

FABIANA CARVALHO RODRIGUES

EFEITOS DE NARINGENINA, BIXINA, LEITES DE VACA E CABRA E
EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA SOBRE O METABOLISMO
LIPÍDICO DE COELHOS

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agroquímica, para
obtenção do título de “Magister
Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003

FABIANA CARVALHO RODRIGUES

EFEITOS DE NARINGENINA, BIXINA, LEITES DE VACA E CABRA E
EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA SOBRE O METABOLISMO
LIPÍDICO DE COELHOS

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agroquímica, para
obtenção do título de “Magister
Scientiae”.

APROVADA EM: 10 de março de 2003.

Prof. Tanus Jorge Nagem
(Conselheiro)

Prof. Paulo César Stringheta
(Conselheiro)

Prof. George Henrique Kling de Moraes

Prof^a Márcia Rogéria de Almeida

Prof^a Tânia Toledo de Oliveira
(Orientadora)

Dedico este trabalho em especial às pessoas mais importantes da minha vida, que me incentivaram e apoiaram em todos os momentos, me ensinando sempre a lutar por meus sonhos.

Pai (*in memoriam*), Mãe, Fernanda e Luzia, exemplos de coragem, força e fé. Amo vocês!!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que está sempre presente em minha vida, dando-me força e coragem para enfrentar os desafios.

À Universidade Federal de Viçosa, aos Departamentos de Química e Bioquímica pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo.

À professora Tânia Toledo de Oliveira pela orientação, amizade, confiança, assim como pela atenção e suporte para o bom desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Tanus Jorge Nagem e Paulo César Stringheta pela co-orientação, e, pelas sugestões no desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores George Henrique Kling de Moraes e Márcia Rogéria de Almeida pela participação na banca e valiosas sugestões na correção da tese.

Ao professor José Francisco Silva (Juquinha) pelo auxílio, disponibilidade e simpatia durante a realização dos experimentos.

Ao professor Paulo Cecon pelo auxílio durante a realização das análises estatísticas.

À Funarbe, em especial ao professor Cláudio Furtado pela valiosa contribuição que permitiu a realização dos experimentos.

À professora Eura pela grande ajuda na correção da tese.

Aos funcionários do Biofármacos, especialmente ao José Geraldo Pinto, aos colegas de pós-graduação e estagiários pela boa vontade, disponibilidade e carinho, sem os quais não poderia realizar este estudo.

As amigas Érica, Elenice, Martha, Nil, Liz, Nair, Isaura, Luciana, Karina e Pauliana, pelo companheirismo, carinho e compreensão em todos os momentos.

Ao cônego José Geraldo Vidigal de Carvalho pelos valiosos conselhos e aos amigos da capela/UFV, pelo carinho.

Enfim, a todos os amigos e outros que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Fabiana Carvalho Rodrigues, filha de José Rodrigues Gomes e Elenice Garcia de Carvalho Rodrigues, nasceu em São Paulo/SP, em oito de abril de 1977.

Ingressou no curso de Tecnologia de Laticínios em 1997, na Universidade Federal de Viçosa, onde se graduou em março de 2001.

Em 2001, iniciou o curso de Mestrado em Agroquímica, defendendo tese em 2003.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Biossíntese de colesterol	4
2.2. Metabolismo e transporte do colesterol	5
2.3. Aterosclerose	6
2.4. Fisiologia do metabolismo de coelhos e sua utilização para estudo da hiperlipidemia	8
2.5. Alimentos funcionais	11
2.6. Componentes com ação funcional.....	15
2.6.1. Flavonóides.....	15
2.6.2. Corantes naturais.....	23
2.6.2.1. Bixina	25
2.6.3. Leite e algumas propriedades funcionais.....	27
2.6.4. Valor nutricional do leite de cabra	31
2.6.5. Soja e seus derivados	32
2.7. Efeito da proteína dietética na hipercolesterolemia	33
2.8. Efeito dos ácidos graxos na hipercolesterolemia	36

	Página
2.9. Interação entre fármacos e alimentos.....	40
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1. Ensaio biológico utilizando leite em pó de vaca.....	43
3.2. Ensaio biológico utilizando leite em pó de cabra	45
3.3. Ensaio biológico utilizando extrato hidrossolúvel de soja.....	45
3.4. Dosagens dos parâmetros bioquímicos	46
3.4.1. Determinação do colesterol-total.....	46
3.4.2. Determinação do colesterol-HDL	47
3.4.3. Determinação do triacilglicerol	47
3.4.4. Determinação de glicose.....	48
3.5. Análise bromatológica dos leites de vaca e cabra	48
3.6. Análise estatística	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1. Resultados das análises bromatológicas	49
4.2. Resultados das dosagens dos parâmetros bioquímicos.....	50
4.2.1. Ensaio biológico utilizando leite de vaca.....	50
4.2.2. Ensaio biológico utilizando leite de cabra	60
4.2.3. Ensaio biológico utilizando extrato hidrossolúvel de soja.....	68
5. CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
APÊNDICE.....	93

RESUMO

RODRIGUES, Fabiana Carvalho, M. S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2003. **Efeito da naringenina, bixina, leites de vaca e cabra e extrato hidrossolúvel de soja sobre o metabolismo lipídico de coelhos.** Orientadora: Tânia Toledo de Oliveira. Conselheiros: Tanus Jorge Nagem e Paulo César Stringheta.

Com o objetivo de avaliar o efeito do flavonóide naringenina e do carotenóide bixina e suas associações com o leite em pó de vaca, cabra e o extrato hidrossolúvel de soja sobre o metabolismo lipídico de coelhos, foram realizados três experimentos com coelhos da raça Nova Zelândia por um período de 31 dias . A hipercolesterolemia foi induzida utilizando-se 0,5% de colesterol e as substâncias testadas e os leites foram misturados na ração. O leite bovino foi fornecido na dose de 20g/dia e o leite caprino e o extrato hidrossolúvel de soja foram fornecidos nas doses de 10g/dia. A naringenina e a bixina foram fornecidas nas doses de 30 e 125 mg/kg de peso corporal, respectivamente. As amostras de sangue foram coletadas pelo plexo venoso retro-orbital utilizando-se capilar e centrifugadas a $7.100 \times g$. O soro obtido foi utilizado para a determinação de colesterol total, colesterol-HDL, triacilgliceróis e glicose, utilizando-se *kits* da marca BioMérieux. No experimento utilizando leite de vaca, ao se comparar com o grupo hiperlipidêmico, o grupo tratado com bixina apresentou uma porcentagem de redução nas concentrações de

colesterol de 24,52% e 22,53% com 16 e 31 dias, respectivamente. Em relação às concentrações de triacilgliceróis, o melhor resultado foi obtido com o grupo que recebeu leite de vaca + naringenina, onde houve uma redução de 35,08% com 31 dias. Para o colesterol-HDL, os grupos tratados com leite de vaca e leite de vaca + naringenina apresentaram bons resultados, tendo um aumento de 9,59% e 8,37%, respectivamente. Já no experimento utilizando leite de cabra, as duas substâncias (naringenina e bixina) associadas com o leite de cabra reduziram as concentrações de colesterol, sendo o melhor resultado obtido com o grupo leite de cabra + naringenina (20,62% com 16 dias e 16,06% com 31 dias). Em relação às concentrações de triacilgliceróis, o grupo leite de cabra + naringenina apresentou o melhor resultado, tendo uma redução de 10,28% com 16 dias e 23,53% com 31 dias. Para o colesterol-HDL, todos os grupos apresentaram bons resultados, aumentando as concentrações desse parâmetro, tendo destaque o grupo leite de cabra + bixina (56,79% com 16 dias e 40,39% com 31 dias). No experimento realizado utilizando extrato hidrossolúvel de soja, os melhores resultados na redução das concentrações de colesterol e triacilgliceróis foram obtidos com o grupo tratado com extrato hidrossolúvel de soja + bixina, sendo esta redução de 16,04% para colesterol e 15,59% para triacilgliceróis, ambos aos 16 dias. Em relação às concentrações de colesterol-HDL, todos os tratamentos apresentaram bons resultados, sendo que o grupo extrato hidrossolúvel de soja + naringenina teve um aumento de 32,04% com 16 dias, e, o grupo extrato hidrossolúvel de soja + bixina teve um aumento de 58,18% com 31 dias.

ABSTRACT

RODRIGUES, Fabiana Carvalho, M. S., Universidade Federal de Viçosa, March 2003. **Effect of the naringenine, bixin, cow milk, goat milk and hydro-soluble soy extract on the lipidic metabolism of rabbits.** Adviser: Tânia Toledo de Oliveira. Committee Members: Tanus Jorge Nagem and Paulo César Stringheta.

With the objective of evaluating the effect of the flavonoid naringenine and the carotenoid bixin and its associations with the powdered cow milk, goat milk and the hydro-soluble soy extract on the lipidic metabolism of rabbits, three experiments were accomplished with rabbits of the New Zealand lineage for a period of 31 days. The hipercholesterolemia was induced being used 0,5% of cholesterol, the tested substances and the milk were mixed in the ration. The bovine milk was supplied in the dose of 20g/day and the caprine milk, the hydro-soluble soy extract were supplied in the dose of 10g/day. The naringenine and the bixin were supplied in the dose of 30 and 125 mg/kg of the corporal weight, respectively. The blood samples were collected by the veined retro-orbital plexus, being used the capillary and the centrifuged 7.100 x g. The obtained serum was used for the determination of the total cholesterol, cholesterol-HDL, triacilgliceroids and glucose, using the BioMérieux kits. In the experiment using cow milk, when comparing to the hiperlipidemic, the treated group with bixin presented a percentage reduction in the concentrations of

cholesterol of 24,52% and 22,53% with 16 and 31 days, respectively. In relation to the triacilgliceroids concentrations, the best result was obtained with the group that received cow milk + naringenine, where there was a reduction of 35,08% with 31 days. For the cholesterol-HDL the treated groups with cow milk and cow milk + naringenine presented good results, tending to increase at 9,59% and 8,37%, respectively. Already in the experiment using goat milk, the two substances (naringenine and bixin) associated with the goat milk, they reduced the cholesterol concentrations, the best result was obtained with the group goat milk + naringenine (20,62% with 16 days and 16,06% with 31 days). In relation to the triacilgliceroid concentrations, the group goat milk + naringenine presented the best result, tending to have a reduction of 10,28% with 16 days and 23,53% with 31 days. For the cholesterol-HDL, all the groups presented good results, increasing the concentrations of that parameter, tending to prominence the group goat milk + bixin (56,79% with 16 days and 40,39% with 31 days). In the accomplished experiment using hydro-soluble soy extract, the best results in the reduction of the cholesterol concentrations and triacilgliceroids were obtained with the group treated with hydro-soluble soy extract + bixin, this reduction was of 16,04% for the cholesterol and of 15,59% for the triacilgliceroids, both in the 16th day. In relation to the concentrations of cholesterol-HDL, all the treatments presented good results, and the hydro-soluble soy extract group + naringenine had an increase of 32,04% with 16 days, and the hydro-soluble soy extract group + bixin had an increase of 58,18% with 31 days.

1. INTRODUÇÃO

Há cerca de 2.500 anos, Hipócrates relatava a seguinte expressão: “permita que o alimento seja o seu remédio e que o remédio seja o seu alimento” (MILNER, 1999).

Os alimentos são fonte de nutrientes para o desenvolvimento e a manutenção da vida dos seres humanos. Porém, eles também podem contribuir para aumentar a incidência de doenças. A gordura alimentar, por exemplo, está envolvida em cerca de 68% das mortes humanas, principalmente doenças cardiovasculares (44%), câncer (22%) e diabetes (2%). A ocorrência destas doenças pode ser reduzida com a melhoria do hábito alimentar (BRANDÃO e CUNHA, 2000).

Além de nutrir, os alimentos possuem componentes ativos que atuam no organismo, produzindo efeitos benéficos à saúde. Os estudos desses componentes ativos conduziram ao conceito de alimentos funcionais. O termo alimento funcional originou-se no Japão em 1980, quando foi utilizado pela indústria para descrever alimentos fortificados com ingredientes específicos, inferindo-lhes certos benefícios para a saúde (FERREIRA, 2001).

Em 1994, o mercado global estimado para produtos funcionais foi de US\$ 6,6 bilhões e de US\$ 17 bilhões para o ano de 2000 (FERREIRA, 2001). No Brasil já existem diversas linhas de produtos funcionais, observando-se uma tendência crescente para este segmento.

