativamente diferentes ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não diferentes do grupo controle (1) não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela XXI

Resultados Estatísticos da Influência dos Fatores: Metionina, Modo e Tempo de Cocção na % de Lípides e Radioatividade da Carça

Variável	Fator	N.S.F (%)
% de lípides da carça	Metionina	0,01
	Modo de cocção	0,59
	Metionina x Modo de cocção	39,36 N.S
	Tempo (modo de cocção)	1,62
	Metionina x Tempo (M de cocção)	0,01
% de radioatividade da carça	Metionina	0,01
	Modo de cocção	44,19 N.S
	Metionina x Modo de cocção	3,00
	Tempo (modo de cocção)	0,40
	Metionina x Tempo (M de cocção)	28,14 N.S

N.S.F = nível de significância de Fisher

N.S = não significativamente diferentes

A análise de percentagem de lípidos e radioatividade retida na carcaça, também mostrou um valor maior nos grupos de animais suplementados, o que indica uma maior quantidade de lípidos nos tecidos dos grupos de animais melhor nutridos.

TREADWELL e cols.⁽⁹⁸⁾ observaram em seus experimentos que animais alimentados com dietas suplementadas com metionina, tiveram aumento do conteúdo lipídico da carcaça quando comparados com os animais não suplementados com estes aminoácidos.

Os dados sugerem que a metionina facilita a deposição de gorduras nos tecidos dos animais.

Estes pesquisadores interpretam seus resultados, indicando que a metionina diminui a utilização de gorduras e promove sua deposição em outros tecidos que não o fígado.

Com a finalidade de verificar a ocorrência de esteatose hepática, procuramos determinar o crescimento do fígado por meio de seu peso e pela relação entre esse peso e o peso corporal, assim como pela medida da captação da radioatividade. Os resultados obtidos acham-se na Tabela XXII.

Pela análise do peso do fígado por 100 g de peso corporal observou-se que os grupos de ratos alimentados com feijão autoclavado a 120°C durante 30, 45 e 60 minutos e cozido em panela comum por 60, 120 e 180 minutos, suplementados com metionina (Grupos 3, 5, 7, 9, 11 e 13), tiveram peso do fígado não significativamente diferente ao do grupo controle.

O peso do fígado por 100 g de peso corporal dos Grupos 2, 4, 6, 8, 10 e 12 (ratos não suplementados), foi superior ao do grupo controle.

Os animais alimentados com feijão autoclavado a 120°C, não suplementados com metionina, tiveram maior aumento de tamanho do fígado quando comparados aos grupos de animais alimentados com feijão cozido em panela comum, também sem suplementação com esse aminoácido. O aumento maior foi o do grupo 2 (animais alimentados com feijão cozido em autoclave por 30 minutos).

A metionina, modo e tempo de aquecimento, tiveram influência nestes resultados.

Estudando a percentagem da radioatividade captada por este órgão, pode-se observar que os grupos de animais suplementados com metionina (Grupos 3, 5, 7, 9, 11 e 13) apresentaram valores semelhantes aos do grupo controle e inferiores aos dos grupos não suplementados (Grupos 2, 4, 6, 8, 10 e 12).

A metionina foi o único fator que influenciou a captação radioativa do fígado.

Os resultados estatísticos destas variáveis estão nas Tabelas XXIII e XXIV.

Sabe-se que em diversos animais inclusive no homem, o grupo metila de alguns compostos químicos pode ser transferido a outros compostos.

O grupo metila intervém em processos do metabolismo do nitrogênio, enxofre, gorduras e hidratos de carbono. Os alimentos devem contê-lo, porque o organismo não o sintetiza em velocidade suficiente; na sua ausência (metionina ou colina) ocorre diminuição do crescimento, lesões renais e hepáticas.

O grupo metila da metionina é utilizado para formar cclina, a qual exerce ação lipotrópica sobre o fígado. Sendo a metionina e as proteínas que contém esse aminoácido produtores de colina, são consideradas, também, agentes lipotrópicos.

Baseado neste fato, decidiu-se analisar a ação da proteína do feijão suplementado ou não com metionina, no depósito de gordura no fígado, estudado pela medida da radioatividade deste órgão.

Tabela XXII

Efeito das Dietas no Peso do Fígado/100 g de Rato, Total de Radioatividade do Fígado (CPM), % de Radioatividade do Fígado, Total de Radioatividade do Fígado/100 g de Rato e % de Radioatividade do Fígado/100 g de Rato

Dietas	Tempo de cocção (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Peso do fígado (g)	Peso do fígado/100 g de rato	Total de radioatividade do fígado (CPM)	% de radioatividade do fígado	Total de radioatividade do fígado/100 g de rato (CPM)	% de radioatividade do fígado/100 g de rato
Caseína (controle)	—	—	1	6,07 ± 0,10	4,70 ± 0,11	12.611 ± 1.596	0,060 ± 0,008	9.559 ± 1.060	0,050 ± 0,005
Feijão autoclavado a 120°C e 1,5 atm de pressão	30	—	2	4,65 ± 0,17	7,21 ± 0,13	13.989 ± 1.290	0,090 ± 0,008	21.951 ± 2.769	0,150 ± 0,020
		sim	3	4,40 ± 0,30	4,94 ± 0,19	9.812 ± 1.668	0,050 ± 0,002	10.630 ± 987	0,060 ± 0,010
	45	—	4	4,65 ± 0,17	6,42 ± 0,15	17.992 ± 2.142	0,110 ± 0,010	24.697 ± 3.105	0,150 ± 0,020
		sim	5	5,14 ± 0,21	4,85 ± 0,24	9.233 ± 838	0,060 ± 0,002	10.654 ± 639	0,050 ± 0,007
	60	—	6	4,19 ± 0,09	6,01 ± 0,03	13.819 ± 2.311	0,100 ± 0,010	19.929 ± 3.577	0,150 ± 0,020
		sim	7	5,23 ± 0,18	4,23 ± 0,05	12.219 ± 565	0,060 ± 0,002	9.891 ± 700	0,050 ± 0,003

continua...

