

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SOPAS DESIDRATADAS RICAS EM FIBRA NA REDUÇÃO DO COLESTEROL SANGÜÍNEO EM RATOS

EVALUATION OF THE CHOLESTEROL-LOWERING EFFECT OF HIGH-FIBER DEHYDRATED SOUP IN RATS

Hercia Stampini DUARTE¹

Neuza Maria Brunoro COSTA²

Paulo Fernando da Glória LEAL³

Tânia Toledo OLIVEIRA⁴

RESUMO

Neste estudo foi avaliado o efeito de quatro formulações dietéticas ricas em fibra solúvel na redução de colesterol sangüíneo em ratos. As formulações foram preparadas com farinha de soja desengordurada, farelo de aveia, cebola desidratada, fibra de soja, condimentos e aromas. Duas das formulações continham feijão preto FP(+) e FP(-), nos níveis de 40 e 30%, respectivamente. As outras duas continham feijão vermelho FV(+) e FV(-), nesses mesmos teores. Foram utilizados seis grupos de oito ratos machos, com peso médio inicial de 200g. O grupo Padrão recebeu dieta basal. O grupo Controle recebeu dieta de composição semelhante à Padrão, porém, acrescida de 1% de colesterol cristalino e 0,1% de ácido cólico. As demais dietas foram semelhantes ao grupo Controle, substituídas pelas formulações FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-), de modo a fornecerem 7,4% de fibra total da dieta. Ratos alimentados com dieta do grupo Controle apresentaram aumento significativo dos níveis de colesterol sérico, peso dos fígados, colesterol e lipídio total das fezes e dos fígados, em relação ao grupo recebendo dieta Padrão. As dietas FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-), não diferiram entre si quanto ao efeito nos níveis de lipídios séricos e glicose, no peso e lipídio total dos fígados e no peso, umidade e nitrogênio das fezes. No entanto, reduziram significativamente os níveis sangüíneos de colesterol total em 29,0%, os níveis de HDL - colesterol em 34,0%, o peso dos fígados em 11,7% e o colesterol do fígado em 9,0% em relação à dieta Controle. As dietas de feijão vermelho proporcionaram maior redução de colesterol no fígado e maior excreção de lipídio e colesterol nas fezes comparadas com as de feijão preto.

Termos de indexação: fibra na dieta, colesterol, cereais.

⁽¹⁾ Nutricionista, Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa.

⁽²⁾ Professora, Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

⁽³⁾ Professor, Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

⁽⁴⁾ Professora, Departamento de Bioquímica e Biologia Celular da Universidade Federal de Viçosa.

ABSTRACT

The effect of 4 high fiber dietary formulas on reducing blood cholesterol levels in rats was evaluated in the present study. The products were formulated with defatted soy flour, oat bran, dehydrated onion, soy fiber and spices. Two of them contained black beans, FP(+) or FP(-), at 40 or 30%, respectively. The other two contained red beans, FV(+) or FV(-), at the same levels. Six groups of 8 male rats, with initial body weight of about 200g, were used. The Standard group received a basal diet. The Control group received a similar diet, but it was added 1% of cholesterol and 0.1% of cholic acid. The other diets were similar to the Control one, substituted for the formulas FV(+), FP(+), FV(-) and FP(-) to provide 7.4% of total dietary fiber. Rats fed on Control diet showed a significant increase in their blood cholesterol levels, liver weight and fecal and liver cholesterol and total lipid, in relation to the Standard group. There was no significant difference among the diets FV(+), FP(+), FV(-) and FP(-) in terms of blood levels of cholesterol, triglycerides and glucose, liver weight, liver total lipids, fecal weight and moisture and the output of nitrogen. All the formulas reduced blood cholesterol levels by 29%, HDL-cholesterol by 34%, liver weight by 11.7% and liver cholesterol by 9%, in comparison with the Control diet. The diets containing red beans showed higher reductions of cholesterol in the rat liver and higher output of total lipids and cholesterol than the black bean diets.

Index term: dietary fiber, cholesterol, cereals.

INTRODUÇÃO

Os níveis sanguíneos de colesterol total e da fração LDL-colesterol podem ser elevados pelo consumo de calorias em excesso, gorduras saturadas, colesterol e, possivelmente, proteína animal. Estes níveis podem ser reduzidos por diminuição do peso corporal, substituição de alimentos ricos em ácidos graxos saturados por ácidos graxos poliinsaturados e aumento do consumo de fibra alimentar, especialmente a fração solúvel, que apresenta importante efeito hipocolesterolemizante podendo reduzir assim, o risco de doenças coronarianas (ANDERSON, 1987).

Estudos realizados em ratos foram revistos por SHUTLER et al. (1987), permitindo aos autores as seguintes conclusões: a adição de certas fibras na dieta é acompanhada pela significativa redução na concentração de colesterol sérico; a fração insolúvel (celulose e algumas hemiceluloses) possui pouca influência nos níveis de colesterol sérico; a fração solúvel (pectinas, gomas, mucilagens e algumas hemiceluloses) exerce efeito hipocolesterolemizante significativo; a redução dos níveis séricos de colesterol é acompanhada pela redução do conteúdo de colesterol no fígado, na aorta e em outros tecidos; a redução do colesterol é verificada principalmente na fração LDL-colesterol; e os níveis de HDL-colesterol encontram-se ora aumentados, ora reduzidos.

ANDERSON et al. (1994) compararam o efeito de 10 diferentes tipos de fibra da dieta nos níveis de lipídios séricos e do fígado em ratos recebendo dieta acrescida de 10 g de colesterol e 2g de ácido cólico/kg de dieta e com 60g de fibra/kg de dieta, durante três semanas. A celulose foi usada como fonte de fibra no grupo Controle. Ratos alimentados com *psyllium*, goma de aveia, goma guar e pectina tiveram significativa redução na concentração de colesterol sérico e hepático em comparação ao grupo de ratos alimentados com celulose, como fonte de fibra. Além disso, em ratos alimentados com dietas contendo fibra solúvel e insolúvel (soja, farelo de aveia) não houve alteração significativa no colesterol sérico, mas valores de colesterol hepático foram reduzidos em relação ao grupo Controle. Ratos alimentados com farelo de arroz tiveram aumento significativo de colesterol no fígado, perda de peso e redução na concentração de triacilgliceróis quando comparados ao grupo controle. Valores de colesterol do fígado e do plasma foram similares aos dos ratos ingerindo farelo de milho, farelo de trigo e celulose.