No entanto, há que se referir que o estudo dos alimentos funcionais se encontra apenas no seu início, e, vários fatores dificultam o estabelecimento de uma relação científica forte entre a ingestão do alimento funcional e a obtenção do efeito promotor da saúde. Estes fatores incluem a complexidade da substância alimentar, as possíveis alterações metabólicas compensatórias resultantes da alteração da dieta, bem como a falta de marcadores biológicos fidedignos do desenvolvimento das patologias. Assim sendo, é necessário continuar a investigar os possíveis benefícios para a saúde humana de todos aqueles alimentos cuja relação dieta-saúde não se encontra ainda suficientemente fundamentada (PRATES e MATEUS, 2002).

Dentre os alimentos funcionais mais estudados hoje destacam-se a soja, os peixes e óleos de peixe, os flavonóides presentes nas frutas cítricas, no chá e no vinho, os prebióticos e os probióticos (SALGADO et al., 2001).

GALVÃO (2001) relatou que várias pesquisas demonstraram que nutrientes e substâncias extraídas de vegetais podem auxiliar na prevenção de doenças e influenciar drasticamente nos efeitos dos tratamentos médicos. Dentre estas substâncias têm-se os flavonóides e os corantes naturais, que possuem várias propriedades farmacológicas, agindo como antioxidantes, antibacterianos e anti-hiperlipidêmicos (WILLIAM et al., 1995).

ZULU et al. (1994) realizaram um estudo com a população de Zâmbia (Lusaka) que consome uma bebida fermentada por 24 a 48 horas contendo raízes das plantas *Rhynchosia species* (Leguminosae) chamada de Kelunge (*R. heterophylla*) e Chitondo (*R. insignis*) contendo carotenóides e flavonóides que lhe conferem a cor amarelada. Dos flavonóides presentes naquela bebida foram identificados vicenina-2, escalftosídeo, isoscalftosídeo, derivados de isovitexina, vitexina e violantina e diversos derivados da apigenina. Eles relataram que estudos epidemiológicos têm demonstrado que o consumo regular de flavonóides na alimentação pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares.

O leite é considerado como um dos alimentos mais completos por fornecer grande quantidade de nutrientes essenciais ao ser humano. A indústria de laticínios está entre as que apresentam maior crescimento na disponibilização de produtos funcionais, em especial nos segmentos de iogurtes e outros leites fermentados. Pela atuação da tecnologia de alimentos,

as indústrias têm cada vez mais adaptado o leite às necessidades do ser humano, criando produtos para todas as faixas etárias, como leite enriquecido com vitaminas, ferro, desnatado, com teor reduzido de lactose, tendo também os derivados como leites fermentados e queijos enriquecidos com ômega-3.

Diante do exposto, este trabalho foi desenvolvido com o principal objetivo de avaliar o efeito do flavonóide naringenina e do carotenóide bixina e suas associações com leite de vaca, cabra e extrato hidrossolúvel de soja sobre o metabolismo lipídico de coelhos.

Diversos trabalhos demonstraram que a utilização de coelhos é um bom modelo para se estudar a aterosclerose e as demais desordens associadas com o metabolismo lipídico. MOGHDAIAN (2002) relata que o coelho foi o primeiro modelo animal utilizado no estudo da aterosclerose. PEÑA et al. (1999) descreveram vários estudos que mostraram que coelhos alimentados com uma dieta suplementada com 1% de colesterol, por um período de 10 a 12 semanas, desenvolveram uma área considerável de estrias gordurosas na superfície endotelial da aorta.

A bixina já é utilizada na indústria de alimentos, como por exemplo na produção de queijos. Os flavonóides, inclusive a naringenina, estão presentes quotidianamente na dieta humana. Por possuírem diversas propriedades biológicas, essas duas substâncias são de grande interesse, tanto para a indústria farmacêutica quanto para a alimentícia, podendo, no futuro, serem utilizadas para produzir fármacos e também, alimentos funcionais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Biossíntese de colesterol

O colesterol pode se apresentar sob a forma livre ou esterificada, não sendo encontrado nos vegetais. Juntamente com os fosfolipídeos, possui função estrutural, formando a dupla camada que constitui as membranas celulares e a camada única que reveste as lipoproteínas. O colesterol desempenha ainda outros importantes papéis no organismo, sendo precursor de ácidos biliares, hormônios esteroidais e vitamina D (SOCIEDADE..., 1996).

O precursor de todos os átomos de carbono no colesterol e dos seus derivados esteróides é o grupo acetil da acetil-CoA. Os passos na biossíntese do colesterol envolvem uma via complexa com cerca de 21 etapas. A condensação de três grupos acetila leva à formação do mevalonato, que contém seis carbonos. A descarboxilação do mevalonato produz uma unidade isopreno de cinco carbonos, que é um ponto fundamental na biossíntese dos esteróides e de muitos outros compostos. Seis unidades de isopreno condensam-se para formar o esqualeno, que contém 30 átomos de carbono. Este sofre ciclização para formar o lanosterol, que após a perda de três grupos metila, origina o colesterol. É importante ressaltar que a reação catalisada pela enzima hidroximetilglutaril-CoA redutase, que converte acetil-CoA em mevalonato, é fundamental para a formação de colesterol (CAMPBELL, 2001).

2.2. Metabolismo e transporte do colesterol

O colesterol é transportado de um tecido para outro pelo plasma sangüíneo através das lipoproteínas, que são agregados moleculares formados por associações entre lipídios e proteínas. A fração protéica das lipoproteínas é denominada apolipoproteína e se subdivide em classes, sendo que cada classe possui várias subclasses. As principais classes de lipoproteínas humanas são: quilomícrons, VLDL (lipoproteína de densidade muito baixa), IDL (lipoproteína de densidade intermediária), LDL (lipoproteína de baixa densidade) e HDL (lipoproteína de alta densidade) (PASQUALUCCI et al., 1999)

As fontes de colesterol no organismo são a síntese interna (endógena) e a alimentação (exógena). O ciclo exógeno tem início com a absorção de lipídios proveniente da alimentação e sua incorporação nos quilomícrons sintetizados pelas células intestinais. Os quilomícrons caracterizam-se por transportar o colesterol da dieta e serem ricos em triacilgliceróis, tendo como apo fundamental a B-48. Os quilomícrons entram na circulação linfática e na corrente sangüínea pelo ducto torácico, podendo receber diferentes apo (A, C e E) de outras lipoproteínas. Nos capilares, os quilomícrons entram em contato com a enzima lipase lipoprotéica que, ativada pela apo C-II, hidrolisa os triacilgliceróis e retira os ácidos graxos. Assim, os quilomícrons tornam-se partículas de menor tamanho. Os remanescentes são removidos da circulação pelos receptores localizados nas células hepáticas e metabolizados (SOCIEDADE..., 1996).

O ciclo endógeno tem início com a síntese hepática das VLDL, as quais contêm principalmente triacilgliceróis e as apo B-100, E e C. Na circulação capilar, as VLDL entram em contato com a enzima lipase lipoprotéica, dando origem aos remanescentes de VLDL ou IDL. Essas partículas seguem dois caminhos: cerca de dois terços das IDL podem ser captados no fígado, pelos receptores de apo B/E e degradados em seus componentes. O terço restante sofre ação da lipase hepática, principalmente no fígado, formando as LDL. Tanto as LDL como as IDL são retiradas da circulação pelos receptores celulares B/E, existentes, principalmente, no fígado. As LDL são as principais carreadoras de colesterol para os tecidos periféricos. Uma vez no interior das células, essas lipoproteínas são hidrolisadas, liberando colesterol e

aminoácidos. A síntese de colesterol e dos receptores B/E pela célula varia na razão inversa da concentração de colesterol livre intracelular.

Parte do material liberado pela ação da lipase lipoprotéica sobre os quilomícrons e as VLDL é utilizada para a síntese de HDL. As partículas de HDL (sintetizadas no intestino e no fígado) têm como componentes principais a apo A-I (adquirida principalmente no fígado) e fosfolípidos. As HDL apresentam ação cardioprotetora por transportar colesterol dos tecidos periféricos para o fígado. Uma vez no fígado, o colesterol proveniente dos tecidos pode ser reaproveitado, participando de outras vias metabólicas, ou excretado na bile (principal via de eliminação), com reabsorção de cerca de dois terços do mesmo (ciclo enterohepático) (SOCIEDADE..., 1996).

2.3. Aterosclerose

A doença cardiovascular constitui-se na principal causa de morbidade e mortalidade no mundo ocidental, sendo responsável por mais de 50% das mortes nos países desenvolvidos. Ela inclui a doença coronária, a doença vascular periférica e a sua expressão clínica avançada é a aterosclerose (MEAD e RAMJI, 2002; WITZTUM e STEINBERG, 2001).

A aterosclerose consiste de uma enfermidade lenta e progressiva, que geralmente, inicia-se na infância e as manifestações clínicas revelam-se na idade adulta. Afeta primariamente a túnica íntima das artérias de grandes e médios calibres caracterizados pelo depósito e acúmulo de lipídios, pela proliferação de fibras colágenas e pela freqüente ocorrência de calcificação nas áreas afetadas, nas fases mais tardias (PASQUALUCCI et al., 1999).

Os fatores de riscos podem ser classificados como: fatores endógenos ou intrínsecos (idade, sexo, hereditariedade), fatores exógenos ou extrínsecos (dieta, tabagismo, sedentarismo) e fatores mistos (obesidade, hipertensão arterial, dislipidemia, *diabetes mellitus*, fatores psicossociais, hipertrofia ventricular esquerda) (CARVALHO FILHO et al., 1996).

Há uma certa unanimidade na literatura de que o estágio mais precoce da aterogênese é caracterizado pelo acúmulo de macrófagos, envolvendo resíduos de LDL e colesterol, no espaço subendotelial do vaso. Existem evidências de que as LDL plasmáticas adentram as células endoteliais através

de mecanismos de endocitose. Na presença de hipercolesterolemia e, conseqüente, aumento das LDL, ocorre um aumento do processo normal de endocitose das LDL através de receptores específicos e depois, ocorre endocitose através de receptores inespecíficos. Ambas as situações levam ao aumento da concentração de LDL nativas no interior da célula endotelial (JORGE, 1997).

As LDL nativas são reconhecidas e não se acumulam em quantidade apreciável nos macrófagos. A partícula deve ser modificada para que seja captada em quantidade suficiente para gerar células espumosas. As células endoteliais e musculares lisas, e também os macrófagos secretam produtos oxidativos por múltiplas vias, os quais difundem as LDL aprisionadas no espaço subendotelial e iniciam a oxidação lipídica. Em conseqüência, ocorre acúmulo maciço de colesterol, formando as células espumosas, que são a marca característica das estrias gordurosas, que por sua vez, são as lesões mais precoces da aterosclerose (BATLOUNI, 1997).

O fator dietético tem real importância na aterogênese, pela sua influência em diversos fatores de riscos como hipertensão arterial, perfil lipídico e obesidade. A ingestão de gorduras deve atingir no máximo 30% do valor calórico total, predominando as gorduras insaturadas. As gorduras saturadas elevam o colesterol total e LDL-colesterol (CARVALHO FILHO et al., 1996).

A hipótese de que a peroxidação lipídica desempenha importante papel na patogênese da aterosclerose, despertou crescente entusiasmo sobre o uso de antioxidantes como agentes antiaterogênicos. Os antioxidantes mais investigados, tanto em experimentação animal, como no homem, têm sido o alfa-tocoferol (vitamina E), beta-caroteno (precursor da vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) e os flavonóides. BATLOUNI (1997) relatou que diversos pesquisadores têm mostrado que as evidências indiretas, sobre os benefícios dos antioxidantes nas doenças cardiovasculares, derivaram de alguns estudos ecológicos iniciais. As ingestões diárias elevadas de frutas e vegetais, refletindo provavelmente a ingestão de vitaminas antioxidantes e de outros componentes ativos neles contidos, têm sido associadas inversamente com a incidência de doenças cardiovasculares.