continuação

Dietas	Tempo de cocção (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Peso do fígado (g)	Peso do fígado/100 g de rato	Total de radioatividade do fígado (CPM)	% de radioatividade do fígado	Total de radioatividade do fígado/100 g de rato (C/M)	% de radioatividade do fígado/100 g de rato
Feijão cozido em panela comum	60	-	8	5,40 ± 0,17	6,71 ± 0,21	14.738 ± 1.627	0,090 ± 0,008	18.269 ± 2.175	0,110 ± 0,010
		sim	9	5,19 ± 0,30	4,56 ± 0,16	11.773 ± 1.355	0,060 ± 0,003	10.377 ± 851	0,050 ± 0,003
	120	-	10	4,39 ± 0,28	6,21 ± 0,11	15.848 ± 1.479	0,090 ± 0,005	22.313 ± 1.290	0,130 ± 0,010
		sim	11	5,57 ± 0,20	4,60 ± 0,23	14.044 ± 1.604	0,060 ± 0,003	11.397 ± 886	0,050 ± 0,007
	180	-	12	4,06 ± 0,11	5,90 ± 0,10	15.413 ± 1.088	0,100 ± 0,008	22.795 ± 1.878	0,150 ± 0,020
		sim	13	5,44 ± 0,16	4,96 ± 0,19	18.674 ± 1.833	0,060 ± 0,003	16.812 ± 1.019	0,060 ± 0,003

Tabela XXIII

Comparação Estatística do Peso do Fígado/100 g Rato e % de Radioatividade do Fígado/100 g de Rato, entre os Grupos Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
Peso do fígado/100 g de rato	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
Grupo 1 x Grupo 13	N.S	
% de radioatividade do fígado/100 g de rato	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
Grupo 1 x Grupo 13	N.S	

N.S = não significativamente diferentes ao nível de 5%

S = significativamente diferentes ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não diferentes do grupo controle (1) não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela XXIV

Resultados Estatísticos da Influência dos Fatores: Metionina, Modo e Tempo de Cocção no Peso do Fígado/100g de Rato e % de Radioatividade do Fígado/100g de Rato

Variável	Fator	N.S.F (%)
Peso do fígado/100g de rato	Metionina	0,10
	Modo de cocção	22,80 N.S
	Metionina x Modo de cocção	10,34 N.S
	Tempo (modo de cocção)	0,01
	Metionina x Tempo (M de cocção)	0,38
% de radioatividade do fígado/100g de rato	Metionina	0,01
	Modo de cocção	19,83 N.S
	Metionina x Modo de cocção	38,55 N.S
	Tempo (modo de cocção)	22,35 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	63,07 N.S

N.S.F = nível de significância de Fisher

N.S = não significativamente diferentes

Como verificou-se na Tabela IV, apesar dos grupos de ratos não suplementados com metionina terem ganho menor peso, pode-se observar que seus fígados tiveram no final do experimento, um peso médio quase igual ao do grupo controle e aos dos grupos suplementados. Quando se relacionou percentualmente o peso do fígado com o peso corporal, notou-se que aqueles dos grupos não suplementados foi bem superior ao do controle e ao dos animais suplementados.

A medida da radioatividade foi também superior, deduzindo-se que houve depósito de lípidos no fígado dos animais desses grupos.

O tratamento estatístico destes resultados mostrou que a deficiência de metionina foi o fator determinante na deposição de lípidos no fígado.

AOYAMA e cols.⁽³⁾ mostram que o conteúdo de lípidos no fígado de ratos alimentados com dietas deficientes em colina, é apreciavelmente afetado pelo nível de proteína dietética. Todavia, existem contradições na literatura sobre o efeito do nível dietético de proteína na deposição de gorduras no fígado.

SHEMER e PERKINS⁽⁹²⁾ afirmam que o peso do fígado em relação ao peso corporal é maior quando a metionina é adicionada nas dietas de leguminosas após serem aquecidas.

Entretanto, YAGASAKI e KAMETAKA⁽¹⁰⁴⁾ demonstraram por meio de experimentos que ratos alimentados com 5% de proteína apresentam seus fígados aumentados quando expressos em valores relativos a 100 g de peso corporal, comparados com os dos animais alimentados com 20% de proteína.

Para estas observações foi utilizado ácido palmítico-1-¹⁴C em soro albumina humano, injetado na via femoral de ratos. Logo após, verificaram que a radioatividade presente nos lípidos totais e triacilgliceróis do fígado foram significativamente maiores no grupo alimentado com 5% de proteína, que no grupo com 20%. Com o transcorrer do tempo, a radioatividade dos triacilgliceróis do fígado diminuía mais lentamente no grupo 5%. A radioatividade dos triacilgliceróis do soro deste grupo de animais era menor, indicando uma diminuição do transporte de triacilgliceróis do fígado ao sangue do grupo 5% de proteína.

Adição da metionina, em quantidade suficiente para o crescimento de animais, à dietas com nível de proteína de 20%, diminui marcadamente o conteúdo lipídico do fígado à mesma extensão que a caseína⁽⁹⁸⁾.

Nossos resultados estão de acordo com aqueles observados por meio da análise da literatura, pois tanto o tamanho, como a radioatividade detectada no fígado dos animais do grupo controle como daqueles que receberam dietas suplementadas com metionina, foram inferiores aos resultados obtidos com os animais que não tiveram essa suplementação.

A incidência do bócio no homem e no animal que ingerem quantidades normais de iodo, tem sido frequentemente referida; essas observações indicam a existência de outros fatores na etiologia do bócio.

Estas conclusões conduziram a extensas pesquisas dos fatores bociogênicos, com interessantes resultados.

Muitos pesquisadores demonstraram a presença desses fatores nas leguminosas.

Procuramos em nosso experimento, verificar o comportamento da glândula tireóide de ratos após ingestão de dieta de feijão com ou sem suplemento de metionina. Os nossos resultados acham-se na Tabela XXV.