Os mecanismos pelos quais uma dieta rica em leguminosa pode influenciar os lipídios sanguíneos são vários. O feijão é rico em proteína, fibra solúvel e saponinas, e tem sido demonstrado que todas essas substâncias influenciam o metabolismo de colesterol e a excreção de ácidos biliares em homens e animais

experimentais (JENKINS et al., 1983). Feijões comuns e outras leguminosas também contêm quantidade variável de polifenóis que exercem efeito hipocolesteremiante em ratos alimentados com dieta rica em colesterol (TEBIB et al., 1994). Sabe-se que o teor de polifenóis no feijão está relacionado com a cor da semente, ressaltando-se que o branco possui quantidades muito baixas, enquanto o vermelho e o preto apresentam níveis significativamente maiores (STANLEY et al., 1990)

A fibra alimentar, solúvel em água, pode ser um fator chave na redução da hipercolesterolemia. Diversos estudos em humanos e animais, utilizando componentes isolados da fração solúvel da fibra (pectina, goma guar e mucilagem) ou produtos com elevada concentração desta, como aveia, feijão, soja, cevada e certas frutas e vegetais, têm demonstrado significativa redução dos níveis de colesterol total e LDL-colesterol, particularmente em dietas contendo elevado teor de lipídios e colesterol (CHEN et al., 1981; COSTA, 1992; ANDERSON et al., 1994).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de quatro formulações dietéticas, na forma de sopa

desidratada, ricas em fibra solúvel destinadas ao controle da hipercolesterolemia.

MATERIAL E MÉTODOS

Elaboração das formulações

Foram elaboradas quatro formulações dietéticas com um teor de fibra alimentar total de 21%, contendo farinha de soja desengordurada, farelo de aveia, cebola desidratada, fibra de soja, condimentos e aromas. Duas das formulações continham feijão preto, FP(+) ou FP(-), nos níveis de 40 e 30%, respectivamente. As outras duas formulações continham feijão vermelho (FV+) e (FV-), nesses mesmos teores. A composição das formulações é mostrada na Tabela 1. A porcentagem de cada ingrediente e a adição de condimentos e saborizantes utilizados na formulação foram determinadas por meio de testes preliminares até se obter um produto em pó com características físico-químicas e sensoriais desejáveis, definidas pela equipe de pesquisadores.

Tabela 1. Composição das formulações dietéticas (g/100 g da mistura).

Ingredientes	Formulações			
	FP(+)	FP(-)	FV(+)	FV(-)
Farinha de soja desengordurada	8,0	9,0	8,0	9,0
Farelo de aveia	14,0	12,0	14,0	12,0
Farinha de feijão vermelho	-	-	40,0	30,0
Farinha de feijão preto	40,0	30,0	-	-
Fibra de Soja <i>Fibra Rich</i>	17,0	28,0	17,0	28,0
Cebola desidratada	4,0	4,0	4,0	4,0
Aromas e condimentos	17,0	17,0	17,0	17,0

O farelo de aveia da marca QUAKER e o feijões foram adquiridos no mercado local de Viçosa, MG. O feijão foi limpo de suas impurezas, adicionado de água na proporção de 3:1. Em seguida procedeu-se a cocção em panela de pressão doméstica durante 1 hora e, depois, juntamente com o caldo, foi seco em estufa a 60°C, com ar forçado, por 24 horas, com posterior moagem em moinho de navalha para obtenção da farinha.

A cebola foi descascada manualmente, fatiada em multiprocessador (Walita-Master P), submetida a sulfitação por cinco minutos em solução de bissulfito

de sódio a 0,1%, sendo posteriormente desidratada em estufa a 55°C, com ar forçado, durante 36 horas, com posterior moagem.

A fibra de soja *Fibra Rich* é um produto com alto conteúdo de fibra celulósica e não-celulósica constituinte da membrana celular dos cotilédones da soja, obtido a partir de farinha desengordurada fornecida pela Sociedade Algodoeira do Nordeste Brasileiro (SANBRA) e a farinha de soja desengordurada foi fornecida pela Indústria e Comércio de Óleos Vegetais (OLVEBRA).

Os condimentos (sal, urucum, caldo de carne granulado, pasta de alho, nos-moscada em pó) foram adquiridos no mercado local e os aromas originários da Proteína Vegetal Hidrolizada na *Food Ingredients Specialities* (FIS).

Ensaio biológico

As dietas experimentais foram preparadas de modo a apresentarem teores de carboidrato, lipídio, proteína e relação P/S (ácidos graxos poliinsaturados/saturados) semelhantes às dietas de indivíduos hipercolesterolêmicos de Viçosa - MG, de acordo com o levantamento feito por BERDAGUE et al. (1996).

Planejou-se um teor de 15,5% de energia das dietas provenientes de proteínas, 52,2% de

carboidratos, 32,2% de lipídios e 0,54% de relação P/S. A composição das dietas experimentais é apresentada na Tabela 2. As dietas Controle, FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-), foram adicionadas de 1,0% de colesterol cristalino e 0,1% de ácido cólico, visando a indução de hipercolesterolemia nos ratos, segundo modelo experimental sugerido por COSTA (1992). As dietas Padrão e Controle foram acrescidas de celulose, como fonte de fibra alimentar, numa proporção equivalente ao teor de fibra das dietas contendo as formulações. A adição de cerca de 35,4% de formulado em base seca nas dietas foi baseada em estudos feitos por SHUTLER & LOW (1988) e COSTA et al. (1994), que utilizaram 30% de feijão em base seca em dietas para porcos, de forma que os 35,4% de formulado na dieta apresentassem um teor de fibra semelhante ao encontrado em uma dieta com 30,0% de feijão.

Tabela 2. Composição das dietas experimentais (g/100g da mistura).