Segundo RENAUD et al. (1992) na maioria dos países, a ingestão elevada de gorduras saturadas está relacionada com a mortalidade por doença arterial coronária, porém isto não se observa em algumas regiões da França. O "paradoxo francês", isto é, a aparente incompatibilidade entre dieta rica em gorduras e baixa incidência desta doença, tem sido atribuído ao consumo regular de vinho tinto. MAXWELL et al. (1994) relatou que o conteúdo de álcool do vinho não parece ser a explicação para esse fenômeno, mas sim devido a presença de componentes não alcoólicos. O vinho tinto contém diversos compostos fenólicos, flavonóides e não flavonóides, incluindo catequinas, flavonóis, antocianinas e taninos solúveis. As propriedades antioxidantes desses compostos podem reduzir as reações de peroxidação lipídica e retardar o processo de aterogênese.

2.4. Fisiologia do metabolismo de coelhos e sua utilização para estudo da hiperlipidemia

O coelho (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia teve sua origem nos Estados Unidos. Trata-se de raça de médio porte, bastante precoce e muito utilizada tanto em cruzamentos como em criações de raça pura, devido à sua rusticidade e resistência a doenças (MELLO e SILVA, 1989).

De acordo com a capacidade digestiva, podem ser classificados como monogástricos-herbívoros, por possuir um aparelho digestivo bem adaptado (ceco e cólon), onde ocorre fermentação bacteriana da fibra (ESPÍNDOLA, 1999).

O processo digestivo tem início na boca com a mastigação do alimento, que é muito intensa. Como consequência, o alimento digerido é reduzido a pequenas partículas. O pH do estômago em animais adultos é muito baixo (1 a 2), sendo muito eficaz para matar bactérias e outros microorganismos, de maneira que o estômago e o intestino delgado deste animal são praticamente estéreis. O intestino delgado é o principal local de digestão e absorção (CHEEKE et al., 1995).

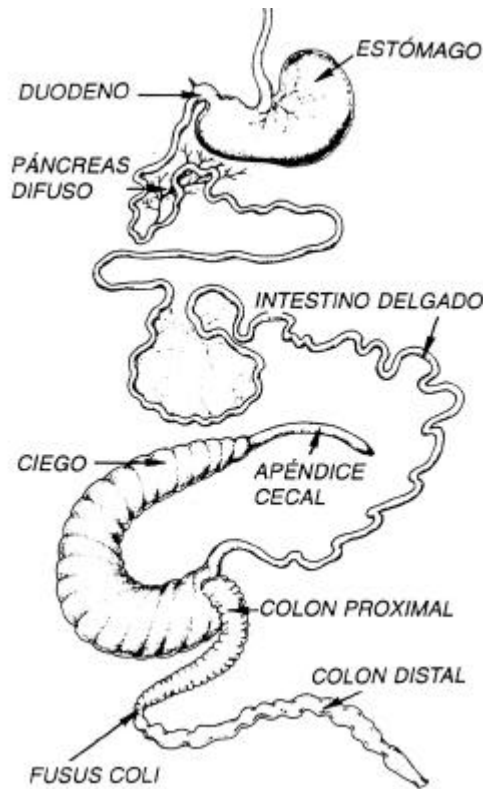


Figura 1 – Esquema das características gerais do trato digestivo do coelho.

A bile é formada nas células hepáticas e seus principais componentes são os ácidos e os pigmentos biliares. Os ácidos biliares são sintetizados no fígado a partir do colesterol. A maioria dos mamíferos secreta bilirrubina, mas o coelho secreta principalmente biliverdina. Os lipídios alimentares são digeridos no intestino delgado, pela ação de lipases secretadas pelo pâncreas (CHEEKE et al., 1995).

No estômago, as proteínas sofrem a ação da pepsina, e, no intestino delgado, as enzimas tripsina e peptidase agem completando a digestão (MELLO e SILVA, 1989). A administração de proteína em excesso para coelhos pode trazer consequências indesejáveis. A proteína em excesso é metabolizada como fonte de energia e o nitrogênio é excretado como uréia na urina. As bactérias podem converter a uréia da urina em amoníaco, que se desprende na forma de gás e atacam as membranas mucosas nasais dos coelhos, o que propicia as infecções bacterianas, causando transtornos respiratórios (CHEEKE, 1995).

Tabela 1 – Requerimentos nutricionais para coelhos

Nutriente (%)	Crescimento	Manutenção
Proteína bruta	15	13
Fibra bruta	14	15-16
Lipídios	3	3
Alguns aminoácidos:		
lisina	0,6	-
arginina	0,9	-
Alguns minerais:		
cálcio	0,5	0,6
fósforo	0,3	0,4

Fonte: CHEEKE (1995).

Poucas são as informações sobre os pontos específicos da digestão dos lipídeos no coelho. Provavelmente, esse processo ocorra no intestino delgado, onde se agregam a lipase e a bile. Os ácidos graxos insaturados consumidos pelos ruminantes se hidrogenam no rúmen, convertendo-se em ácidos graxos saturados, que determinam o alto conteúdo de ácidos graxos saturados nos lipídeos séricos destes animais. Não se sabe se esta hidrogenação tem lugar no intestino grosso do coelho, mas como a absorção se realiza no intestino delgado, é pouco provável que se produza uma hidrogenação apreciável de ácidos graxos insaturados no coelho (CHEEKE, 1995).

Os triacilgliceróis provenientes da ração dos coelhos sofrem um processo complexo de digestão e absorção. Estes são emulsificados e depois hidrolisados pelas enzimas lipolíticas, para que desta forma, possam ser absorvidos no lúmen do intestino delgado (BLAS e WISEMAN, 1998).

O intestino grosso realiza importante função na digestão do coelho, devido a fermentação do ceco, a excreção seletiva de fibra e reingestão do conteúdo fecal ou coprofagia (CHEEKE et al., 1995). A coprofagia é uma atividade vital para os coelhos, propiciando-lhes um melhor aproveitamento dos alimentos ingeridos, por permitir a absorção dos nutrientes produzidos pela digestão microbiana (MELLO e SILVA, 1989).

Fatores como sexo, idade e linhagem interferem nos níveis de colesterol em coelhos. Com o consumo de uma dieta rica em colesterol, estes animais possuem uma propensão alta em desenvolver a colesterolemia, sendo um bom modelo para estudo do metabolismo de colesterol (FEKETE, 1991).

MOGHDAIAN (2002) relatou que o coelho foi o primeiro modelo animal utilizado no estudo da aterosclerose. Esta espécie animal compartilha de vários aspectos do metabolismo das lipoproteínas em comparação com humanos, exceto em relação a deficiência da lipase hepática. No entanto, para o desenvolvimento de placas ateroscleróticas é necessário altos níveis de colesterol plasmático, o que é facilmente obtido pela administração de uma dieta rica em colesterol.

PEÑA et al. (1999) realizaram um experimento administrando 1% e 10% de colesterol suplementado à dieta por 10 semanas a coelhos, e, observaram um aumento considerável dos níveis de colesterol total e colesterol-LDL nos animais alimentados com uma dieta contendo 1% de colesterol, porém este aumento não foi suficiente para induzir dano vascular. Já os animais que receberam a dieta com 10% de colesterol apresentaram hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, além da formação de ateromas bem definidos na aorta. Este mesmo autor descreve outros estudos que mostram que coelhos alimentados com uma dieta suplementada com 1% de colesterol, depois de 10 a 12 semanas, desenvolveram uma área considerável de estrias gordurosas na superfície endotelial da aorta.

Diversos trabalhos, além destes, demonstram que a utilização de coelhos é um bom modelo para se estudar a aterosclerose e as demais desordens associadas com o metabolismo lipídico. As respostas observadas sobre os níveis plasmáticos de lipídios, e a formação ou não de lesões/placas ateroscleróticas, variam conforme a concentração de colesterol e o tempo de administração.

2.5. Alimentos funcionais

Historicamente, o estado nutricional de populações vivendo em países industrialmente desenvolvidos pode claramente ser mostrado pelas tendências desfavoráveis como o excessivo consumo de gorduras, principalmente

saturadas, excessivo consumo de açúcar e sal e, ainda, diminuição considerável do consumo de amido e fibras dietéticas. Estudos epidemiológicos têm confirmado essa tendência que indica déficit do consumo de ácidos graxos poliinsaturados, proteínas de alto valor biológico, vitaminas, cálcio, ferro, iodo, flúor, selênio e zinco. Este estado nutricional carente tem originado elevadas incidências de doenças crônicas degenerativas, dentre elas doenças cardiovasculares, câncer, hipertensão, diabetes, obesidade, entre outras. A situação é tão grave que dados da Organização Mundial da Saúde mostram que essas doenças são responsáveis por 70-80% da mortalidade nos países desenvolvidos e cerca de 40% naqueles em desenvolvimento (SALGADO et al., 2001).

Têm sido estimados que um terço dos casos de câncer estão relacionados à dieta e além da relação com as doenças crônicas, há evidências do papel da dieta em melhorar a performance mental e física, retardar o processo de envelhecimento, auxiliar na perda de peso, na resistência às doenças (melhora do sistema imune), entre outros (SALGADO et al., 2001).

JENKINS et al. (2001) administraram uma dieta rica em proteína vegetal (gérmen de trigo) a humanos, verificando que o elevado consumo dessa dieta pode apresentar efeitos benéficos, diminuindo o risco da doença cardiovascular por reduzir a oxidação da LDL, as concentrações séricas de triacilgliceróis e ácido úrico.

Propriedades quimiopreventivas têm sido atribuídas a cebola (*Allium cepa*), e ao alho (*Allium sativum*) devido à presença de compostos organosulfurados. Alguns desses compostos podem inibir a formação de aminas heterocíclicas capazes de produzir câncer (MARTÍNEZ et al., 2001).

Minerais como o selênio e o cálcio, compostos presentes em chá (catequinas), cítricos (terpenos), no caqui, no leite, em peixes, em uvas e vinhos (fenólicos), na soja e derivados (isoflavonóides) apresentam comprovados efeitos anticarcinogênicos *in vitro* e *in vivo*, constituindo promissores alimentos funcionais para a prevenção do câncer. Apesar das evidências epidemiológicas e laboratoriais a respeito das propriedades anticarcinogênicas desses alimentos, muitos outros estudos devem ser

conduzidos, uma vez que há diferenças entre as populações, bem como entre as variedades de alimentos (FERRARI e TORRES, 2002).

Muito embora a grande maioria das substâncias naturais promotoras da saúde seja de origem vegetal, conhecem-se vários componentes com atividade fisiológica nos alimentos de origem animal, como por exemplo, o cálcio, os probióticos, as proteínas e os peptídeos do soro presentes nos produtos lácteos; os ácidos graxos ômega-3 do peixe; o ácido linoléico conjugado das carnes de bovino e ovino; os esfingolípidos dos ovos e também, os nutrientes L-carnitina, coenzima Q₁₀, ácido α -lipóico, colina e taurina, amplamente difundidos nos produtos animais (PRATES e MATEUS, 2002).

O papel da dieta é fornecer nutrientes suficientes para satisfazer os requerimentos metabólicos. No entanto, estudos têm demonstrado que além de nutrir, as dietas são responsáveis por modular várias funções no organismo, exercendo efeitos benéficos ou danosos em algumas doenças (ROBERFROID, 2000).

Com isso, a ciência da nutrição tem tomado novos rumos. Novas fronteiras se abrem ligando nutrição e medicina com o surgimento do conceito de alimentos funcionais. A descoberta de que certos alimentos contêm componentes ativos capazes de reduzir o risco de doenças, inclusive o câncer, faz com que essa ciência se associe à medicina e ganhe uma dimensão extra no século XXI. O Comitê de Alimentos e Nutrição do *Institute of Medicine* (IOM/FNB, 1994) determinou que alimentos funcionais ou nutracêuticos são aqueles que além de promoverem uma nutrição adequada em vitaminas, minerais, fibras e outros nutrientes, possuem compostos importantes para proporcionar benefício à saúde, podendo auxiliar na prevenção de doenças crônico-degenerativas. (SALGADO et al., 2001).

Os alimentos funcionais podem bloquear a atividade bacteriana ou viral, inibir a absorção de colesterol, reduzir a agregação plaquetária, destruir as bactérias gastrointestinais maléficas, aumentar a atividade de enzimas capazes de realizar a detoxicação no fígado e também podem agir como antioxidantes. Aproximadamente, 120 alimentos de ocorrência natural têm sido identificados por conter componentes bioativos e podem, portanto, serem designados como alimentos funcionais (PENNINGTON, 2002). Alguns desses componentes são exemplificados na Tabela 2.