Pela análise do peso da tireóide por 100 g de peso corporal, verificamos que o peso da tireóide

Tabela XXV

Efeito das Dietas no Peso da Tireóide/100 g de Rato, Total de Radioatividade na Tireóide (CPM), % de Radioatividade da Tireóide, Total de Radioatividade da Tireóide/100 g de Rato e % de Radioatividade da Tireóide/100 g de Rato

Dietas	Tempo de cozido (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (n°)	Peso da tireóide (mg)	Peso da tireóide/100 g de rato (CPM)	Total de radioatividade da tireóide	% de radioatividade da tireóide	Total de radioatividade da tireóide/100 g de rato (CPM)	% de radioatividade da tireóide/100 g de rato
Caséina (controle)	-	-	1	10,00 ± 1,00	8,00 ± 0,80	138.328 ± 7.920	0,71 ± 0,06	108.803 ± 3.605	0,550 ± 0,004
Feijão autoclavado a 120°C a 1,5 atm de pressão	30	-	2	9,00 ± 0,80	12,00 ± 2,00	23.448 ± 2.771	0,16 ± 0,01	36.874 ± 3.814	0,240 ± 0,010
		sim	3	9,00 ± 2,00	10,00 ± 1,00	84.313 ± 22.331	0,47 ± 0,06	84.438 ± 14.998	0,500 ± 0,040
	45	-	4	9,00 ± 0,30	13,00 ± 0,50	26.807 ± 1.981	0,16 ± 0,01	37.681 ± 2.476	0,230 ± 0,020
		sim	5	10,00 ± 0,50	9,00 ± 1,00	112.634 ± 14.036	0,55 ± 0,06	101.307 ± 7.184	0,510 ± 0,040
	60	-	6	10,00 ± 0,70	16,00 ± 1,00	20.106 ± 1.465	0,16 ± 0,01	29.684 ± 1.731	0,230 ± 0,020
		sim	7	11,00 ± 0,70	9,00 ± 0,70	131.887 ± 8.404	0,62 ± 0,02	105.403 ± 3.198	0,500 ± 0,020

continua ...

continuação

Dieta	Tempo de cocção (minutos)	Adição de metionina (0,3 g%)	Grupo (nº)	Peso da tireóide (mg)	Peso da tireóide/100 g de rato (CPM)	Total de radioatividade da tireóide	% de radioatividade da tireóide	Total de radioatividade da tireóide/100 g de rato (CPM)	% de radioatividade da tireóide/100 g de rato
Feijão cozido em Panela comum	60	-	8	10,00 ± 1,00	12,00 ± 0,60	27.152 ± 2.960	0,16 ± 0,02	32.626 ± 2.396	0,190 ± 0,020
		sim	9	10,00 ± 0,80	9,00 ± 0,70	112.709 ± 10.447	0,56 ± 0,04	99.335 ± 7.774	0,500 ± 0,004
	120	-	10	7,00 ± 0,70	10,00 ± 0,50	23.546 ± 3.119	0,14 ± 0,01	30.619 ± 3.134	0,210 ± 0,030
		sim	11	10,00 ± 0,80	8,00 ± 0,50	144.569 ± 22.846	0,62 ± 0,05	114.110 ± 14.611	0,510 ± 0,060
	180	-	12	9,00 ± 0,70	13,00 ± 0,70	25.455 ± 2.369	0,16 ± 0,01	36.952 ± 1.319	0,230 ± 0,010
		-	13	11,00 ± 0,80	10,00 ± 0,50	168.318 ± 15.571	0,57 ± 0,05	152.417 ± 9.693	0,520 ± 0,040

dos animais alimentados com feijão autoclavado por 30, 45 e 60 minutos e cozidos em panela comum por 60, 120 e 180 minutos, com adição de metionina (Grupos 3, 5, 7, 9, 11 e 13), e alimentados com feijão cozido em panela comum por 120 minutos sem suplementação de metionina (Grupo 10), não foram diferentes ao dos animais controle, e foram inferiores ao dos animais alimentados com feijão autoclavado por 30, 45 e 60 minutos e cozidos em panela comum por 60 e 180 minutos, sem suplementação com metionina (Grupos 2, 4, 6, 8 e 12).

Comparando as médias do peso da tireóide dos animais suplementados às dos não suplementados, observou-se uma diferença efetiva, sendo que o peso da tireóide dos animais que receberam feijão autoclavado foi semelhante, com algumas exceções, ao daqueles alimentados com feijão cozido em panela comum.

Tiveram influência nesta variável a metionina e modo de cocção.

A percentagem da radioatividade captada pela glândula foi significativamente inferior nos grupos de animais que receberam feijão autoclavado ou cozido em panela comum, sem suplementação com metionina, que nos animais controle e suplementados.

A análise estatística desses resultados encontram-se nas Tabelas XXVI e XXVII.

Foi observado que o peso de tireóide por 100 g de peso corporal dos animais alimentados com feijão autoclavado ou submetido ao cozimento comum, adicionados de metionina, não foi estatisticamente diferente ao do controle; e o peso da tireóide dos animais não suplementados foi significativamente superior.

Estes dados sugerem, que houve uma hiperplasia tireoidiana nos ratos não suplementados, o que nos permite deduzir que se trata de um caso de bócio.

Pela percentagem da radioatividade captada pela tireóide, pode-se observar que a radioatividade captada pela glândula dos animais controle e dos animais alimentados com feijão suplementado com metionina, foram superiores estatisticamente a dos animais não suplementados.

Existem estudos indicando a presença de hipotireoidismo em má nutrição protéica^(18,93).

Os resultados deste trabalho provavelmente sejam devidos aos fatores bociogênicos do feijão que não foram totalmente anulados pelo aquecimento, situação esta, agravada com a deficiência da metionina.

Conforme SHARPLESS⁽⁹⁰⁾ existem nas leguminosas fatores bociogênicos que são parcialmente destruídos pelo aquecimento. Uma dieta de farinha de soja produz hipertrofia de tireóide quatro vezes mais que o normal, e num período experimental de sete semanas.

Animais alimentados com soja tem a tireóide maior que animais alimentados com caseína sem suplementação de iodo⁽⁹⁴⁾.

Vários pesquisadores^(8,9,100) propõem que a diminuição de captação de iodo pela tireóide pode ser devida à interferência na absorção de iodo no intestino ou a perda de tiroxina pelas fezes.

O aumento de tiroxina fecal encontrado nos animais, não parece ser devido a um aumento de secreção biliar nem à presença de tiroxina de outra origem no intestino do animal. O aumento deste hormônio nas fezes pode ser devido às alterações não específicas do processo de absorção intestinal, ou pode ser, somente, resultado de um transporte acelerado do alimento por causa de seu volume^(8,34,41).