Ingredientes	Dietas					
	Padrão	Controle	FV(+)	FP(+)	FV(-)	FP(-)
Caseína	20,18	19,98	8,83	8,33	9,33	9,08
Celulose	6,90	6,90	-	-	-	-
Amido de milho	53,45	52,73	36,18	34,31	39,11	37,78
Óleo de soja	3,81	3,76	2,96	2,91	3,00	3,03
Gordura hidrogenada	10,95	10,81	10,05	10,00	10,08	10,11
Formulado FV(+)	-	-	36,16	-	-	-
Formulado FP(+)	-	-	-	38,63	-	-
Formulado FV(-)	-	-	-	-	32,66	-
Formulado FP(-)	-	-	-	-	-	34,18
Mistura vitamínica*	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Mistura salina*	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
Colesterol	-	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Ácido cólico	-	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Cloreto de colina	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

*Fonte: AMERICAN... (1977).

As dietas contendo os formulados tiveram suas composições em lipídio, proteína, amido e celulose ajustadas em função da adição dos formulados, de modo a oferecer teores desses nutrientes semelhantes às dietas Padrão e Controle. A caseína contém 79,9% de proteína.

A proporção de gordura hidrogenada e óleo de soja utilizados foi determinada visando obter uma relação P/S igual 0,54.

As dietas foram analisadas quanto aos teores de umidade e lipídios totais (INSTITUTO..., 1985), cinzas e proteínas (ASSOCIATION..., 1975). O carboidrato foi determinado por diferença percentual. O teor de fibras foi obtido da literatura e de informações do fornecedor. O valor calórico (kcal/100g) foi obtido pela soma das quantidades de proteína, carboidrato e lipídio e, a partir desse valor foi calculado o percentual de caloria para cada nutriente. Esses dados obtidos

foram submetidos a uma análise de variância utilizando teste Tukey a 5% de probabilidade.

Utilizaram-se 48 ratos machos, da raça Wistar, com peso inicial de aproximadamente 200g, mantidos em gaiolas individuais, em ambiente de temperatura controlada (26°C + 3°C) e com ciclo claro-escuro de 12 horas. Os animais foram distribuídos em seis grupos experimentais (n=8), assim denominados: Padrão, Controle, FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-).

As dietas experimentais em pó e água destilada foram oferecidas *ad libitum* por 28 dias. Os pesos dos animais foram monitorados semanalmente, bem como a ingestão alimentar, calculando-se assim o ganho de peso e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA), onde:

$$CEA(\%) = \frac{\text{ganho de peso (g)} \times 100}{\text{consumo alimentar (g)}}$$

De acordo com o modelo de delineamento inteiramente casualizado, realizou-se a análise de variância (ANOVA). Para valores de F significativo, utilizou-se teste de Tukey a 5% de probabilidade, para comparação entre as médias dos tratamentos; a dispersão dos dados foi expressa em erro padrão da média (EPM).

As fezes de sete dias consecutivos foram colhidas na última semana do experimento. As dietas foram marcadas com carmim (200mg/100g de dieta) para identificar o início e final do período de coleta. As fezes foram condicionadas em recipientes individuais para cada rato e mantidas sob refrigeração. Posteriormente, foram pesadas e secas em estufa com circulação de ar a 105°C, durante 24 horas, e pesadas novamente para determinação do peso seco. Depois foram trituradas em moinho de navalha e congeladas a -18°C para análises posteriores.

No final do experimento, os ratos foram anestesiados com éter etílico e submetidos a uma incisão das cavidades abdominal e torácica para coleta de sangue por punção cardíaca, utilizando seringas descartáveis.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 1500g por 15 minutos para retirada do soro, que foi estocado a -18°C, para análises.

Os fígados foram retirados, lavados em solução salina a 0,85%, pesados e estocados a -18°C, para posteriores análises.

Análises

A análise de colesterol total foi realizada baseando-se na metodologia proposta por ALLAIN et al. (1974), utilizando o *kit* enzimático da marca Analisa (COD-ANA, Cat.260).

O HDL-colesterol foi determinado, seguindo-se a metodologia proposta por WARNICK et al. (1982). As lipoproteínas VLDL e LDL e os quilomícrons foram separadas das HDL, mediante a adição de um reagente precipitante. Após a centrifugação, o colesterol HDL foi dosado no sobrenadante, utilizando-se o *kit* para determinação do HDL, marca Analisa (COD-ANA, cat. 213).

Os triacilgliceróis foram analisados baseando-se na metodologia proposta por FOSSATI & PRENCIPE (1982), utilizando o *kit* enzimático da marca Analisa (COD-ANA, Cat.259).

A glicose foi analisada baseando-se na metodologia proposta por LOTT & TURNER (1975), utilizando o *kit* enzimático da marca Bioclin (COD.GOD-CLIN, Cat.K022).

A análise dos lipídios totais foi feita seguindo metodologia proposta pela *Association of Official Analytical Chemists* (ASSOCIATION..., 1975) tanto nos fígados como nas fezes. Os fígados foram previamente macerados em cadinho de porcelana, as fezes trituradas e desengorduradas em cartucho de celulose durante oito horas em aparelho de Soxhlet, usando éter de petróleo como solvente.

O colesterol total, no fígado e nas fezes dos animais, foi determinado conforme metodologia proposta por LIMA et al. (1985).

Foi realizada análise de nitrogênio total em amostras de fezes secas e desengorduradas, pelo método semi-micro Kjeldhal, em triplicata, de acordo com metodologia proposta pela *Association of Official Analytical Chemists* (ASSOCIATION..., 1975).

A determinação de umidade nas fezes foi realizada baseando-se na metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO..., 1985).

Os resultados das análises entre os tratamentos foram comparados por contraste a 5% de probabilidade e a dispersão dos dados foi expressa em erro padrão da média (EPM). Comparou-se o grupo Padrão com o Controle, para verificar o efeito do colesterol e ácido cólico adicionados às dietas experimentais na

produção de hipercolesterolemia nos ratos. Comparou-se o grupo Controle com os formulados e os grupos FV(+) com FV(-), FP(+) com FP(-) e FV(+) e (-) com FP(+) e (-), para verificar o efeito dos teores e das variedades de feijão na redução dos níveis séricos de colesterol e glicose, na deposição de colesterol nos fígados e excreção nas fezes dos ratos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dietas

Verifica-se na Tabela 3 a composição centesimal das formulações FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-). Esses resultados serviram de base para o estabelecimento da composição das dietas experimentais no ensaio biológico.