Tabela 2 – Alguns componentes com ação funcional

Classe / composto		Possíveis efeitos
Prebióticos: oligossacarídeos; polissacarídeos	Frutooligossacarídeos (inulina) e soja; fibra solúvel e insolúvel	Aumento do número de bactérias bifidogênicas, redução do risco de câncer e de doenças cardíacas
Probióticos: Bactérias lácticas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium</i>	Melhora do balanço microbiano no intestino, redução do risco de câncer, hipolipidêmicos
Flavonóides	Quercetina, catequina, genisteína, daidzeína, hesperidina, naringenina , antocianinas	Redução de risco de doenças cardíacas
Carotenóides	Licopeno, luteína, zeaxantina, beta-caroteno	Redução do risco de câncer
Organosulfurados	Glucosinolatos, alicina, isotiocianatos	Redução do risco de câncer
Fitosteróis	Sitosterol, sitostanol, campesterol, stigmasterol, orizanol	Redução do risco de doenças cardíacas
Ácidos graxos	Linoléico (ômega-6), alfa-linoléico (ômega -3), eicosapentaenóico (EPA), docosahexaenóico (DHA)	Redução do risco de doenças cardíacas

Fonte: adaptado de LAJOLO (1999).

Entre os alimentos funcionais mais investigados, hoje se destacam a soja, o tomate, os peixes e óleos de peixe, linhaça, as crucíferas (brócolis, couve de bruxelas, repolho, entre outros), o alho e a cebola, os cereais como a aveia, os prebióticos, os probióticos, os flavonóides presentes nas frutas cítricas, no chá e em uvas/vinho (SALGADO et al., 2001).

Desde 1980 que o Japão pesquisa sobre alimentos funcionais e em 1991 criou-se a categoria FOSHU. Nos Estados Unidos, os alimentos com alegações funcionais devem ser aprovados pelo FDA (ROBERFROID, 2000).

No Brasil, a legislação ou diretrizes sobre alimentos com propriedades funcionais é relativamente recente. O Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária (MS/ANVISA) publicou em 1999 as resoluções 16, 17, 18 e 19 que tratam de novos alimentos e alimentos com alegação de saúde. Para se obter a autorização para comercialização de um alimento com alegação de propriedade de saúde, deve-se apresentar um relatório técnico-científico à ANVISA, contendo as seguintes informações: ensaios bioquímicos, nutricionais, fisiológicos e/ou toxicológicos em animais, estudos epidemiológicos, ensaios clínicos, dentre outras (PUPIN, 2001). Daí a importância e a necessidade de se realizar mais pesquisas para a constatação das propriedades funcionais dos alimentos, orientando a indústria na produção de alimentos desta categoria e garantindo ao consumidor produtos diferenciados, reconhecidamente comprovados pela comunidade científica.

2.6. Componentes com ação funcional

2.6.1. Flavonóides

Os flavonóides são amplamente distribuídos entre as espécies vegetais e, portanto, constituintes da dieta humana. Muitas pesquisas estão sendo realizadas com o objetivo de fornecer informações a respeito das suas propriedades farmacológicas, visando o desenvolvimento de fármacos contendo flavonóides (HACKETT, 1986).

Mais de 4.000 diferentes flavonóides extraídos de plantas já foram descritos pela literatura. Esta grande diversidade é devido ao fato dos flavonóides sofrerem modificações como oxidação, redução, hidroxilação,

metilação e conjugação com o ácido glicurônico ou com sulfato (HACKETT, 1986).

Os flavonóides pertencem a um grupo de compostos polifenólicos de 15 carbonos e que possuem em suas estruturas anéis aromáticos, tendo como base o 2-fenil-benzopirano ($C_6-C_3-C_6$) (SANTOS et al., 1998). Eles são formados a partir da combinação de derivados sintetizados da fenilalanina (via do ácido chiquímico) e ácido acético (HELLER, 1986).

A primeira etapa da síntese envolve a formação da fenilalanina a partir do fenilpiruvato. A fenilalanina é transformada para ácido *trans*-cinâmico, que é então hidrolisado para p-cumárico (C-9). O ácido C-9 formado, condensa com três unidades de C-2 (malonil-CoA) para formar um C-15 (chalcona). O subsequente fechamento do anel e hidratação origina compostos como 3-hidroxiflavonóides (catequinas) e flavonóis (AHERNE et al., 2002).

A natureza química dos flavonóides depende da classe estrutural, grau de hidroxilação, outros substituintes e conjugações, e, do grau de polimerização (HARBORNE, 1986).

Os flavonóides são divididos dentro de classes e estas incluem antocianinas, flavanóis (catequinas), flavonas, flavonóis, flavanonas e isoflavonas, entre outras. As antocianinas são responsáveis pela maioria das cores vermelhas, azuis e violeta em frutas e legumes. As flavanonas estão presentes na família cítrica. As flavonas são encontradas em folhas. As isoflavonas são encontradas em legumes, sendo conhecidas por sua atividade estrogênica. Flavanos são flavonóides complexos que incluem catequinas, procianidinas e theaflavinas (PETERSON e DWYER, 2000).

Quando o flavonóide não se encontra ligado a molécula de açúcar, são referidos como agliconas. Já o flavonóide, que está unido a molécula de açúcar, é denominado de flavonóide glicosídeo (AHERNE et al., 2002).

Os flavonóides são encontrados em diversos alimentos de origem vegetal, como maçã, uva, cebola, repolho, brócolis, chicória, aipo, chá e vinho tinto, sendo, portanto, importantes constituintes da dieta humana (BATLOUNI, 1997). Contudo, quantificar e listar os que são consumidos em um único país, constitui uma tarefa difícil devido ao grande número de compostos presentes nos vegetais, a variabilidade da quantidade em que eles ocorrem, a

variabilidade dos cultivares, das condições de crescimento e maturidade das plantas.

Apesar dos flavonóides serem relativamente estáveis ao calor, oxigênio e grau moderado de acidez, eles podem sofrer modificações ou até mesmo serem perdidos durante o processo para produzir gêneros alimentícios. Em geral, os níveis de flavonóides nos alimentos processados são aproximadamente 50% mais baixo que nos produtos frescos. A quantidade destes compostos encontrados nas bebidas é alta, e, a miricetina é o mais importante, presente principalmente em vinhos e suco de uva. A quercetina foi detectada em suco de tomate e sucos de laranja frescos e industrializados (COOK e SAMMAN, 1996).

A quercetina é o flavonóide predominante na dieta humana. Estudos epidemiológicos realizados nos E.U.A., Europa e Ásia estimaram seu consumo em torno de 4 a 68 mg/dia. Genisteína e daidzeína, pertencentes a classe das isoflavonas, são encontradas em lentilhas, soja e em seus produtos, como no leite de soja (SKIBOLA e SMITH, 2000).

O chá preto consumido no norte da Europa e o chá verde consumido no Japão são importantes fontes de flavonóides. Existem sugestões que os flavonóides presentes nestes chás, exercem um efeito benéfico na prevenção e na diminuição das taxas de doenças cardiovasculares, por apresentarem atividade antioxidante (CROUVEZIER et al., 2001).

O chá do tipo verde (japonês e chinês) é rico em substâncias polifenólicas antioxidantes, dentre elas as catequinas, que são de extrema importância no controle de várias doenças. As principais catequinas presentes no chá são epigallocatequina-3-galato, epigallocatequina, epicatequina-3-galato e epicatequina.

Existem evidências epidemiológicas sugerindo que o consumo de uma dieta rica em frutas e legumes está associada com incidência reduzida de doenças coronárias e alguns cânceres (PETERSON e DWYER, 2000).

Estudos realizados na Finlândia, em sete países europeus e nos países baixos demonstraram que a presença de alguns flavonóides como apigenina, luteolina, kaempferol, miricetina e quercetina na dieta foi correlacionado inversamente com mortalidade por desordens cardíacas (PETERSON e DWYER, 2000).

Além do possível papel dos flavonóides em riscos decrescentes de algumas formas de doença cardiovascular e câncer, há interesse crescente nos efeitos de classes específicas dos flavonóides na saúde, como por exemplo as antocianinas, que são de interesse particular por serem potentes antioxidantes (WANG et al., 1997).

HOLLMAN et al. (1995) determinaram a absorção de várias formas de quercetina em voluntários humanos, concluindo que quantidades significantes podem ser absorvidas tanto na forma de aglicona quanto na forma glicosídica. WALLE et al. (2000) realizaram um estudo semelhante, verificando que a quercetina glicosilada foi hidrolisada mais eficientemente pela β -glicosidase presente no intestino delgado, sendo portanto absorvida mais rapidamente que a quercetina aglicona. Contudo, é necessário que outros estudos sejam conduzidos, para elucidar o mecanismo de absorção dos flavonóides em humanos.

As classes de flavonóides variam em sua absorção e seu metabolismo ainda não está totalmente elucidado. Eles são conjugados no fígado e em menor extensão no rim e excretados via bile ou urina. Os microorganismos residentes no intestino hidrolisam o anel pirano e degradam os flavonóides para ácido fenólico, que podem ser absorvidos, conjugados e excretados ou metabolizados posteriormente (PETERSON e DWYER, 1998).

Flavonóides glicurônicos e sulfatos, por serem compostos polares, parecem ser facilmente excretados pela urina em mamíferos. Pesquisas mostram que os flavonóides conjugados também podem ser excretados pela bile em ratos (HACKETT, 1986).

A estrutura química do flavonóide determina a extensão de sua absorção intestinal, a natureza dos metabólitos circulantes no plasma, tendo sido considerado as variações individuais. Evidências de sua absorção, através de suas barreiras intestinais, têm sido obtidas por medidas da capacidade antioxidante no plasma e urina, após a ingestão de flavonóides puros ou contidos em alimentos. A concentração de muitos flavonóides absorvidos no intestino delgado, reduz rapidamente no plasma (tempo de meia-vida de 1 a 2 horas). No entanto, são relatados estudos com o flavonóide quercetina que tem um tempo de meia-vida de 24 horas, provavelmente por sua alta afinidade pela albumina do plasma (TAPIERO et al., 2002).

Como resultado da excreção biliar, os flavonóides são excretados dentro do duodeno, onde eles vão entrar em contato com enzimas produzidas pelos microorganismos do intestino. É provável que no caso dos flavonóides, que são preferencialmente excretados na bile, os produtos da hidrólise do anel e os flavonóides agliconas sejam os produtos do metabolismo, não só dos flavonóides administrados oralmente e que não foram absorvidos, mas também de seus metabólitos biliares. É também provável que os flavonóides glicurônicos de origem biliar, sofram hidrólise metabólica no lúmen do intestino, pois sabe-se que uma grande quantidade de β -glicuronidase está presente no intestino. Os flavonóides liberados podem, além disso, serem metabolizados pelas bactérias intestinais ou reabsorvidos, sendo então transferidos via veia porta hepática para o fígado, metabolizados e reexcretados na bile, produzindo uma circulação enterohepática. A circulação enterohepática é importante para a atividade terapêutica dos flavonóides, por contribuir na manutenção da concentração destes nos tecidos alvo (HACKETT, 1986).

WOOD et al. (1986) relataram que flavonóides naturais e sintéticos têm efeitos marcantes sobre complexo citocromo P-450 monoxigenase, incluindo a indução da síntese de enzimas específicas do cit P-450 e ativação ou inibição dessas enzimas. As enzimas do citocromo P-450 monoxigenase estão envolvidas no metabolismo de vários xenobióticos, incluindo drogas, carcinogênios, dentre outras substâncias estranhas ao organismo. Portanto, a modulação dessas enzimas tem uma importância tanto farmacológica quanto toxicológica.

Diversas enzimas estão envolvidas no metabolismo de flavonóides. A β -glicosidase citosólica encontrada em vários tecidos e no fígado é responsável por catalisar uma grande variedade de glicosídios xenobióticos. A lactase hidrolase florissina está localizada na membrana no intestino delgado e tem um papel no metabolismo de flavonóides glicosilados, porque catalisa a hidrólise desses. No entanto, 90% dos europeus, africanos e asiáticos têm deficiência dessa enzima (TAPIERO et al., 2002).