Existem evidências indicando haver uma inibição de captação de iodo provocada pelo fator

Tabela XXVI

Comparação Estatística do Peso da Tireóide/100 g de Rato e % de Radioatividade da Tireóide/100 g de Rato, entre os Grupos Experimentais e o Grupo Controle (1)

Variável	Comparações	Resultados*
Peso da tireóide/100 g de rato	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S
	Grupo 1 x Grupo 10	N.S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
Grupo 1 x Grupo 13	N.S	
% de radioatividade da tireóide/100 g de rato	Grupo 1 x Grupo 2	S
	Grupo 1 x Grupo 3	N.S
	Grupo 1 x Grupo 4	S
	Grupo 1 x Grupo 5	N.S
	Grupo 1 x Grupo 6	S
	Grupo 1 x Grupo 7	N.S
	Grupo 1 x Grupo 8	S
	Grupo 1 x Grupo 9	N.S
	Grupo 1 x Grupo 10	S
	Grupo 1 x Grupo 11	N.S
	Grupo 1 x Grupo 12	S
Grupo 1 x Grupo 13	N.S	

N.S = não significativamente diferente ao nível de 5%

S = significativamente diferentes ao nível de 5%

* = Se os grupos experimentais são ou não diferentes do grupo controle (1), não significa que eles sejam ou não diferentes entre si.

Tabela XXVII

Resultados Estatísticos da Influência dos Fatores: Metionina, Modo e Tempo de Cocção no Peso da Tireóide/100 g de Rato e % de Radioatividade da Tireóide/100 g de Rato

Variável	Fator	N.S.F (%)
Peso da tireóide/100 g de rato	Metionina	0,01
	Modo de cocção	0,80
	Metionina x Modo de cocção	1,50
	Tempo (modo de cocção)	19,43 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	72,08 N.S
% de radioatividade da tireóide/100 g de rato	Metionina	0,01
	Modo de cocção	38,00 N.S
	Metionina x Modo de cocção	32,19 N.S
	Tempo (modo de cocção)	75,59 N.S
	Metionina x Tempo (M de cocção)	96,15 N.S

N.S.F = nível de significância de Fisher

N.S = não significantemente diferentes

bociogênico, e uma diminuição de sua organificação na glândula. Em estudos "in vitro" efetuados com iodo radioativo notou-se mudança no perfil de iodo orgânico, particularmente de DIT (diiodotirosina), observando-se uma alta proporção de MIT (monoiodotirosina) em relação ao DIT, radioiodados. Apesar de não existir grandes mudanças nas quantidades relativas de T_3 e T_4 (triiodotironina e tetraiodotironina), a relação destes compostos é maior nas tireóides expostas ao agente ativo da farinha de soja⁽⁵⁵⁾.

Das observações de nosso experimento pode-se deduzir que a deficiência de metionina nas dietas de feijão seria responsável por estes eventos.

A destruição dos fatores tóxicos das leguminosas dependem da temperatura, tempo de aquecimento e condições de umidade. LIENER⁽⁶¹⁾ assegura que as hemaglutininas das leguminosas podem ser destruídas somente por embebição preliminar em água seguida de autoclavagem.

Segundo CONTRERAS e TAGLE⁽¹⁹⁾, os tratamentos em panela comum não são os melhores para destruir o poder hemaglutinante do feijão. Também a embebição em água como único tratamento não diminui a quantidade de hemaglutinina presente nas leguminosas.

Os efeitos de altas temperaturas são razões mais comuns para a redução do valor biológico das leguminosas.

Foi sugerido que quando altas temperaturas são aplicadas nas leguminosas, os aminoácidos sulfurados podem ser parcialmente convertidos em suas formas oxidadas, podendo dar formação a fragmentos peptídicos resistentes à digestão enzimática⁽⁸²⁾.

SHEMER e PERKINS⁽⁹¹⁾ estudando os efeitos de diferentes tratamentos térmicos nas amostras de proteína isolada de soja, com e sem suplementação com metionina, observaram que houve perda deste aminoácido pelo aquecimento em água a 100°C. Cerca de 30% de metionina foi perdida neste processo. Após suplementação da proteína de soja com 0,5% de metionina livre, submetida a vários tratamentos térmicos, essa metionina livre adicionada foi quase totalmente destruída. A mais severa destruição ocorreu à temperatura de ebulição da água durante 60 minutos.

O valor nutritivo da soja aumenta após a autoclavagem a 100°C, 110°C ou 120°C por 30 minutos. Tratamento térmico superior a 130°C por 60 minutos reduz o valor nutritivo desta proteína. Provavelmente temperaturas altas exercem efeitos deletérios por desnaturação da proteína que é acompanhada por uma diminuição de metionina ou por formação de alguma(s) substância(s) que interfere(m) na absorção e metabolismo de metionina^(22,23,25).

Excesso de metionina também pode ter efeitos prejudiciais nos animais de experimentação. Observa-se efeitos variáveis sobre as enzimas envolvidas nos processos catalíticos da metionina. As mudanças ocorridas nestes processos se relacionam estritamente com o crescimento. A concentração de metionina e seus metabólitos aumentam rapidamente no fígado e na urina. Um indevido dispêndio de energia pode resultar de um rápido catabolismo de excesso da metionina, podendo ser responsável pela diminuição do crescimento dos animais⁽²¹⁾.

Analisando em conjunto todos os resultados apresentados nas Tabelas, verificou-se que o valor nutritivo do feijão melhora com o aquecimento, visto que não foi observado morte de nenhum animal nem perda exagerada de peso.

Neste experimento, demonstrou-se que não houve diferença entre o aquecimento do feijão em panela comum e em autoclave a 120°C em quaisquer tempos de cocção. A maior parte dos valores, mais próximos aos do controle, foram obtidos usando dietas de feijão autoclavado por 45 e 60 minutos, adicionados de metionina. Os valores mais baixos foram obtidos com dietas de feijão autoclavado por 30 minutos sem adição de metionina.

Constatou-se que a adição de metionina ao feijão, quer cozido em autoclave, quer cozido em panela comum, aumenta consideravelmente o valor biológico do feijão, por melhorar a qualidade de sua proteína, sendo assim, melhor utilizada pelo organismo, aumentando, por conseguinte, a capacidade de síntese de enzimas e outras proteínas.

Com o emprego de traçador radioativo (^{125}I) foi possível acompanhar com maior precisão o caminho seguido pelo ácido oléico, e verificar a influência que uma dieta de feijão pode exercer na distribuição e excreção de lípidos.