Tabela 3. Composição centesimal das formulações FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-) (g/100 g).

Composição	FV(+)	FP(+)	FV(-)	FP(-)
Proteínas	22,3	22,1	23,2	23,1
Lipídios	2,9	2,9	2,9	2,9
Carboidratos	43,3	45,5	40,3	41,9
Umidade	7,9	7,1	7,9	9,3
Cinzas	3,1	3,1	3,1	3,1
Fibra total*	20,5	19,2	22,7	21,7

* Dados obtidos de tabelas de composição de alimentos (FRANCO, 1992; MENDEZ et al., 1993) e de informações do fornecedor.

Verifica-se na Tabela 4 que as dietas experimentais são isocalóricas e isotérmicas. A diferença, encontrada entre os teores de lipídio da dieta Padrão e os das demais dietas, pode ser atribuída ao colesterol e ao ácido cólico acrescidos nessas dietas, o que não ocorreu na dieta Padrão.

O ganho de peso e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA) não apresentaram diferença significativa entre os grupos experimentais (Tabela 5).

Metabólitos sanguíneos

Observou-se neste estudo que a adição de colesterol e ácido cólico às dietas experimentais foi eficaz na produção de hipercolesterolemia nos ratos,

pois verificou-se aumento de 57,4% dos níveis de colesterol sérico dos ratos recebendo dieta Controle em comparação ao grupo Padrão (Tabela 6). Estudos prévios realizados por COSTA (1992) demonstraram essa veracidade da produção de hipercolesterolemia em ratos recebendo dietas com 1% de colesterol e 0,1% de ácido cólico. O ácido cólico potencializa o efeito da suplementação de colesterol em razão da sua capacidade emulsificante, o qual aumenta a absorção de colesterol e reduz sua excreção fecal.

Ao comparar as dietas FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-), verificou-se que estas não diferiram entre si quanto ao efeito dos níveis de colesterol total, entretanto, reduziram significativamente os níveis de colesterol, em torno de 29%, em relação ao grupo Controle.

CHANG et al. (1986); RIGOTTI et al. (1989) e COSTA (1992) demonstraram efeitos similares na redução dos níveis séricos de colesterol utilizando alimentos com teores elevados em fibra solúvel, como feijão ou farelo de aveia.

Alguns mecanismos de ação propostos podem explicar o efeito desses formulados, constituídos de alimentos ricos em fibra solúvel, afetando os níveis séricos de colesterol. ANDERSON (1987) e GLORE et al. (1994) sugeriram que a fibra solúvel agiria no trato gastrointestinal, ligando-se aos ácidos biliares, inibindo sua reabsorção no intestino delgado, levando à interrupção da circulação entero-hepática e reduzindo o *pool* de ácido biliar total, com conseqüente redução do colesterol sérico, por ser utilizado para repor o *pool* de ácidos biliares. A reduzida absorção de colesterol e ácidos biliares em virtude da intervenção das fibras na formação de micelas pode alterar o tamanho das partículas de lipoproteínas formadas pela mucosa intestinal.

NAGATA et al. (1982), assim como SIRTORI et al. (1984), demonstraram alterações no metabolismo de colesterol, ou seja, aumento na síntese de colesterol e ácidos biliares, bem como na atividade do receptor para LDL-colesterol, quando ratos foram alimentados com dietas acrescidas de proteína de soja, levando maior remoção do colesterol do sangue via receptor LDL e reduzindo as concentrações de colesterol e, particularmente, a fração LDL-colesterol.

A redução dos níveis de colesterol sérico neste experimento pode ser devida à ação desses fatores atuando em conjunto ou isoladamente, afetando os níveis séricos de colesterol.

Tabela 4. Composição das dietas experimentais utilizadas no ensaio biológico.

		Dietas					
		Padrão	Controle	FV(+)	FP(+)	FV(-)	FP(-)
Umidade	g/100g	9,37	8,99	8,93	9,32	8,94	8,49
Proteína	g/100g	17,53	18,91	19,02	18,01	17,56	18,21
	% energia	17,95	18,85	19,30	18,32	17,74	18,33
Lipídio	g/100g	13,33	15,11	15,05	15,09	15,10	15,22
	% energia	30,71	33,90	34,35	34,54	34,34	34,47
Carboidrato	g/100g	50,13	47,39	45,69	46,35	47,41	46,9
	% energia	51,34	47,25	46,35	47,14	47,92	47,20
Cinza	g/100g	2,64	2,70	3,44	3,36	3,12	3,31
Fibra total*	g/100g	7,00	6,90	7,87	7,87	7,87	7,87
Energia	Kcal/100g	390,60	401,19	394,29	393,25	395,78	397,42

* Dados obtidos de tabelas de composição de alimentos (FRANCO, 1992; MENDEZ et al., 1993) e de informações do fornecedor.

Tabela 5. Peso inicial (PI), peso final (PF) e ganho de peso (GP) dos ratos e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) das dietas experimentais.

Dietas	PI*	PF*	GP*	CEA*
	g			%
Padrão	216,20	299,38	83,13	18,84
Controle	216,38	308,63	92,25	18,95
FV(+)	216,005	302,63	104,63	20,59
FP(+)	215,75	308,00	92,25	18,81
FV(-)	218,44	323,25	106,75	19,60
FP(-)	215,75	313,63	97,88	19,82
EPM	4,87	8,79	6,31	0,80

* As médias encontradas não diferem estatisticamente entre si, na coluna, pelo teste F, por ANOVA, a 5% de probabilidade.
EPM: erro padrão da média

A Tabela 6 apresenta as médias dos níveis de HDL-colesterol dos grupos experimentais. Observa-se que os níveis de HDL-colesterol não foram alterados com a adição de colesterol e ácido cólico ao se comparar os grupos Padrão e Controle, apesar de o grupo Controle ter apresentado nível significativamente maior de colesterol total. Isto indica que o aumento do colesterol total foi devido à elevação nos níveis das lipoproteínas de baixa densidade (LDL e/ou VLDL-colesterol).