A UDP glicuronosil transferase catalisa a conjugação de ácido glicurônico com flavonóides. Ela está situada no retículo endoplasmático e faz parte de um complexo enzimático. A glicuronidação pode ser modificada pelo ambiente, dieta e polimorfismo genético que explicam as diferenças individuais

observadas em glicuronidação de flavonóides. O fígado tem grande capacidade para glicuronidação (TAPIERO et al., 2002).

A fenol sulfotransferase é um grupo de pequenas enzimas citosólicas que atuam sobre flavonóides endógenos ligando a eles um grupo sulfato. Geralmente, as sulfotransferases não são induzidas pela dieta, xenobióticos ou meio ambiente. Algumas sulfotransferases são inibidas por polifenóis. O flavonóide quercetina inibe a SULT1A (BURCHELL et al., 1995).

SKIBOLA e SMITH (2000) relataram que pouco se conhece a respeito do efeito toxicológico da ingestão excessiva de flavonóides. Nas populações da Ásia, a média da ingestão diária de flavonóis é de 68 mg e de isoflavonas é de 20-240 mg. Nesta proporção, não causam efeito desfavorável à saúde. Os níveis requeridos de flavonóides para induzir mutações e citotoxicidade não podem ser obtidos através das fontes da dieta. No entanto, o uso de suplementos formulados com antioxidantes e misturas de ervas em doses elevadas, podem resultar em níveis potencialmente tóxicos ao organismo. Como exemplo, as indústrias que produzem suplementos com quercetina recomendam doses entre 500 e 1000 mg/dia, o que é 10-20 vezes mais do que pode ser consumido em uma dieta vegetariana. Isto sugere que a comercialização de suplementos, contendo flavonóides não regulamentados, pode ter atividade biológica desfavorável por afetar a saúde.

Os flavonóides são encontrados em quase todas as plantas e possuem muitos constituintes ativos com ação farmacológica. Por isso, muitos estudos têm sido realizados com o objetivo de elucidar os seus mecanismos de ação e verificar as suas propriedades farmacológicas e toxicológicas. Várias pesquisas já constataram que eles possuem atividades biológicas múltiplas, agindo como vasodilatadores, anticarcinogênicos, antiinflamatórios, antibacterianos, antialérgicos, antivirais e antioxidantes (DUARTE et al., 1993; YODIM et al., 2002, MIDDLETON et al., 1992 e BATLOUNI, 1997).

GAO et al. (2001) estudaram os flavonóides presentes nas raízes de *Scutellaria baicalensis* Georgi, uma tradicional planta da medicina chinesa com ação antiinflamatória. Eles verificaram que os flavonóides presentes nessa planta (baicalina, baicaleína, wogonosídeo, wogonina) apresentaram efeito protetor na injúria oxidativa de células neuronais.

YUGARANI et al. (1992) demonstraram que os flavonóides agem como redutores da hiperlipidemia. JAHROMI e RAY (1993) determinaram as concentrações de lipídios em ratos depois da administração de marsupina, pterosupina e liquiritigenina. Os resultados mostraram que liquiritigenina e pterosupina reduziram as concentrações de colesterol, colesterol-LDL e os indícios de aterogênese. Pterosupina também mostrou ser eficiente na redução de triacilgliceróis.

Durante as últimas décadas, evidências científicas vêm demonstrando que as isoflavonas podem trazer benefícios no controle de doenças crônicas tais como câncer, *diabetes mellitus*, osteoporose e doenças cardiovasculares. Além da sua atividade anti-estrogênica, possuem diversas propriedades biológicas que podem afetar muitos processos bioquímicos e fisiológicos. As evidências, de que as isoflavonas protegem contra várias doenças crônicas, são baseadas em estudos experimentais e epidemiológicos. Em humanos, estudos epidemiológicos mostraram uma maior incidência de alguns tipos de câncer (mama, próstata e cólon) e doenças cardiovasculares nas populações ocidentais expostas a limitadas quantidades de isoflavonas de soja na dieta. Vários modelos experimentais com animais mostraram que as isoflavonas podem também prevenir a perda óssea pós-menopausa e a osteoporose. Os mecanismos pelos quais as isoflavonas podem exercer estes efeitos parecem depender, em parte, das suas propriedades anti-estrogênicas, inibição da atividade enzimática e efeito antioxidante (ESTEVES e MONTEIRO, 2001).

Estudos epidemiológicos sugerem que a alta ingestão de frutas e vegetais está associada com a redução do risco da doença coronária. O suco de laranja é uma fonte rica em vitamina C, folato e flavonóides, tais como hesperidina, e, induz respostas hipocolesterolemiantes em animais. KUROWSKA et al. (2000) incluíram na dieta de indivíduos com moderada hipercolesterolemia suco de laranja na dose de 1, 2 ou 3 copos (250ml cada), por um período de quatro semanas. Constataram que o consumo de 750 ml diário do suco de laranja aumentou as concentrações de HDL, triacilgliceróis, folato e vitamina C.

ARTS et al. (2001) realizaram um estudo epidemiológico com idosos, (Zutphen) com o objetivo de avaliar a associação entre a ingestão de catequina e a incidência da mortalidade causada por ataque e isquemia cardíaca. A maior fonte de catequinas nesta população foi o chá preto (87%), maçã (8%) e

chocolate (3%). Eles verificaram que a ingestão desse flavonóide, pode reduzir o risco da mortalidade por isquemia, mas não por ataque cardíaco.

NIJVELDT et al. (2001) relataram que os flavonóides podem prevenir a injúria causada pelos radicais livres de várias maneiras, sendo que uma delas é a remoção direta destes. Desta forma, os flavonóides podem inibir a oxidação da LDL *in vitro* e esta ação tem efeito preventivo em relação à aterosclerose. A epicatequina e rutina possuem esta propriedade. A habilidade da rutina em remover radicais livres pode ser devido a inibição da atividade da enzima xantina oxidase.

Pesquisas demonstraram que os flavonóides interagem com vários sistemas de enzimas. NIJVELDT et al. (2001) relataram que espécies reativas de oxigênio na presença de ferro resultam na peroxidação lipídica. Alguns flavonóides, como a quercetina, podem quelar o ferro e assim, contribuir para inibição da peroxidação lipídica.

Os ácidos graxos C₂₀ poliinsaturados, como o ácido araquidônico, originam os eicosanóides, compostos que exercem diversas ações biológicas. Esses compostos incluem as prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos e os leucotrienos (SMITH et al., 1988). A conversão do ácido araquidônico a prostaglandinas e tromboxanos ocorre via ciclooxigenase, e a leucotrienos e lipoxinas, via lipoxigenase. Portanto, essas enzimas desempenham um importante papel como mediadores às respostas inflamatórias (NIJVELDT et al., 2001).

O ácido araquidônico é um constituinte de fosfolípidos de membrana (Figura 2). Por isso, a síntese dos eicosanóides inicia-se com a liberação deste ácido graxo, através de hidrólise, catalisada por fosfolipases específicas de fosfolípidos de origem animal (MARZZOCO & TORRES, 1999).

Os eicosanóides são sinalizadores muito potentes que agem como mensageiros de curta distância, afetando os tecidos próximos das células que o produzem (NELSON e COX, 2000). Os flavonóides podem inibir a biossíntese de eicosanóides, tais como as prostaglandinas, que estão envolvidas em várias respostas imunológicas. A quercetina pode inibir a atividade da ciclooxigenase, lipoxigenase e xantina oxidase. A apigenina, kaempferol, rutina e naringenina também podem inibir a lipoxigenase (PETERSON e DWYER, 1998).

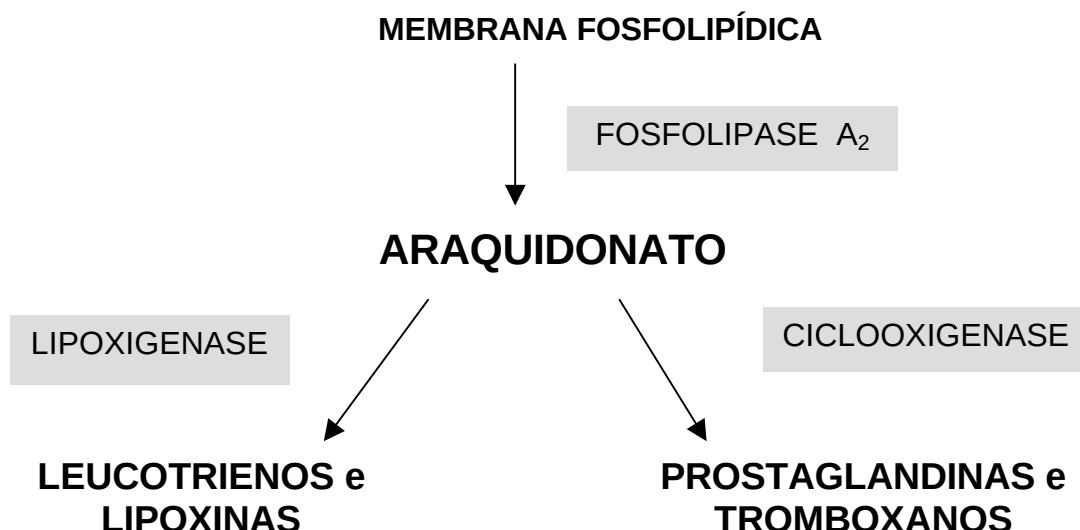


Figura 2 – Esquema mostrando a conversão do ácido araquidônico a leucotrienos, lipoxinas, prostaglandinas e tromboxanos.

FRIEDMAN et al. (1985) relataram que alguns flavonóides agem como moduladores da atividade enzimática de acil-hidrocarbonetos hidroxilases cit P-450 microsomal, que são importantes na detoxicação de hidrocarbonetos policíclicos, bem como sua ativação para derivados citotóxicos ou carcinogênicos. Este sistema metaboliza uma variedade de compostos exógenos e endógenos incluindo drogas, carcinógenos e esteróides. Esses tipos de flavonóides são distinguidos com base em seus efeitos. A 5,6 e 7,8-benzoflavona e seus derivados hidrofóbicos inibem a indução enzimática. Derivados desses contendo 4'-hidroxibenzoflavona reduzem a atividade enzimática e polihidroxi flavonas inibem as enzimas constitutivas.

2.6.2. Corantes naturais

Não há dúvida que a cor exerce grande influência na vida cotidiana. É através da cor que os consumidores são estimulados para o consumo e por isso, os corantes são largamente utilizados por muitas indústrias, principalmente pela indústria alimentícia.

De acordo com a legislação brasileira, os corantes são subdivididos dentro de cinco classes: artificiais, naturais, sintéticos idênticos aos naturais, naturais inorgânicos e caramelos. As principais plantas corantes em uso no mundo estão descritas na tabela abaixo.

Tabela 3 – Principais corantes naturais

Espécie	Parte útil	Pigmento	Países produtores
Urucum	Semente	Bixina e norbixina	Brasil, Peru e Quênia
Cúrcuma	Rizoma	Curcumina	Índia
Páprica	Fruto	Capsantina	Espanha, Hungria
Uva	Casca e frutos	Antocianina	Itália
Beterraba	Rizoma	Betalaína	França
Marygold	Flores	Xantofila	México, Peru e Equador
Espinafre, Alfafa	Folhas	Clorofila	Inglaterra, China

Fonte: OLIVEIRA et al. (1992).

O consumo diário de corantes naturais varia de acordo com o país, o clima, as dietas e as preferências individuais, diminuindo durante o inverno em face do decréscimo da produção de frutas e de vegetais.

No Brasil, o consumo de corantes naturais é certamente mais elevado, em virtude das condições climáticas favoráveis para a produção de grande variedade de frutas e de vegetais cultivados e silvestres (GUIMARÃES, 1992).

Os corantes naturais constituem o grupo mais numeroso de produtos e podem ser agrupados como: matérias-primas naturais (partes comestíveis de vegetais e animais, sucos de plantas e outros); extratos de matérias-primas (corantes extraídos por solventes diversos, evaporados, concentrados ou dessecados) e substâncias corantes extraídas e purificadas (NAZÁRIO, 1991).

Mesmo com todo o avanço tecnológico, a substituição dos corantes artificiais pelos naturais está condicionada a vários fatores, como aspecto toxicológico, aspecto tecnológico e avaliação mercadológica. A exigência do consumidor por alimentos mais saudáveis é a grande vantagem dos corantes naturais, apesar de serem mais onerosos para a indústria alimentícia (CARVALHO, 1992; TAKAHASHI e YABIKU, 1992).