Desta maneira pudemos também verificar o efeito biogênico do feijão, pois, por meio da medida de captação de iodo pela glândula tireóide, ficou bastante claro que essa captação é reduzida quando alimentamos animais com dietas a base de feijão, também ficou evidente em nosso experimento que a metionina age benéficamente melhorando esta situação fisiológica, assim como este aminoácido também foi benéfico para a síntese de lipoproteínas de baixa densidade a nível hepático, diminuindo consequentemente a captação de iodo por esse órgão.

Os fatos apresentados no presente trabalho são de suma importância principalmente sobre o ponto de vista de saúde pública, visto que uma grande parte de nossa população alimenta-se exclusivamente de arroz e feijão, esporadicamente com uma suplementação, e por trabalhos anteriores⁽²⁰⁾, verificou-se que essa mistura é, também, deficiente em cálcio e retinol.

Essas deficiências associadas à diminuição da atividade da glândula tireóide e ao acúmulo gorduroso no fígado, consequentemente da deficiência de metionina não devem ser relegados a planos secundários.

7 – CONCLUSÕES

Pelo exposto, nas condições experimentais do trabalho, podemos concluir que:

- 7.1 – O aquecimento em autoclave a 120°C e 1,5 atm. de pressão por 30, 45 e 60 minutos não altera o valor nutricional do feijão.
- 7.2 – O aquecimento em panela comum por 60, 120 e 180 minutos não altera o valor nutricional do feijão.
- 7.3 – O aquecimento em autoclave a 120°C ou em panela comum, nos tempos acima citados, não altera o valor nutricional da proteína do feijão.
- 7.4 – A adição de metionina das dietas aumenta o seu valor biológico a um nível próximo ao da caseína, avaliado pelo crescimento dos animais.
- 7.5 – As dietas de feijão sem adição de metionina promovem um aumento de excreção de fezes e de lípidos nas mesmas.
- 7.6 – A adição de metionina diminui a excreção de lípidos nas fezes assim como a excreção fecal.
- 7.7 – As dietas de feijão adicionadas de metionina promovem um menor crescimento do fígado e, assim sendo, a quantidade de radioatividade do ácido oléico ^{125}I presente nesse órgão é menor quando comparada à de grupos de animais não suplementados com esse aminoácido.
- 7.8 – A adição de metionina às dietas de feijão mostra um aumento da radioatividade e gordura na carcaça dos animais, quando comparados àqueles que receberam dietas sem adição desse aminoácido.

- 7.9 – A excreção da radioatividade medida na urina, como índice de excreção de iodo, mostrou um aumento desse halogênio nos animais que não receberam suplementação com metionina.
- 7.10 – Os animais alimentados com dieta a base de feijão sem suplementação com metionina mostraram um aumento no tamanho da tireóide, quando relacionados por 100 g de peso corporal, comparados aos animais que receberam dietas com adição desse aminoácido.
- 7.11 – A radioatividade captada pela glândula tireóide dos animais que receberam dietas a base de feijão sem adição de metionina foi inferior àqueles que receberam dietas de feijão adicionadas de metionina.
- 7.12 – Os animais que receberam dietas de feijão suplementadas com metionina mostraram uma captação de iodo radioativo na glândula tireóide ligeiramente menor, quando comparados aos animais do grupo controle, embora sem significado estatístico.

ABSTRACT

Weanling rats were divided into 13 groups of six animals and were fed 'ad libitum' for four weeks with diets containing casein as protein source for the control group and bean cooked in an autoclave at 120°C for 30, 45 and 60 minutes or cooked in an ordinary pot for 60, 120 and 180 minutes, with and without addition of methionine.

Oleic acid ^{125}I , mixed with other nutrients, was added to the diets in order to study the distribution of radioactivity in the animal body and its excretion.

The influence of heating the beans by different ways and times, with and without addition of methione, on the growth of the animals was verified by means of the gain in weight, food efficiency ratio (FER) and protein efficiency ratio (PER).

Studies in animal feces, urine and carcass were carried out. The quantity of lipids in the feces and carcass was determined.

The influence of the diets on the liver and thyroid was verified by means of their weights and the quantity of radioactivity in these organs.

The quantity of radioactivity was greater in the liver and smaller in the thyroid gland in animals fed with beans without addition of methionine.

Higher fecal excretion and radioactivity in the urine were also observed in these animals.

The nutritive value of beans increases with the addition of methionine.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. ANDREWS, A. T. & JAYNE-WILLIAMS, D. J. Identification of a phytohemagglutinin in raw navy beans (*Phaseolus vulgaris*) toxic for japanese quail (*Coturnix-coturnix*). *Br. J. Nutr.*, 32:181-8, 1974.

(*) As referências bibliográficas relativas a documentos localizados pelo IPEN foram revistas e enquadradas na NB-06 de ABNT.

2. AOYAMA, Y. & ASHIDA, K. Effect of deficiency of individual essential amino acids in the diets on the growth rate and the serum protein content of growing rats. *Nutr. Rep. Int.*, 12(5):291-8, 1975.
3. AOYAMA, Y.; YASUI, H.; ASHIDA, K. Effect of dietary protein and amino acids in a choline-deficient diet on lipid accumulation in rat liver. *J. Nutr.*, 101(6):739-45, 1971.
4. AOYAMA, Y.; YOSHIDA, A.; ASHIDA, K. Effect of dietary amino acid composition on the accumulation of lipids in the liver of growing rats. *J. Nutr.*, 97:348-52, 1969.
5. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. *Official methods of analysis*. 11. ed. Washington, D. C., 1970. p. 858.
6. ASTWOOD, E. B.; GREER, M. A.; ETTLINGER, M. G. L-5-vinyl-2-thio-oxazolidone, an antithyroid compound from yellow turnip and from brassica seeds. *J. Biol. Chem.*, 181:121-30, 1949.
7. 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).
8. BECK, R. N. Soy flour and fecal thyroxine loss in rats. *Endocrinology*, 62:587-92, 1958.
9. BLOCK, R. J. & MANDL, R. H. The curative action of iodine on soybean goiter and the changes in the distribution of iodoamino acids in the serum and in thyroid gland digesty. *Arch. Biochem.*, 93:15-24, 1961.
10. BLOW, D. M.; JANIN, J.; SWEET, R. M. Mode of action of soybean trypsin inhibitor (Kunitz) as a model for specific protein-protein interactions. *Nature (London)*, 249:54-7, 1974.
11. BOOTH, A. N.; ROBBINS, D. J.; RIBELIN, W. E.; DE EDS, F.; SMITH, A. K.; RACKIS, J. J. Prolonged pancreatic hypertrophy and reversibility in rats fed raw soybean meal. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 116:1067-9, 1964.
12. BORCHERS, R. & ACKERSON, C. W. The nutritive value of legume seeds. X. Effect of autoclaving and the trypsin inhibitor test for 17 species. *J. Nutr.*, 41(2):339-45, 1950.
13. BOWMAN, D. E. Amylase inhibitor of navy beans. *Science (New York)*, 102:358-9, 1945.
14. BRESSANI, R. All vegetable protein mixtures for human feeding. VI. The value of combination of lime-treated corn and cooked black beans. *J. Fd. Sci.*, 27:394-400, 1962.
15. BRESSANI, R.; ELIAS, L. G.; VALLIENTE, A. T. Effect of cooking and amino acid supplementation on the nutritive value of black beans (*Phaseolus vulgaris*). *Br. J. Nutr.*, 17:69-78, 1963.
16. BURTON, B. T. *Nutrición humana*. Washington, D. C. OPAS, 1966. p.51-2 (publicación científica, 146).
17. CHANG, Y. O.; YOKOTA, F.; MAK, I. T. Effect of feeding diets lacking various essential amino acids on the liver composition and on the incorporation of ¹⁴C-L-Leucine in the liver of rats. *Nutr. Rep. Int.*, 15(2):231-8, 1977.
18. CHOPRA, I. J.; SMITH, S. R.; STEPHEN, R. Circulating thyroid hormones and thyrotropin in adult patients with protein-calorie malnutrition. *J. clin. Endocr. Metab.*, 40(2):221-7, 1975.