Os níveis de HDL-colesterol dos grupos FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-) foram significativamente reduzidos, em torno de 34%, quando comparados ao grupo Controle, não ocorrendo diferença estatisticamente significativa, entre as formulações.

A relação HDL-colesterol/colesterol total no grupo Padrão foi de 0,75; no grupo Controle, de 0,49; e entre os grupos recebendo as formulações, em torno de 0,45, denotando que a redução de colesterol total nos grupos recebendo as formulações foi em grande parte devida à redução dos níveis de HDL-colesterol. Esse resultado não é positivo, pois quanto menor esta relação, maior é o risco de ocorrer doenças cardiovasculares, visto que a fração HDL-colesterol está correlacionada com a inibição da deposição das LDL nas paredes arteriais e com o transporte reverso de colesterol (STEINBERG, 1978).

Estudos com ratos utilizando dietas contendo feijão e/ou fibra solúvel apresentaram redução (RIGOTTI et al., 1989; NISHINA et al., 1991), aumento (CHEN et al., 1981; ROTENBERG & EGGUM, 1986; NEY et al., 1988; COSTA, 1992) ou nenhum efeito (SHARMA, 1984) nos níveis séricos de HDL-colesterol. Tal inconsistência nos resultados pode ser atribuído à presença em ratos de uma fração a mais de HDL-colesterol, rica em apoproteína E, a qual não está presente no plasma de humanos (SJOBLAN & EKLUND, 1989). Portanto, é possível que o efeito do feijão no HDL-colesterol pode ser diferente entre espécies e, neste caso, ratos podem não ser um bom modelo para estudar o efeito do feijão nos níveis plasmáticos de HDL-colesterol. Assim, algumas vezes, os resultados encontrados em estudos com ratos não são observados em humanos.

Tabela 6. Médias de colesterol total, HDL-colesterol, triacilgliceróis e glicose do soro sanguíneo (mg/dl) de ratos alimentados com dietas experimentais por 28 dias.

Dietas	Colesterol total	HDL-colesterol	Triacilgliceróis	Glicose
Padrão	76,01	57,68	73,21	167,31
Controle	119,67	58,64	51,10	123,75
FV(+)	82,77	34,06	51,52	137,79
FP(+)	94,67	42,21	45,77	135,58
FV(-)	81,39	38,75	51,84	161,73
FP(-)	82,08	38,72	49,91	129,81
EPM	6,60	3,86	4,55	18,07
Padrão x Controle	S	NS	S	NS
Controle x formulados	S	S	NS	NS
FV(+) x FV(-)	NS	NS	NS	NS
FP(+) x FP(-)	NS	NS	NS	NS
FV(+) (-) x FP(+) (-)	NS	NS	NS	NS

S= Contraste significativo pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

NS= Contraste não significativo pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

EPM= Erro padrão da média

Observou-se que a adição de colesterol e ácido cólico no grupo Controle reduziu significativamente os níveis de triacilgliceróis em torno de 30%, em comparação ao grupo Padrão (Tabela 6). Mas, quando se ofereceu aos ratos rações hipercolesterolemiantes acrescidas com as formulações, estas não diferiram estatisticamente do grupo recebendo dieta Controle, e nem entre si, quanto ao efeito nos níveis de triacilgliceróis. Estes dados concordam com os de DERIVI & MENDEZ (1983) que ao utilizarem coelhos recebendo rações normais e hipercolesterolemiantes à base de feijão, estes não alteraram os níveis de triacilgliceróis. O mesmo foi observado por COSTA (1992) em ratos. No entanto, CHEN et al. (1981) verificaram redução destes níveis quando ratos receberam uma dieta rica em fibra solúvel.

Verificou-se também na Tabela 6 que a adição de colesterol às dietas não provocou alteração significativa nos níveis de glicose sanguínea, quando se comparou com o grupo Padrão. Similarmente, a adição dos formulados nas dietas não causou mudança significativa nos níveis de glicose sanguínea, ao se comparar com o grupo Controle e entre as dietas FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-). Contudo, tem-se sugerido que ratos diabéticos, ao receberem dietas ricas em fibra solúvel, reduzem os níveis séricos de glicose (DERIVI et al., 1987) e de lipídios (FREITAS, 1993).

Neste estudo não foi evidenciado efeito nos níveis de glicose em ratos ingerindo dieta contendo fibra solúvel, provavelmente pelo fato de se ter trabalhado com ratos normoglicêmicos.

Fígado

A média de peso dos fígados dos ratos alimentados com as dietas experimentais por 28 dias é apresentada na Tabela 7. Os ratos alimentados com dieta Controle apresentaram aumento significativo no peso dos fígados em comparação ao grupo de animais alimentados com a dieta Padrão, em virtude da adição de colesterol e ácido cólico nas dietas experimentais, o que está de acordo com MARTINS & DHOPEHWARKAR (1982) e COSTA (1992). Esse aumento de peso dos fígados pode estar associado com a deposição de lipídios (RIDOUT et al., 1954; TAWDE & DAS, 1962; MEIJER et al., 1987), água (RIDOUT et al., 1954), proteína (TAWDE & DAS, 1962) e glicogênio (MEIJER et al., 1987) no fígado. Os animais dos grupos FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-) apresentaram redução significativa, em torno de 11,7%, no peso dos fígados em relação ao grupo Controle, mas foram maiores em relação ao grupo Padrão.

Tabela 7. Médias do peso úmido, lipídios totais e colesterol total dos fígados de ratos alimentados com dietas experimentais por 28 dias.

Dieta	Peso úmido (g)	Lipídios totais (g/100 g)	Colesterol total (g/100 g)
Padrão	9,16	0,51	0,19
Controle	15,08	2,45	0,35
FV(+)	13,61	2,04	0,19
FP(+)	12,87	2,56	0,45
FV(-)	13,42	1,70	0,28
FP(-)	13,35	2,01	0,41
EPM	0,55	1,07	0,19
Padrão x Controle	S	S	NS
Controle x formulados	S	NS	S
FV(+) x FV(-)	NS	NS	NS
FP(+) x FP(-)	NS	NS	NS
FV(+) (-) x FP(+) (-)	NS	NS	S

S= Contraste significativo pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

NS= Contraste não significativo pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

EPM= Erro padrão da média.