Um fator que tem proporcionado uma grande demanda para os corantes naturais, em substituição aos corantes sintéticos é que alguns estudos sobre a toxicidade dos corantes sintéticos mostraram que alguns apresentam efeitos

nocivos à saúde, tais como: doenças da tireóide, lesões no fígado, hiperacidez e alergias do tipo asma, rinite e urticária (GUIMARÃES, 1991).

Os corantes naturais permitidos pela legislação internacional estão classificados em quatro grandes grupos: antocianinas, betalaínas, carotenóides e diversos (cúrcuma, clorofila, cochonilha) (GUIMARÃES, 1996).

Os carotenóides compreendem uma família de compostos naturais, dos quais mais de 600 variantes estruturais foram descritas e caracterizadas a partir de bactérias, algas, fungos e plantas superiores. Os mamíferos não estão bioquimicamente capacitados para a sua biossíntese, mas podem acumular e converter precursores que obtêm da dieta (conversão de β -caroteno em vitamina A). No plasma humano, os carotenóides são transportados associados às lipoproteínas e predominam o β -caroteno e o licopeno. Os mais encontrados nos alimentos vegetais são o β -caroteno, licopeno, várias xantofilas e a bixina (FONTANA et al., 2000).

2.6.2.1. Bixina

Do urucum são fabricados os corantes naturais mais difundidos na indústria de alimentos, ou seja, os produtos do urucum representam aproximadamente 70% (em quantidade) de todos os corantes naturais e 50% de todos os ingredientes naturais que têm função corante nos alimentos.

A partir das sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) podem-se obter vários tipos de corantes, diferentes entre si na solubilidade e pigmentação. Dentre esses corantes, podem-se citar a bixina, a norbixina (lipossolúvel), o sal da norbixina (hidrossolúvel) e os produtos de degradação térmica, que têm como características a lipossolubilidade e uma coloração amarela mais estável, ideal para o uso em massas (CARVALHO, 1992).

Corantes à base de norbixina são utilizados em salsicharias, laticínios e cereais. Os corantes à base de bixina possuem grandes aplicações em massas recheios, produtos oleosos e também os condimentos como o colorau ou colorífico, muito comum na culinária brasileira e na América Latina (GHIRALDINI, 1996).

A prática de colorir alimentos é muito antiga, porém a preocupação com a segurança dessa prática é relativamente recente. Apesar das informações

ainda serem escassas, já existem alguns relatos na literatura à respeito da atividade biológica dos corantes naturais.

Os radicais livres e as espécies reativas de oxigênio são gerados no curso do metabolismo normal, mas são intensificadas após exposição a xenobióticos. Como efetores maléficos, clivam o DNA, peroxidam lipídios insaturados, alteram a atividade enzimática e despolimerizam polissacarídeos. O efeito global é o envelhecimento e morte celular. Compostos naturais ricos em duplas ligações conjugadas atuam, por seu efeito antioxidante, na destruição e seqüestro destes radicais livres. Este é o efeito mais benéfico que os carotenóides da dieta ou de formulações medicamentosas podem desempenhar no organismo humano ou animal.

A vitamina A (derivada do β -caroteno mediante a cissão e oxidação) está envolvida no processo de visão, reprodução e desenvolvimento normal da pele (FONTANA et al., 2000).

KOHLMEIER e HASTINGS (1995) relataram que vários estudos epidemiológicos evidenciaram que a ingestão de β -caroteno promove um efeito preventivo na incidência da doença cardiovascular.

Estudos realizados por VALENTE et al. (1998) mostraram que os corantes naturais cúrcuma, antocianina, carmim e monascus diminuíram as concentrações de colesterol total e colesterol-HDL em ratos hipercolesterolêmicos. Observou-se também, uma redução nas concentrações de triacilgliceróis, com exceção do carmim, que não apresentou significância na redução deste parâmetro.

Vários estudos foram realizados com os corantes naturais e flavonóides, isolados e em associação, com o objetivo de verificar o sinergismo e as propriedades farmacológicas dessas substâncias. VIRTUOSO et al. (2001) avaliaram o efeito do flavonóide rutina, do medicamento colestiramina, do corante natural betalaína, bem como verificou o sinergismo entre o flavonóide rutina associado a betalaína em coelhos hiperlipidêmicos, induzidos com triton. As substâncias foram administradas por via oral, misturadas à ração. Os melhores resultados na redução do colesterol total e colesterol-LDL foram obtidos com os grupos que receberam betalaína (20 mg/kg de peso corporal) e rutina associada com betalaína (5 e 10 mg/kg de peso corporal, respectivamente). Em relação às concentrações de colesterol-HDL e

triacilgliceróis, os melhores resultados foram obtidos com os grupos que receberam rutina (10 mg/kg) e rutina associada com betalaína (5 e 10 mg/kg). Estes resultados mostraram a grande potencialidade terapêutica dessas substâncias, o que sugere a realização de novos estudos com esses compostos, avaliando também o sinergismo entre eles.

SILVA (2001) avaliou os efeitos dos corantes naturais cúrcuma e norbixina no controle do metabolismo lipídico em aves, tratadas com uma dieta contendo ração e gordura de suíno. Houve redução nas concentrações séricas de colesterol, colesterol-LDL e de triacilgliceróis, e um aumento nas concentrações de colesterol-HDL.

GERMANO et al. (1997) mostraram que o extrato de urucum tem boa tolerabilidade cutânea, podendo ser utilizado pela indústria de cosméticos. Foram realizados estudos histológicos para avaliar respostas tóxicas, os danos e penetração do corante na pele de coelhos.

Em um estudo com as raízes de *Bixa orellana*, essas apresentaram princípios farmacologicamente ativos. O extrato aquoso teve um pronunciado efeito na atividade motora espontânea em camundongos e inibiu o volume da secreção gástrica, sem influenciar a produção de ácidos. Parece possuir também propriedades antiespasmódicas e hipotensivas (DUNHAM e ALLARD, 1960).

Alguns estudos realizados na Holanda sobre a toxicidade do urucum mostraram que este pode ser empregado com segurança para colorir manteigas, margarinas e queijos. Uma ingestão diária temporária de 1,25 mg/kg de massa corpórea para extratos de urucum foi permitida pela FAO/OMS desde 1970 (GENERALIDADES..., 2002).

2.6.3. Leite e algumas propriedades funcionais

O leite é considerado um dos alimentos mais completos por fornecer grande quantidade de nutrientes essenciais ao ser humano. Dentre estes temos o cálcio, que é um elemento fundamental para a formação dos ossos e dos dentes. A ingestão adequada desse mineral vem se firmando como uma das principais estratégias alimentares para garantir um envelhecimento sadio e com menor risco a doenças degenerativas como, por exemplo, a osteoporose,

que é uma doença grave e freqüente. As estatísticas mostraram que, no Brasil, uma entre cada três mulheres, depois da menopausa, poderá desenvolver a enfermidade. A melhor maneira de evitá-la é consumir quantidades adequadas de cálcio desde a infância.

O leite é reconhecidamente a melhor fonte de cálcio pelo fato deste estar biodisponível para o organismo em função de sua forma química e da presença da lactose, sendo então, mais facilmente absorvido do que o cálcio presente em outros alimentos.

Tabela 4 – Ingestão diária recomendada (IDR) de cálcio, segundo Ministério da Saúde 1998 (base: RDA 1998)

Grupos	Recomendação
Lactentes (1-3 anos)	800 mg
Crianças (4-10 anos)	800 mg
Adultos	800 mg
Gestantes	1200 mg
Lactantes	1200 mg

Fonte: <http://www.ablv.org.br>.

De acordo com MASSEY (2003), evidências clínicas e bioquímicas indicam que o consumo de leite e produtos lácteos estão associados à redução da pressão arterial e ao risco de derrame. Essa propriedade não foi atribuída especificamente a um único nutriente, dentre os que podem ser encontrados no leite. Segundo a pesquisa, o equilíbrio metabólico entre o cálcio, magnésio e potássio é fundamental na redução do risco de pressão alta e derrame. O leite e os produtos lácteos mantêm quantidades significativas de cálcio, magnésio e potássio após a industrialização, sendo, portanto, fontes importantes desses minerais na dieta alimentar. Além disso, o leite contém baixa quantidade de sódio, que também traz benefícios à redução da pressão arterial.

Dentre os grupos alimentares, o leite se destaca, contendo diversos compostos que podem ser considerados importantes na prevenção do câncer e

de outras doenças. Muitos estudos sugerem que algumas proteínas lácteas têm propriedades anticarcinogênicas. Uma possível causa relacionada a estas propriedades é a composição em aminoácidos sulfurados (cisteína e metionina), principalmente nas proteínas do soro, as quais contêm aproximadamente 20% do total das proteínas do leite, sendo os outros 80% constituídos pela caseína. Aminoácidos sulfurados são necessários para a síntese de glutathione. Esse tripeptídeo é encontrado em maior concentração no fígado. Metionina e cisteína influenciam o estado de metilação celular, incluindo moléculas de DNA. O processo de metilação está relacionado com a menor susceptibilidade celular ao processo cancerígeno (FONSECA et al., 1999).

A caseína também está sendo pesquisada como agente antimutagênico, especialmente contra carcinógenos comumente usados experimentalmente, como por exemplo, o benzo(a)pirano. Depois da ingestão da caseína, alguns fragmentos de peptídeos com propriedades imunoestimulantes penetram na barreira mucosa em direção ao tecido linfático. Estudos *in vitro*, mostraram que esses peptídeos estimulam atividades fagocitárias em macrófagos humanos e de ratos. Outros estudos epidemiológicos indicaram várias propriedades anticarcinogênicas benéficas do leite. As evidências sugerem que além das proteínas, constituintes como ácido linoléico conjugado protege contra o desenvolvimento de câncer em sistemas experimentais (FONSECA et al., 1999).

Os produtos lácteos fermentados são altamente nutritivos principalmente porque os seus principais constituintes estão parcialmente pré-digeridos, devido ao processo fermentativo e por apresentar conteúdo de vitaminas do complexo B maior que quando comparados com o leite fresco (FERREIRA, 1997).

Segundo FERREIRA (1997), diversos pesquisadores constataram que os leites fermentados, contendo uma variedade de lactobacilos e bactérias bífidas, estão sendo empregados em grande número de animais de laboratório. Tem-se observado resultados alentadores em relação ao seu efeito hipocolesterolêmico, anticarcinogênico e na modulação do sistema imune. No entanto, mais pesquisas devem ser realizadas para elucidar o mecanismo de ação.

Os probióticos são microorganismos que estimulam as funções protetoras do trato digestivo. Para que isso ocorra, é necessário que essas bactérias cheguem e permaneçam vivas no trato gastrointestinal. As investigações nesta área conduziram ao estudo do papel imunomodulador do iogurte e das bactérias lácticas (REIG, 2001).

OLIVEIRA et al. (2002) relataram que diversas pesquisas vêm sugerindo possíveis efeitos benéficos de culturas probióticas sobre a saúde do hospedeiro. Entre esses efeitos, merecem destaque o controle das infecções intestinais, o estímulo da motilidade intestinal, com conseqüente alívio da constipação intestinal, a melhor absorção de determinados nutrientes, a melhor utilização de lactose e o alívio dos sintomas de intolerância a esse açúcar, a diminuição dos níveis de colesterol, o efeito anticarcinogênico e o estímulo do sistema imunológico, pelo estímulo da produção de anticorpos e da atividade fagocítica contra patógenos no intestino e em outros tecidos do hospedeiro, além da exclusão competitiva e da produção de compostos antimicrobianos. Entretanto, os resultados encontrados em outros estudos são bastante variáveis, chegando a ser contraditórios em alguns casos. Este fato evidencia que algumas propriedades benéficas atribuídas às culturas probióticas, necessitam de estudos mais controlados para serem definitivamente estabelecidos.

As proteínas do soro possuem um dos mais altos índices de valor biológico em comparação a outras fontes protéicas, tais como ovos, carne bovina, soja e caseína. São um conjunto heterogêneo de proteínas que representa aproximadamente 20% do total da proteína láctea e muitas delas tem funcionalidade fisiológica. O teor de aminoácidos essenciais das proteínas do soro é maior do que quaisquer outras fontes e correspondem a 60% do valor protéico total do soro. Contém níveis elevados de leucina e lisina em comparação ao isolado protéico de soja ou clara do ovo desidratada. É também uma boa fonte de aminoácidos contendo enxofre, tais como cisteína e metionina. São subdivididas em β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, albumina do soro, lactoferrina, lactoperoxidase e imunoglobulinas, dentre outras. Uma das funções da β -lactoglobulina, uma das principais proteínas do soro parece ser a fixação de retinol e seu transporte ao intestino delgado (RICHARDS, 2002).