19. CONTRERAS, S. & TAGLE, M. A. Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile. III. Hemaglutininas. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 24:191-9, 1974.
20. COZZOLINO, S. M. F. *Valor biológico da proteína da mistura de arroz e feijão, suplementada com metionina, calcio e retinol. Ensaio em ratos alimentados "ad libitum" e com restrição.* São Paulo, 1975. (Dissertação mestrado).
21. DANIEL, R. G. Adaptation of weanling rat diets containing excess methionine. *J. Nutr.*, 99(3):299-306, 1969.
22. EVANS, R. J. & MC GINNIS, J. Cystine and methionine metabolism by chicks receiving raw or autoclaved soybean oil meal. *J. Nutr.*, 35(4):477-88, 1948.
23. EVANS, R. J. & MC GINNIS, J. The influence of autoclavagem soybean oil meal on the availability of cystine and methionine for the chick. *J. Nutr.*, 31:449-61, 1946.
24. EVANS, R. J.; BAUER, D. H.; SISAK, K. A.; RYAN, P. A. Availability for the rat of methionine and cystine contained in dry bean seed (*Phaseolus vulgaris*). *J. agric. Fol. Chem.*, 22:130-3, 1974.
25. EVANS, R. J.; MCGINNIS, J.; ST JOHN, J. L. The influence of autoclaving soybean oil meal on the digestibility of the proteins. *J. Nutr.*, 33:661-72, 1947.
26. EVANS, R. J.; PUSZTAI, A.; WATT, W. B.; BAUER, D. H. Isolation and properties of protein fractions from navy beans (*Phaseolus vulgaris*) which inhibit growth of rats. *Biochem. biophys. Acta.*, 303:175-84, 1973.
27. FEDERER, W. T. *Experimental designs*. New York, N.Y. Mac Millan, 1955. p. 33-6.
28. FÖLSCH, U. R. & WORMESLEY, K. G. The pancreatic secretion of enzymes in rats treated with soybean diet. *Scand. J. Gastroenterol.* 9(7):679-83, 1974.
29. FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *Amino acid content of foods and biological data on proteins*. Rome, 1972. p. 50-1. F. A. O. Nutritional Studies Nº 24).
30. FOX, M. R. S. & BRIGGS, G. M. Salt mixtures for purified-type diets. III. An improved salt mixtures for chick. *J. Nutr.*, 72(2):242-50, 1960.
31. GABRIAL, G. N.; HUSSGIN, L.; MORCOS, S. O. Nutritional studies on kidney bean proteins (*Phaseolus vulgaris* var. Giza 3). *Qual. Plant.-Plant. Foods. Human. Nutrition.*, 24(1-2):61-70, 1974.
32. GALLARDO, F.; ARAYA, H.; PAK, N.; TAGLE, M. A. Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile. II. Inhibidor de tripsina. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 24(2):183-9, 1974.
33. GREER, M. A. Nutrition and goiter. *Physiol. Rev.*, 30:513-48, 1950.
34. GREER, M. A. II Thyroid hormones. The natural occurrence of goitrogenic agents. *Recent Progr. Horm. Res.*, 18:187-219, 1962.
35. GREER, M. A. & ASTWOOD, E. B. The antithyroid effect of certain foods in man as determined with radioactive iodine. *Endocrinology.* 43:105-19, 1948.
36. HALVERSON, A. W.; ZEPPLIN, M.; HART, E. B. Relation of iodine to the goiterogenic properties of soybean. *J. Nutr.*, 38:115-29, 1949.