Verifica-se na Tabela 7 o efeito das dietas contendo colesterol e ácido cólico no aumento da deposição de lipídios no fígado dos animais. O grupo Controle apresentou, em relação ao Padrão, aumento significativo próximo a 380% dos lipídios no fígado. O grupo Controle também apresentou, em relação ao Padrão, aumento do colesterol no fígado, porém ele não foi significativo. Essa retenção pode ser devida ao fato de ratos tenderem a acumular lipídios no fígado ao receberem uma dieta rica em colesterol (COSTA, 1992). Dados de literatura são concordantes com esses efeitos (MARTINS & DHOPESHWARKAR, 1982; COSTA, 1992; ANDERSON et al. 1994; JACKSON et al., 1994) quando ratos foram alimentados com colesterol e ácido cólico.

A adição dos formulados aos grupos FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-) não promoveu alterações significativas na deposição de lipídios nos fígados dos animais, quando comparados ao grupo Controle, apesar da média de pesos dos fígados dos animais com essas dietas terem sido significativamente menores do que os da dieta Controle. Isto indica que outros compostos além dos lipídios são depositados no fígado dos ratos recebendo dieta Controle, como água (RIDOUT et al., 1954), proteína (TAWDE & DAS, 1962) e glicogênio (MEIJER et al., 1987).

A redução do colesterol do fígado pelas dietas FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-) foi significativa, em torno de 5,7% comparadas com a dieta Controle, e as dietas de feijão vermelho apresentaram maior redução de colesterol no fígado, comparadas com as de feijão preto. Tem sido demonstrado que o colesterol do fígado é reduzido em ratos alimentados com dietas contendo leguminosas, farelo de aveia ou fibra solúvel (ANDERSON et al., 1994; JACKSON et al., 1994), apesar de não ter ocorrido redução em outros estudos (KRITCHEVSKY et al., 1984; NISHIMA et al., 1991).

Fezes

As médias de peso úmido das fezes dos animais são apresentadas na Tabela 8. O peso fecal não diferiu estatisticamente entre os grupos Padrão e Controle, mas verificou-se um aumento significativo, de 25% no seu peso úmido nos grupos FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-), em relação ao grupo Controle. Este aumento do peso das fezes pode ser explicado pelo maior teor de fibra solúvel contido nessas dietas, pois estas têm a propriedade de aumentar a massa microbiana e o teor de umidade e, indiretamente, levar ao aumento do peso fecal (SCHNEEMAN, 1989).

Tabela 8. Média do peso úmido, peso seco e nitrogênio, lipídios totais e colesterol total das fezes, em base seca.

Dieta	Peso úmido (g)	Peso seco (g)	Nitrogênio (g/100 g)	Lipídios totais (g/100 g)	Colesterol total (g/100 g)
Padrão	7,92	6,13	1,60	5,24	0,25
Controle	9,03	7,06	1,77	8,48	1,47
FV(+)	11,18	7,99	3,52	7,72	2,56
FP(+)	12,58	8,60	3,16	6,34	1,64
FV(-)	10,20	7,06	3,08	8,27	2,03
FP(-)	11,25	7,35	3,09	6,14	2,29
EPM	0,69	0,37	0,85	2,05	0,52
Padrão x Controle	NS	NS	NS	S	S
Controle x formulados	S	NS	S	S	S
FV (+) x FV (-)	NS	NS	NS	NS	NS
FP (+) x FP (-)	NS	S	NS	NS	S
FV (+) (-) x FP (+) (-)	NS	NS	NS	S	S

S= Contraste significativo pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

NS= Contraste não significativo pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

EPM= Erro padrão da média.

Ao analisar o peso seco das fezes verificou-se que o grupo Padrão não diferiu estatisticamente do grupo Controle, e este não diferiu significativamente dos grupos recebendo as formulações. Houve diferença significativa entre os grupos de feijão preto FP(+) e FP(-). Estudos realizados por KRITCHEVSKY et al. (1984), VAHOUNY et al. (1988) e COSTA (1992) demonstraram que dietas ricas em fibra solúvel promoveram redução no peso seco das fezes dos ratos. ANDERSON et al. (1984) demonstraram, em estudos com humanos, que a ingestão de feijão não afetou o peso seco das fezes.

O aumento do peso úmido das fezes nos grupos contendo as formulações pode ser devido ao efeito da fibra solúvel, pois sabe-se que esta apresenta alta capacidade de retenção de água, aumentando o volume fecal.

Observa-se aumento significativo, em torno de 81,35%, da excreção de nitrogênio nas fezes dos grupos FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-), comparado com o grupo Controle (Tabela 8).

A fração insolúvel da fibra aumenta o volume e o nitrogênio fecal devido a sua reduzida degradação pela microflora bacteriana e pelo aumento da excreção de proteína ligada à parede da célula. Já a fração solúvel aumenta o volume e o nitrogênio fecal em

virtude de uma excreção aumentada de nitrogênio microbiano. Os fatores antinutricionais, por estarem associados com partes fibrosas das plantas, também têm efeito negativo na digestibilidade da proteína (EGGUM, 1992), aumentando a excreção de nitrogênio fecal.

Pode-se observar que a adição de colesterol e ácido cólico provocou aumento na excreção de lipídios totais e colesterol total nas fezes do grupo Controle, em relação ao grupo Padrão (Tabela 8). Nos grupos FV(+), FP(+), FV(-) e FP(-) houve redução na excreção de lipídios totais nas fezes em torno de 16% ($P < 0,05$), em relação ao grupo Controle, e nos grupos com feijão vermelho a excreção de lipídios totais foi maior ($P < 0,05$) do que nos de feijão preto.

Nos grupos que receberam as formulações também houve perda significativa de colesterol pelas fezes, quando comparados ao grupo Controle, e os grupos de feijão vermelho induziram maior excreção de colesterol, quando comparados com os grupos de feijão preto. Esse efeito pode justificar a menor quantidade de colesterol total presente no fígado (Tabela 7) desses animais, ou seja, as dietas de feijão vermelho levaram a uma maior excreção de colesterol pelas fezes, reduzindo sua deposição no fígado dos animais.