Em um estudo australiano verificou-se que dietas ricas em proteínas do soro têm um efeito muito significativo na redução da incidência de tumores cancerígenos de cólon, induzidos quimicamente em ratos fêmeas em comparação com outras dietas experimentais que contêm proteínas de caseína, de carne e de soja (RICHARDS, 2002).

A inclusão de proteína do soro em dietas experimentais tem sido relacionada com um efeito estimulante do sistema imunológico, um efeito de diminuição do colesterol LDL e um aumento da produção de colecistoquinina, uma substância implicada na supressão do apetite (RICHARDS, 2002).

A lactoferrina é uma proteína capaz de seqüestrar o ferro livre, possuindo um grande potencial antimicrobiano por restringir o crescimento de bactérias gram-positivas e gram-negativas (KOLB, 2001).

2.6.4. Valor nutricional do leite de cabra

O valor nutricional do leite de cabra é amplamente conhecido no meio científico e sua importância na alimentação das populações, principalmente das crianças e de idosos, tem sido destacada em muitas pesquisas. É um alimento de fácil digestão, resultante da riqueza em extrato seco, do tamanho de suas moléculas de gordura (menor diâmetro), sendo digerido no estômago humano em torno de 40 minutos após seu consumo, enquanto que o leite de vaca leva, aproximadamente, duas horas e meia. Em países desenvolvidos, o leite caprino é muito utilizado na geriatria como produto dietético (ALVES e PINHEIRO, 2003).

Segundo FSIBERG et al. (1999) o leite de cabra facilita a digestibilidade e favorece o esvaziamento gástrico e, em consequência, reduz a incidência de aparecimento de refluxo gastroesofágico. Apresenta maior quantidade de cálcio, fósforo, potássio, magnésio, cloro e manganês, porém, menor quantidade de sódio, ferro, zinco, enxofre e molibdênio, quando comparado ao leite de vaca.

As cinco principais proteínas do leite caprino são a β -lactoalbumina, a α -lactoalbumina, k-caseína, β -caseína e a caseína. A alergia do leite de vaca é causada pela fração protéica α -1 caseína. No leite de cabra, a α -1 caseína

está presente em menor quantidade e a estrutura difere nas duas espécies de leite (ALVES e PINHEIRO 2003).

FSIBERG et al. (1999) realizaram um estudo sobre a aceitação e tolerância do leite de cabra em pré-escolares de três creches municipais de São Paulo, concluindo tratar-se de excelente opção para substituição do leite de vaca, após o primeiro ano de vida. Foram analisados os leites de cabra em pó e na forma UHT, enriquecido com ferro e vitaminas, visando o controle da anemia. Não houve registro de alergia ou intolerância no decorrer do estudo e, em crianças normais, a utilização do leite de cabra favoreceu a ingestão láctea e, por isso, de cálcio.

2.6.5. Soja e seus derivados

A soja originou-se no sudeste asiático há muitos séculos atrás e só em 1882 é que foi trazida para o Brasil, sendo cultivada na Bahia. Atualmente, apenas os Estados Unidos e a China produzem mais soja do que o Brasil. Inúmeras são as aplicações da soja, inclusive na alimentação humana. Fermentada, ela produz diferentes molhos; prensada, ela dá óleo que pode ser usado na cozinha; germinada, ela é um vegetal fresco, rico em vitaminas; moída seca, forma farinha; moída depois de macerada com água, forma o extrato hidrossolúvel de soja, que coalhado, produz o queijo de soja, um substituto para a carne. O extrato hidrossolúvel de soja é produzido com as variedades cujas sementes sejam brancas ou amarelas. Resumidamente, o processamento é o seguinte: as sementes ficam de molho durante 24 horas, sendo então moídas. Filtra-se e o filtrado é o extrato hidrossolúvel de soja (GOMES, 1990).

Conforme mostra a Tabela 5, o extrato hidrossolúvel de soja é um dos mais ricos em proteína e possui as mesmas finalidades que os leites naturais. Na China, é básico no aleitamento de crianças.

O extrato hidrossolúvel de soja normal pode ser seco e reduzido a pó, tal como se faz com o leite normal. Concentrado, o extrato hidrossolúvel de soja em pó é mais rico em proteína e em gordura do que o leite de vaca em pó desnatado, sendo utilizado na alimentação dos diabéticos, no aleitamento artificial de bezerros (GOMES, 1990).

Tabela 5 – Constituintes do extrato hidrossolúvel de soja e do leite de diferentes espécies (em média)

	Proteínas (%)	Gorduras (%)	Hidratos de carbono (%)	Cinzas (%)
Extrato hidrossolúvel de soja	5,56	2,46	1,40	0,80
Leite humano	1,25	2,50	6,00	0,25
Leite de vaca	3,50	4,00	5,25	0,75
Leite de cabra	4,00	4,50	4,00	0,50

Fonte: adaptado de GOMES (1990).

Os alimentos contribuem com seis classes de nutrientes: proteínas, carboidratos, lipídios, minerais, vitaminas e água. Como alimento, a soja destaca-se por ser excelente fonte de proteína vegetal e de óleos comestíveis. Os nutrientes essenciais fornecidos pela soja são principalmente aminoácidos, ácidos graxos essenciais, tocoferol, algumas vitaminas do complexo B e alguns minerais. As proteínas da soja, como as de outras leguminosas, é deficiente nos aminoácidos sulfurados, metionina e cistina, porém apresenta bom teor de lisina (SILVEIRA et al., 1989).

2.7. Efeito da proteína dietética na hipercolesterolemia

Inúmeros estudos realizados em diferentes espécies animais, demonstraram que a proteína animal é mais colesterolêmica e aterogênica que a proteína vegetal. Esta conclusão é verdadeira, mas o efeito de um único componente da dieta pode influenciar no efeito dos outros. Assim, quando o carboidrato é dextrose, a caseína (principal proteína do leite) é mais colesterolêmica em coelhos que a proteína de soja, mas quando o carboidrato é amido (oriundo da batata), as duas proteínas são equivalentes. Similarmente, uma dieta contendo caseína e celulose, é mais colesterolêmica em coelhos que a proteína de soja e celulose (YADAV e LIENER, 1977; KRITCHEVSKY, 1979; FORSYTHE, 1995).

Parâmetros metabólicos como a composição de aminoácidos das proteínas dietéticas, absorção de colesterol, a taxa de “turnover” e a regulação

hormonal têm sido reveladas como fatores importantes em estudos que comparam dietas com proteína de soja e caseína (YI-FA e MING-RU, 1997; NAGATA et al., 1980). A proteína interage com outros componentes da dieta, e, essa interação é que determina as concentrações de lipídios séricos e lipoproteínas e, conseqüentemente, seus efeitos na parede arterial. Também no homem, a proteína vegetal parece ser menos colesterolêmica que a proteína animal. Na tentativa de explicar o mecanismo da diferença na aterogenicidade, a elevada razão de lisina e arginina podem ter relevada importância. A razão lisina/arginina da caseína e proteína de soja é de 2,0 e 0,90, respectivamente. Aumentando-se a razão lisina/arginina na proteína de soja para 2,0 também aumenta a aterogenicidade da dieta (KRITCHEVSKY, 1979).

JACOBUECCIA et al. (2001) administraram uma dieta contendo 20% de proteína isolada de soja, 20% de caseína e 20% de proteína de soro de leite, por via oral a ratos machos da raça Wistar. Eles compararam o efeito dessas dietas no crescimento e nas concentrações de lipídios no soro sangüíneo e no fígado. Observaram que as concentrações de colesterol no soro sangüíneo e o colesterol do fígado foram significativamente mais altos para os animais que receberam a dieta com caseína.

YI-FA e MING-RU (1997) investigaram o efeito da proteína de soja e da caseína no metabolismo lipídico em ratos adultos e nos filhotes. Para induzir a hiperlipidemia, foi utilizado 1% de colesterol adicionado na dieta. Eles verificaram que as mães que foram alimentadas com a dieta contendo proteína de soja, apresentaram menores concentrações de colesterol no soro, no fígado e no leite, quando comparado com o grupo que recebeu dieta contendo caseína. Os filhotes amamentados pelas fêmeas tratados com proteína de soja, também apresentaram concentrações menores de colesterol, de triacilgliceróis e fosfolipídeos que o grupo que recebeu dieta contendo caseína.

GILANI et al. (2002) mostraram que proteínas de original animal (caseína e gelatina) podem influenciar o metabolismo de triacilgliceróis e esteróis e o efeito global é dependente do tipo de gordura da dieta. Observaram um efeito hipocolesterolemizante significativo da gelatina, quando comparada com a caseína.

A suplementação da caseína com gelatina ou glicina, ou, glicina mais arginina (aminoácidos estabelecidos em abundância na gelatina) reduziu a concentração sérica de colesterol em ratos, confirmando a propriedade hipocolesterolêmica da glicina e arginina da dieta. Entretanto, a suplementação da gelatina com ácido glutâmico, metionina, fenilalanina ou tirosina ou uma mistura desses aminoácidos (presentes em grandes quantidades na caseína) não teve efeito nas concentrações de colesterol (SARWAR et al., 2000).

Após duas semanas, a concentração de colesterol plasmático e de colesterol no fígado de hamsters alimentados com um produto com proteína de trigo, foi significativamente menor que nos animais que receberam caseína e proteína isolada de soja. TOMOTAKE et al. (2000) relataram que o produto testado, possui maiores quantidades de glicina e arginina que a caseína e que a proteína isolada de soja. No entanto, outros estudos deverão ser realizados para avaliar se o efeito do produto com proteína de trigo está relacionado com esses aminoácidos.

Ratos machos e fêmeas foram alimentados com dietas semipurificadas, uma contendo caseína e outra contendo proteína de soja, cada uma em dois níveis (20% e 50% peso/peso) durante quatorze semanas. Houve aumento nas concentrações de colesterol sérico nas fêmeas tratadas com caseína e nos machos, o aumento só ocorreu nos animais tratados com dieta comercial enriquecida com 1,2% de colesterol (TERPSTRA et al., 1982).

NAGATA et al. (1980) verificaram que os ratos tratados com proteína de soja, quando comparados com animais tratados com caseína, excretaram maiores quantidades de esteróides de origem endógena, acompanhado por um aumento do peso fecal. A conversão do colesterol em coprostanol não foi influenciada pelo tipo de proteína da dieta. Embora a redução de colesterol sérico pareça ser maior em α -lipoproteínas que em β -lipoproteínas, a proporção de colesterol total formado permaneceu quase inalterada. A concentração sérica de apo A-I foi menor em ratos tratados com proteína vegetal.

KRITCHEVSKY (1979) descreveu que a razão lisina/arginina pode ser o maior fator responsável por causar alterações no colesterol plasmático em coelhos que receberam diferentes proteínas na dieta. Essa hipótese foi baseada na observação de que a lisina inibe a atividade da arginase, postulando-se que a arginina extra da caseína pode contribuir para a formação

de grandes quantidades de apoproteína rica em arginina, que se acredita ser aterogênica.

NAGATA et al. (1980) constataram que a dieta suplementada com colesterol reduziu alguns aminoácidos, especialmente treonina, indicando que aminoácidos específicos podem estar intimamente envolvidos no metabolismo do colesterol. A treonina pode ser requerida quando a ingestão de colesterol é elevada.

HUFF e CARROL (1980) observaram que o “turnover” do colesterol plasmático e a excreção fecal de esteróides e ácidos biliares aumentaram em coelhos alimentados com proteína de soja em comparação com os que receberam caseína. Segundo CARROL (1981) o aumento da taxa de “turnover” e excreção foram associados com redução na habilidade dos coelhos tratados com proteína de soja em absorver colesterol intestinal. Uma possibilidade é que os produtos da digestão parcial da proteína de soja podem seqüestrar colesterol e/ou ácidos biliares e, assim, diminuir a sua reabsorção intestinal. Essa dieta pode também influenciar nas concentrações de lipoproteínas plasmáticas e alterar a síntese ou metabolismo de algumas apoproteínas.