37. HILL, C. H. Malnutrition and the pancreas. *Nutr. Rev.*, 27(4):100-2, 1969.
38. HINTZ, H. F.; HOGUE, D. E.; KROOK, L. Toxicity of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in the rat. *J. Nutr.*, 93:77-86, 1967.
39. HONAVAR, P. M.; SHIH, C. V.; LIENER, I. E. The inhibition of the growth of rat by purified hemagglutinin fractions isolated from *Phaseolus vulgaris*. *J. Nutr.*, 77:109-14, 1962.
40. HOSOTANI, T. & YASHIDA, A. Effect of amino acid supplement on liver lipid content and lipid metabolism of rats fed a nonprotein diet. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 20(3):215-25, 1974.
41. HYDOVITZ, J. D. Occurrence of goiter in an infant on soy diet. *New England. J. Med.*, 262:351-3, 1960.
42. JAFFÉ, W. G. Factores tóxicos en leguminosas. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 18:(3) 205-18, 1968.
43. JAFFÉ, W. G. & BRUCHER, O. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemagglutininas de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 22:267-81, 1972.
44. JAFFÉ, W. G. & CAMEJO, G. La acción de una proteína tóxica, aislada de caraotas negras (*Phaseolus vulgaris*), sobre la absorción intestinal en ratas. *Acta. cient. venez.*, 12(2):59-61, 1961.
45. JAFFÉ, W. G. & GAEDE, K. Purification of a toxic phytohemagglutinin from black beans (*Phaseolus vulgaris*). *Nature (London)*, 183:1329-30, 1959.
46. JAFFÉ, W. G. & LETTE, C. L. V. Heat labile growth inhibiting factors in beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Nutr.*, 94:203-10, 1968.
47. JAFFÉ, W. G.; PLANCHART, A.; PAEZ PUMAR, J. I.; TORREALBA, R.; FRANCESCHI, D. N. New studies on a toxic factor of uncooked beans. *Archos, venez. Nutr.*, 6:195-201, 1955.
48. KAKADE, M. L. & EVANS, R. J. Growth inhibition of rats fed raw navy beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Nutr.* 90(2):191-8, 1966.
49. KAKADE, M. L. & EVANS, R. J. Growth inhibition of rat fed navy beans fractions. *J. agric. Fd. Chem.*, 13:450-2, 1965.
50. KAKADE, M. L. & EVANS, R. J. Nutritive value of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). *Br. J. Nutr.*, 19:269-75, 1965.
51. KAKADE, M. L.; ARNOLD, R. L.; LIENER, I. E.; WAIBEL, P. E. Unavailability of cystine from trypsin inhibitors as a factor contributing to the poor nutritive value of navy beans. *J. Nutr.*, 99:34-42, 1969.
52. KAKADE, M. L.; RACKIS, J. J.; MC GHEE, J. E.; PUSKI, G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal. Chem.*, 51(3):376-82, 1974.
53. KAPOOR, A. C. & GUPTA, Y. P. Biological evaluation of soy bean protein and effect of amino acid supplementation. *J. Fd. Sci.*, 40(6):1162-4, 1975.
54. KONIJN, A. M.; BIRK, Y.; GUGGENHEIM, K. Pancreatic enzyme pattern in rats as effected by dietary soybean flour. *J. Nutr.*, 100(3):361-8, 1970.

55. KONIJN, A. M.; GERSHON, B.; GUGGENHEIM, K. Further purification and mode of action of a goitrogenic material from soybean flour. *J. Nutr.*, 103:378-83, 1973.
56. KUNITZ, M. Crystallization of a trypsin inhibitor from soybean. *Science (New York)*, 101:668-9, 1945.
57. LAJOLO, F. M. *Inibidor de amilase do Phaseolus vulgaris. Estudo bromatológico.* São Paulo, 1977. (Tese de Livre Docência).
58. LAJOLO, F. M.; CAMPOS FRANÇA, H. M.; ZUCA, S. M. Influência da cor no consumo de rações por ratos. *Revta. farm. Bioquím.*, 7:95-105, 1969.
59. LAU, H. C.; THYE, F. W.; RITCHEY, S. J. Effects of protein and calorie restriction on growth, cell number and cell size in infant rats. *Nutr. Rep. Int.*, 10(5):249-60, 1974.
60. LIENER, I. E. Legume toxins in relation to protein digestibility. A review. *J. Fd. Sci.*, 41:1076-81, 1976.
61. LIENER, I. E. Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am. J. clin. Nutr.*, 11:281-98, 1962.
62. LYMAN, R. L.; OLDS, B. A.; GREEN, G. M. Chymotrypsinogen in the intestine of rats fed soybean trypsin inhibitor and its inability to suppress pancreatic enzyme secretion. *J. Nutr.*, 104:105-10, 1974.
63. McCARRISON, R. The goitrogenic action of soybean and ground-nut. *Indian J. med. Res.*, 21:179-91, 1933.
64. MANCINI F. J. *Fatores antinutricionais em leguminosas. I. Proteínas tóxicas de feijões.* São Paulo, 1975 (Dissertação de mestrado).
65. MANEPPUN, S.; LUH, B. S.; RUCKER, R. B. Amino acid composition and biological quality of lima bean protein. *J. Food Sci.*, 39:171-4, 1974.
66. MASEK, J. Childhood diarrhea in rural Guatemala. *Nutr. Rev.*, 28(3):61-3, 1970.
67. MELLNICK, K. D.; OSER, B. L.; WEISS, S. Rate of enzyme digestion of protein as a factor in nutrition. *Science (New York)*, 103:326-9, 1946.
68. MITCHELL, H. H.; HAMILTON, T. S.; BEADLES, J. R. The nutritional effects of heat on food proteins with particular reference to commercial processing and home cooking. *J. Nutr.*, 39(3):413-26, 1949.
69. MORA, N. C. de. Estudio de aglutininas en variedades colombianas de 'Phaseolus vulgaris'. *Revta. colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 3:65-93, 1976.
70. MOUDGAL, N. R.; RAGHUPATHY, E.; SARMA, P. S. Studies on goitrogenic agents in foods. III. Goitrogenic action of some glycosides isolated from edible nuts. *J. Nutr.*, 66:291-303, 1958.
71. MOUDGAL, N. R.; SRINIVASAN, V.; SARMA, P. S. Studies on goitrogenic agents in foods. II. Goitrogenic action of arachidic acid. *J. Nutr.*, 61:97-101, 1957.
72. MUELENAERE, H. J. H. Effect of heat treatment on haemagglutinating activity of legumes. *Nature (London)*, 201(2):1029-32, 1964.