Segundo TOPPING et al. (1980), saponinas combinam com colesterol e ácido cólico no intestino, formando mistura com as micelas e, conseqüentemente, aumentando a excreção de esteróides neutros e ácidos nas fezes. SHUTLER et al. (1987) ao reverem vários estudos com leguminosas, verificaram que esteróides de plantas podem competir com o colesterol, inibindo sua absorção. RIGOTTI et al. (1989) ao verificarem o efeito de uma dieta à base de feijão em ratos, concluíram que componentes do feijão, como saponinas e fibras, induzem aumento da colesterogênese hepática, redução na esterificação de colesterol hepático, aumentando a excreção de colesterol pelas fezes, e, conseqüentemente, redução do colesterol sanguíneo.

CONCLUSÃO

As formulações não diferiram entre si quanto ao efeito nos níveis de lipídios séricos e glicose, no peso e teor de lipídios totais das fezes e dos fígados. No entanto, elas reduziram significativamente os níveis sanguíneos de colesterol total em torno de 29%, os níveis de HDL-colesterol em 34%, o peso dos fígados em 11,7% e o colesterol do fígado em 9%, em relação à dieta Controle. As dietas de feijão vermelho apresentaram maior redução do colesterol no fígado e maior excreção de lipídios e colesterol nas fezes, comparadas com as dietas de feijão preto. Houve aumento no peso, na umidade e no nitrogênio das fezes dos ratos recebendo dietas contendo as formulações, em relação ao grupo Controle.

Portanto, as formulações mostraram-se eficazes na redução do colesterol sanguíneo, e as de feijão vermelho apresentaram resultados mais satisfatórios, sendo promissoras no controle dietético da hipercolesterolemia. A redução significativa dos níveis de HDL-colesterol é um fator negativo, uma vez que o HDL é um fator de proteção para doenças cardiovasculares. Estudos em humanos se tornam necessários para melhor elucidação do efeito das formulações no colesterol sanguíneo e suas frações lipoprotéicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAIN, C.C., POON, L.S., CHAN, C.S.G., RICHMOND, W., FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry*, Washington DC, v.20, n.4, p.470-475, 1974.
- AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION. Report of the American Institute of Nutrition *ad hoc* committee on standards for nutritional studies. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.107, n.7, p.1340-1348, 1977.
- ANDERSON, J.W. Dietary fiber, lipids and atherosclerosis. *American Journal of Cardiology*, New York, v.60, n.12, p.17-22, 1987.
- ANDERSON, J.W., JONES, A.E., RIDDELL-MASON, E. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *Journal of the Nutrition*, Bethesda, v.124, n.1, p.78-83, 1994.
- ANDERSON, J.W., STORY, L., SIELING, B., CHEN, W.J.L., PETRO, M.S. STORY, J.A. Hypocholesterolemic effects of oat bran or bean intake for hypercholesterolemic men. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.40, n.6, p.1146-1155, 1984.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. Washington DC, 1975. 1094p.
- BERDAGUE, C, NUNES, R.M., ROSA, CO..B., COSTA, N.M.B. Estudo da ingesta alimentar de indivíduos hipercolesterolêmicos da cidade de Viçosa, MG. *Oikos*, v.9, 1996 (no prelo).
- CHANG, K.C., ETHEN, R., HANOLD, R., BROWN, G. Effect of feeding dry beans on rat plasma cholesterol. *Nutrition Reports International*, Los Altos, v.33, n.4, p.659-664, 1986.
- CHEN, W.J.I., ANDERSON, J.W., GOULD, M.R. Effects of oat bran, guar gum and pectin on lipid metabolism of cholesterol-fed rats. *Nutrition Reports International*, Los Altos, v.24, n.6, p.1093-1098, 1981.
- COSTA, N.M.B. *Investigation in to the cholesterol lowering property of baked bean (Phaseolus vulgaris)*. Reading, 1992. 200p. These (Doutorado em Ciência de Alimentos - Nutrição Humana) - University of Reading, 1992.
- COSTA, N.M.B., L.O.W., A.G., WALKER, A.F., OWEN, R.W., ENGLYST, H.N. Effect of beaked beans (*Phaseolus vulgaris*) on steroid metabolism and non-starch polysaccharide output of hypercholesterolaemic pigs with or without an ileo-rectal anastomosis. *British Journal of Nutrition*, London, v.70, n.6, p.871-886, 1994.
- DERIVI, S.C.N., MENDEZ, M.H.M. Influência de rações à base de leguminosas sobre os níveis de triglicéridios e lipídios totais no soro sanguíneo e de lipídios totais nas fezes, em coelhos. *Revista Brasileira de Farmácia*, São Paulo, p.5-10, jan./jun., 1983.