73. NITZAN, Z. & LIENER, I. E. Enzymic activities in the pancreas, digestive tract and feces rats fed raw or heated soy flour. *J. Nutr.*, 106:300-5, 1976.
74. NITZAN, Z. & LIENER, I. E. Studies of the digestibility and retention of nitrogen and amino acids in rats fed raw or heated soy flour. *J. Nutr.*, 106(2):292-9, 1976.
75. NOWAKOVÁ, N. & KOCOUREK, J. Phytohemagglutinins. XX. Isolation and characterization of hemagglutinins, from scarlet runner see (*Phaseolus Coccineus*). *Biochem. biophys. Acta.*, 359(2):320-33, 1974.
76. OLDS SCHNEEMAN, B.; CHANG, I.; SMITH, L. B.; LYMAN, R. L. Effect of dietary amino acids, casein, and soybean trypsin inhibitor on pancreatic protein secretion in rats. *J. Nutr.*, 107(2):281-8, 1977.
77. OLSON, R. E.; JABLONSKI, J. R.; TAYLOR, E. The effect of dietary protein, fat, and choline upon the serum lipids and lipoproteins of the rat. *Am. J. clin. Nutr.*, 6:111-8, 1958.
78. OSBORNE, T. B. & MENDEL, L. B. The use of soybean as food. *J. biol. Chem.*, 32:369-76, 1917.
79. OZAWA, K. & LASKOWSKI, M. The reactive site of trypsin inhibitors. *J. biol. Chem.*, 24:3955-61, 1966.
80. PEREIRA, N. S. de *Proteína isolada da soja (Glycineae max). Influência do metabolismo do ácido oléico verificada com o emprego de ¹⁴C*. São Paulo, 1973. Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo.
81. PEREIRA, N. S. de; SAWAYA, P.; ZUCAS, S. M.; BARBÉRIO, J. C. Metabolismo do ácido oléico. Influência de proteína isolada da soja. (*Glycineae max*). *Revta. farm. Bioquím.*, 12:33-45, 1974.
82. PIANIAZEK, D.; RAKOWSKA, M.; KUNACHOWICZ, H. The participation of methionine and cysteine in the formation of bonds resistant to the action of proteolytic enzymes in heated casein. *Br. J. Nutr.*, 34(2):163-73, 1975.
83. POPE, H. O. & PATTEN, J. R. The effect of raw soya bean on in vitro active and passive accumulation by rat small intestine. *Br. J. Nutr.*, 33(2):117-25, 1975.
84. PURDOM, M. E. & BROWN, R. Biological response of rats fed amino acids supplemented pea beans (*Ph. vulgaris*) diets. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 17(2):117-28, 1967.
85. RACKIS, J. J. Physiological properties of soybean trypsin inhibitors and their relationship to pancreatic hypertrophy and growth inhibition of rats. *Fedn. Proc. Fedn. Am. Soc. expl. Biol.*, 24(2):1488-93, 1965.
86. RATTRAY, E. A. S.; PALMER, R.; PUSZTAI, A. Toxicity of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) to conventional and gnotobiotic rats. *J. Sci. Fd. Agric.*, 25:1035-40, 1974.
87. ROY, D. & BHAT R. V. Trypsin inhibitor content in varieties of soybean (*Glycineae max*) and sunflower seeds. *J. Sci. Fd. Agric.*, 25(7):765-9, 1974.
88. SCHINGOETHE, D. J.; AUST, S. D.; THOMAS, J. W. Separation of mouse growth inhibitor in soybeans from trypsin inhibitors. *J. Nutr.*, 100:739-48, 1970.
89. SCHINGOETHE, D. J.; TIDEMANN, L. J.; UCKERT, J. R. Studies in mice on the isolation and characterization of growth inhibitors from soybean. *J. Nutr.*, 104:1304-12, 1974.

90. SHARPLESS, G. R.; PEARSONS, J.; PRATO, G. S. Production of goiter in rats with raw and with treated soybean flour. *J. Nutr.*, 17:545-55, 1939.
91. SHEMER, M. & PERKINS, E. G. Degradation of methionine in heated soybean protein and the formation of β -methyl-mercaptopyruvate. *J. agric. Fd. Chem.*, 23(2):201-4, 1975.
92. SHEMER, M. & PERKINS, E. G. Utilization of heated soybean protein isolate as a dietary source of methionine for rats. *J. Nutr.*, 104:1389-95, 1974.
93. SHRADER, R. E.; FERLATTE, M. J.; HASTINGS-ROBERTS, M. H.; SCHOENBORNE, B. M.; HOERNICKE, CH. A.; ZEMAN, F. J. Thyroid function in prenatally protein-deprived rats. *J. Nutr.*, 107(2):221-9, 1977.
94. SIHOMBING, D. T. H.; CROMWELL, G. L.; HAYS, V. W. Effects of protein source, goitrogens and iodine level on performance and thyroid status of pigs. *J. Anim. Sci.* 39(6):1106-12, 1974.
95. SRINIVASAN, V.; MOUDGAL, N.R.; SARMA, P. S. Studies on goiterogenic agents in food. I. Goiterogenic action on ground nut. *J. Nutr.*, 61:87-96, 1957.
96. TAKAHASHI, T.; RAMACHAUDRAMURTHY, P.; LIENER, I. E. Some physical and chemical properties of phytohemagglutinin isolated from *Phaseolus vulgaris*. *Biochem. biophys. Acta*, 133:123-33, 1967.
97. TIDEMANN, L. J. & SCHINGOETHE, D. J. Use of activated charcoal to remove or inactivate mouse growth inhibitor present in soybean whey. *J. agric. Fd. Chem.*, 22(6):1059-62, 1974.
98. TREADWELL, C. R.; TIDWELL, H. C.; GAST, J. H. The relationship of methionine to fatty liver production and growth. *J. biol. Chem.*, 156:237-46, 1944.
99. TURNER, R. H. & LIENER, I. E. Effect of the selective removal of hemagglutinins on the nutritive value of soybeans. *J. agric. Fd. Chem.*, 23:484-7, 1975.
100. VAN MIDDLESWORTH, L. Thyroxine excretion, as possible cause of goiter. *Endocrinology*, 61:570-3, 1957.
101. VAN WYK, J. J.; ARNOLD, M. B.; WYNN, J.; PEPPER, F. The effects of a soybean product on thyroid function in humans. *Pediatric (Springfield)*, 24:752-60, 1959.
102. WILGUS, JR. H. S.; GASSNER, F. X.; PATTON, A. R.; GUSTAVSON, R. G. The goitrogenicity of soybeans. *J. Nutr.*, 22:43-52, 1941.
103. WILLIAN, J. N. & HURLEBANS, A. J. Response of the liver to prolonged protein depletion. V. Neutral glycerides and cholesterol; production of fatty livers by certain amino acids fed in a protein-free ration. *J. Nutr.*, 85:73-81, 1965.
104. YAGASAKI, K. & KAMETAKA, M. Mechanism of liver lipid accumulation in low protein diet feeding. Part II. Liver lipid accumulation and fatty acid flux in rats fed a low protein diet containing purified whole egg protein. *Agric. Biol. Chem.*, 41:43-8, 1977.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Caixa Postal, 11 049 - Pinheiros
CEP 05508
01000 - São Paulo - SP

Telefone: 211-6011
Endereço Telegráfico - IPENUCLEAR
Telex - (011) 23592 - IPEN - BR