- DERIVI, S.C.N., MENDEZ, M.H.M, RODRIGUES, M.C.R., FERNANDES, M.L., SILVA, M.F. Ação da fibra solúvel-pectina sobre os níveis glicêmicos, em ratos. *Revista Brasileira de Farmácia*, São Paulo, v.68, p.1-17, 1987.
- EGGUM, B. O. The influence of dietary fibre on protein digestion and utilisation. In: SCHWEIZER, T. F., EDWARDS, C. A. *Dietary fibre: a component of food*. Londres: Springer-Verlag, 1992. p.153-165.
- FOSSATI, P., PRENCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*, Washington DC, v.28, n.10, p.2077-2080, 1982.
- FRANCO, G. *Tabela de composição química dos alimentos*. 9.ed. São Paulo: Atheneu, 1992. 307p.
- FREITAS, M.C.J. *Elaboração de um produto rico em fibra para indivíduos diabéticos*. Rio de Janeiro, 1993. 110p. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1993.
- GLORE, S.R., TREECK, D.V., KNEHANS, A.W., MARINELL, G. Soluble fiber and serum lipids: a literatura review. *Journal of the American Dietetic Association*, Chicago, v.94, n.4, p.425-436, 1994.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas*. 3.ed. São Paulo, 1985. v.1.
- JACKSON, K.A., SUTER, D.A.I., TOPPING, D.L. Oat bran, barley and malted barley, lower plasma cholesterol relative to wheat bran but differ in their effects on liver cholesterol in rats fed diets with and without cholesterol. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.124, n.9, p.1678-1684, 1994.
- JENKINS, D. J., WONG, G. S., PATTEN, R. et al. A. Leguminous seeds in the dietary management of hyperlipidemia. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.38, n.4, p.567-573, 1983.
- KRITCHEVSKY, D., TEPPER, S.A., GOODMAN, G.T., WEBER, M.M. and KLURFELD, D.M. Influence of oat and wheat bran on cholesterolemia in rats. *Nutrition Reports International*, Los Altos, v.29, n.6, p.1353-1359, 1984.
- LIMA, A.O., SOARES, B.J., GRECO, J.B., GALIZZI, L., CANÇADO, J.R. *Métodos de laboratório aplicado a clínica: técnica e interpretação*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985.
- LOTT, J.A., TURNER, K. Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. *Clinical Chemistry*, Washington DC, v.21, p.1754-1760, 1975.
- MARTINS, M., DHOPERHWARKAR, G.A. Effect of high cholesterol low carbohydrate diet on serum and liver lipids in rats. *Nutrition Reports International*, Los Altos, v.25, n.6, p.921-929, 1982.
- MEIJER, G.W., DEBRUIJNE, J.J., BEYNEN, A.C. Dietary cholesterol-fat type combinations and carbohydrate and lipid metabolism in rats and mice. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, Bern, v.57, n.3, p.319-326, 1987.
- MENDEZ, M.H.M., DERIVI, S.C.N., RODRIGES, M.C.R., FERNANDES, M.L. *Tabela de composição de alimentos*. Niterói: Universidade Federal Fluminense, 1993. 41p.
- NAGATA, Y., ISHIWAKI, N., SUGANO, M. Studies on the mechanism of the antihypercholesterolemia action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to their casein counterparts in rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.112, n.8, p.1614-1625, 1982.
- NEY, D.M., LASEKAN, J.B., SHINNICK, F.L. Soluble oat fiber tends to normalize lipoprotein composition in cholesterol-fed rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.118, n.12, p.1455-1462, 1988.
- NISHINA, P.M., SCHNEEMAN, B.O. FREEDLAND, R. Effects of dietary fibers on nonfasting plasma lipoprotein and apolipoprotein levels in rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.121, n.4, p.431-437, 1991.
- RIDOUT, J.H., LUCAS, C.C., PATTERSON, J.M., BEST, C.H. Changes in chemical composition during the development of cholesterol fatty livers. *Biochemical Journal*, London, v.58, p.297-301, 1954.
- RIGOTTI, A., MARZOLO, M.P., ULLOA, N., GONZALEZ, O., NERVI, F. Effect of bean intake on biliary lipid secretion and on hepatic cholesterol metabolism in the rat. *Journal of Lipid Research*, Bethesda, v.30, n.7, p.1041-1048, 1989.
- ROTENBERG, S., EGGUM, B. The effect of purified pectins with and without saponins in the diet on selected lipid parameters in liver and blood plasma of rats. *Acta Agric. Scandinavica*, v.36, n.2, p.211-216, 1986.
- SCHNEEMAN, B. O. Dietary fiber. *Food Technology*, Chicago, v.43, n.10, p.133-139, 1989.
- SHARMA, R.D. Hypocholesterolemic activity of some indian gums. *Nutrition Research*, Elmford, v.4, n.3, p.381-389, 1984.

- SHUTLER, S.M., LOW, A.G. Influence of baked beans on plasma lipids in pigs fed on a hypercholesterolaemic diet. *Proceedings of the Nutrition Society*, London, v.47, p.97A, 1988.
- SHUTLER, S.M., WALKER, A.F., LOW, A.G. The cholesterol lowering effects of legumes. II- Effect of fibre, sterols, saponins and isoflavons. *Human Nutrition: Food Sciences and Nutrition*, v.41F, p. 87-102, 1987.
- SIRTORI, C.R., GALLI, G., LOVATI, M.R., CARRARA, P., BOSISIO, E., GALLI KIENLE, M. Effects of dietary proteins on the regulation of liver lipoprotein receptors in rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.114, n.8, p.1493-1500, 1984.
- SJOBLAN, L., EKLUND, A. Determination of HDL2 cholesterol by precipitation with dextran sulfate and magnesium chloride: establishing optimal conditions for rat plasma. *Lipids*, Champaign, v.24, n.6, p.532-534, 1989.
- STANLEY, D. W., MICHAELS, T. E., PLHACK, L. C. et al. Storage-induced hardening in 20 common bean cultivars. *Journal of Food Quality*, Trumbul, v.13, p.233-247, 1990.
- STEINBERG, D. The rediscovery of high density lipoprotein: a negative risk factor in atherosclerosis. *European Journal of Clinical Investigation*, Oxford, v.8, p.107-109, 1978.
- TAWDE, S., DAS, B.R. Studies in experimental hypercholesterolemia in rats. IV. Effect of dietary cholesterol on plasma and hepatic proteins of adult rats maintained on high fats diets. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, St. Louis, v.60, n.2, p.284-290, 1962.
- TEBIB, K., BITRI, L., BESANÇON, P. et al. Polymeric grape seed tannins prevent plasma cholesterol changes in high-cholesterol-fed-rats. *Food Chemistry*, Barking, v.49, n.4, p.403-406, 1994.
- TOPPING, D.L., TRIMBLE, R.P., ILLMAN, R.J. Prevention of dietary hypercholesterolemia in rat by soy flour high and low in saponins. *Nutrition Reports International*, Los Altos, v.22, p.1513-1519, 1980.
- VAHOUNY, G.V., SACHITHANANDAM, S., CHEN, I., TEPPER, S.A., KRICHEVSKY, D., LIGHTFOOT, F.G., CASSIDY, M.M. Dietary fiber and intestinal adaptation: effects on lipid absorption and lymphatic transport in the rat. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.47, n.2, p.201-206, 1988.
- WARNICK, G.R., BENDERSON, J., ALBERS, J.J. Dextran sulfate-Mg²⁺ precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. *Clinical Chemistry*, Washington DC, v.28, n.6, p.1379-1388, 1982.

Recebido para publicação em 19 de junho de 1997 e aceito em 4 de março de 1998.