2.8. Efeito dos ácidos graxos na hipercolesterolemia

Duas classes de ácidos graxos da dieta são capazes de elevar as concentrações de colesterol: os ácidos graxos saturados e os monoinsaturados *trans* (GRUNDY, 2003). Segundo LOTTENBERG (1992) o colesterol alimentar também interfere nas concentrações plasmáticas de colesterol, mas a quantidade de ácidos graxos de cadeia saturada exerce influência três vezes superior. Estudos dietéticos em humanos e animais, utilizando lipídios interesterificados têm mostrado a estrutura do triacilglicerol, em adição a composição de ácidos graxos, como um determinante fator colesterolêmico e aterogênico dos lipídios (KUBOW, 1996). As gorduras animais, tais como no leite de vaca e banha de porco, contêm principalmente ácidos graxos saturados na posição *sn*-2, ao passo que em muitos óleos vegetais, os ácidos graxos insaturados ocupam a posição *sn*-2 e os saturados, geralmente, se localizam na posição *sn*-1 e *sn*-3.

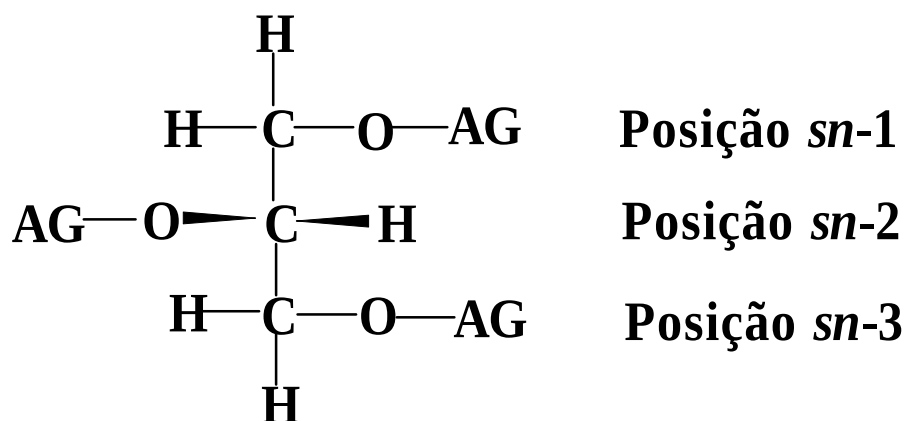


Figura 3 – Configuração estereoquímica da molécula de triacilglicerol, mostrando a posição *sn* dos átomos de carbono do glicerol.

KRITCHEVSKY et al. (1998) conduziram um estudo em coelhos utilizando dietas contendo 14% de banha de porco e 14% de sebo, com o objetivo de examinar os efeitos de suas propriedades aterogênicas. Tanto a banha de porco quanto o sebo contém aproximadamente 24% de ácido palmítico (16:0), entretanto, este difere na posição no triacilglicerol. Mais de 90% do (16:0) da banha de porco está localizada na posição *sn*-2, enquanto que só 15% de (16:0) do sebo está nesta posição. Eles constataram que o nível de (16:0) na posição *sn*-2 influencia a aterogenicidade, confirmando os resultados de outros estudos.

A distribuição, em função da posição de ácidos graxos no triacilglicerol do leite de vaca e da soja, é mostrada na Tabela 6. Acredita-se que diferenças na posição na distribuição de ácidos graxos entre os lipídios naturais possuem efeitos específicos no perfil, estrutura e composição das lipoproteínas (KUBOW, 1996).

Entre os ácidos graxos observam-se comportamentos diferentes. Assim, os ácidos palmítico (16:0) e mirístico (14:0) elevam as concentrações de LDL. O ácido láurico (12:0) promove hipercolesterolemia, sendo em menor quantidade que os ácidos palmítico e mirístico. Acredita-se que os ácidos graxos monoinsaturados, como por exemplo o ácido oléico, não tem influência nas concentrações de colesterol. Com relação ao ácido elaídico (18:1), resultante dos processos de hidrogenação de óleos vegetais, existem indícios

Tabela 6 – Distribuição em função da posição de ácidos graxos no triacilglicerol do leite de vaca e soja

Ácidos graxos	Posição	Fonte	
		Leite de vaca (mol %)	Soja (mol %)
Ácido butírico	1	5	
	2	3	
	3	43	
Ácido capróico	1	3	
	2	5	
	3	11	
Ácido caprílico	1	1	
	2	2	
	3	2	
Ácido cáprico	1	3	
	2	6	
	3	4	
Ácido láurico	1	3	
	2	6	
	3	3	
Ácido mirístico	1	11	
	2	20	
	3	7	
Ácido palmítico	1	36	14
	2	33	1
	3	10	13
Ácido esteárico	1	15	6
	2	6	<1
	3	4	3
Ácido oléico	1	21	23
	2	14	21
	3	15	31
Ácido α -linoléico	1	1	48
	2	3	70
	3	<1	51
Ácido linolênico	1		9
	2		7
	3		1

Fonte: adaptado de KUBOW (1996).

de que poderia induzir hipercolesterolemia. Por sua vez, os poliinsaturados, como o ácido linoléico (18:2), reduzem as concentrações séricas de LDL (LIMA et al., 2000). Entretanto, em contraste com outros ácidos graxos saturados, o ácido esteárico (18:0) parece não aumentar a concentração sérica de colesterol (GRUNDY, 1994). Isto aparentemente acontece porque o ácido esteárico é rapidamente convertido em ácido oléico ao entrar no organismo (GRUNDY, 2003).

O mecanismo pelos quais os ácidos graxos aumentam as concentrações de colesterol, elevando a concentração de LDL precisam ser elucidados. Investigações realizadas em modelos animais apontam a supressão da atividade do receptor de LDL como o local principal da ação dos ácidos graxos. Uma hipótese recente relata que estes ácidos graxos interferem com a esterificação do colesterol no fígado (GRUNDY, 2003).

JORGE et al. (1997) realizaram um estudo com coelhos para verificar a influência dos ácidos graxos ômega-3 sobre a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia, bem como confrontar a função endotelial com as concentrações de colesterol plasmático, colesterol-LDL, colesterol-HDL, triglicérides e a peroxidação lipídica das partículas de LDL e da parede arterial. Verificaram que houve aumento do colesterol plasmático e das VLDL, e, redução nas concentrações de triglicérides, sem interferência nas concentrações de LDL e HDL no grupo que recebeu ômega-3. Constatou-se também que o relaxamento-dependente do endotélio foi menor que no grupo hiperlipidêmico.

Segundo KINSELLA et al. (1981) a função fisiológica dos ácidos graxos essenciais, particularmente o linoléico tem sido extensivamente revisada. O ácido linoléico, proveniente da dieta, é precursor do ácido araquidônico, que é o principal precursor de prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina e endoperóxidos relacionados. DASHTI et al. (2000) compararam o efeito dos ácidos oléico (18:1 *cis*), elaídico (18:1 *trans*) e palmítico (16:0) na produção hepática de lipoproteínas, utilizando células HepG2. Os resultados encontrados indicaram que em comparação com o *cis* monoinsaturado e os ácidos graxos saturados, os *trans* apresentaram mais efeitos adversos na concentração e composição das lipoproteínas secretadas pelas células HepG2. Comparando com o ácido oléico, o ácido elaídico estimulou a secreção de VLDL, reduziu

LDL e aumentou HDL. No entanto, o ácido palmítico diminuiu VLDL, mas não teve efeito nas concentrações de LDL e HDL.

A ação dos ácidos graxos poliinsaturados em lesões inflamatórias no intestino tem sido muito estudada. Um possível mecanismo, pelo qual esses ácidos resultam num efeito imunomodulador, inclui alterações na síntese de eicosanóides e na fluidez da membrana (TEITELBAUM e WALKER, 2001).

2.9. Interação entre fármacos e alimentos

A cinética de fármacos, principalmente em níveis de absorção e biotransformação, varia muito de indivíduo para indivíduo, refletindo diretamente na sua resposta farmacológica. A redução no grau de absorção ou a aceleração da biotransformação de um fármaco ocasiona redução do seu nível plasmático e tende a prejudicar a eficácia terapêutica. Inversamente, a inibição da transformação de um fármaco resulta quase sempre na exacerbação dos efeitos, inclusive da toxicidade (OGA, 2001).

Um dos fatores, que com frequência reduzem a absorção de certos fármacos, são os metais como o íon cálcio, cobre, cobalto, zinco, ferro e manganês contidos nos alimentos ou nos próprios medicamentos. Esses metais formam quelatos com os componentes dos medicamentos do tipo ácido salicílico e tetraciclinas impedindo a sua absorção. Na maioria desses casos, a redução no grau de absorção de fármacos, resulta na diminuição de sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, prejuízo da terapêutica (OGA, 2001).

O alimento pode causar alterações nos efeitos farmacológicos ou na biotransformação dos fármacos e este, por sua vez, pode modificar a utilização do alimento, com implicações clínicas tanto na eficácia terapêutica medicamentosa, como na manutenção do estado nutricional. O volume, a temperatura, a viscosidade, a pressão osmótica, o caráter ácido básico dos alimentos, alteram o tempo de esvaziamento gastrintestinal e as condições de solubilização através da formação de quelatos ou complexos e, conseqüentemente, a absorção de fármacos. Desta forma, a meia-vida plasmática de muitos fármacos pode ser reduzida, quando dietas forem predominantemente protéicas ou aumentada com dietas ricas em açúcares e gorduras, uma vez que os aminoácidos aumentam a atuação enzimática do

sistema citocromo P-450 hepático, enquanto que os carboidratos e ácidos graxos exercem efeitos opostos no mesmo sistema enzimático (BASILE, 2001).

O grau de absorção dos fármacos é decisivo, quando a via escolhida é a oral, para se obter o nível desejado da substância no sangue. A velocidade e a quantidade de droga absorvida por via oral são determinadas mediante análise do perfil plasmático dos princípios ativos. Conforme a natureza da substância ingerida por via oral, a absorção ocorre em diferentes locais do trato digestivo. Assim, substâncias altamente lipossolúveis são absorvidas já pela mucosa bucal. O intestino, principalmente o delgado, é o segmento do trato digestivo de grande importância na absorção da maioria dos fármacos. Consequentemente, a velocidade de esvaziamento gástrico constitui-se no estágio limitante que explica muitas das interações responsáveis pela queda na absorção de fármacos (OGA, 2001).

Atualmente, conhecem-se centenas de fármacos dotados de propriedades indutoras de sistemas enzimáticos (OGA, 2001). Flavonóides são componentes comuns de remédios naturais e estão presentes em mais de 100 preparações na França. Antocianinas originárias de *Vaccinium* e *Ribes* são utilizadas para aumentar a resistência capilar. Muitos cosméticos e remédios são produzidos a partir do própolis, que contém inúmeros flavonóides (PETERSON e DWYER, 1998). A literatura relata que alguns flavonóides podem inibir a enzima xantina oxidase. Essa enzima pode reagir com moléculas de oxigênio, liberando radicais superóxidos (NIJVELDT et al., 2001). Os radicais livres podem causar a modificação oxidativa das LDL, e assim, estas podem provocar lesões na parede endotelial e levar à formação de aterosclerose (NIJVELDT et al., 2001).

STRUCKMANN e NICOLAIDES (1996) relataram que já existe no mercado um medicamento denominado Daflon, cuja composição compreende 450 mg do flavonóide diosmina e 50 mg do flavonóide hesperidina, perfazendo 500 mg. Esse medicamento é utilizado em pacientes com distúrbios circulatórios, possuindo ação sobre o tônus venoso, a inibição da síntese de prostaglandinas, a proteção contra radicais livres, o aumento da drenagem do sistema linfático, a redução da permeabilidade capilar e o aumento da resistência capilar.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito do flavonóide naringenina e do carotenóide bixina e suas associações com leite em pó de vaca, cabra e extrato hidrossolúvel de soja sobre o metabolismo lipídico de coelhos.

Os ensaios biológicos e as análises dos constituintes do soro sangüíneo dos animais foram realizados no laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular na Universidade Federal de Viçosa.

Para a realização dos ensaios biológicos foram utilizados coelhos albinos, machos, da raça Nova Zelândia, fornecidos pela Cunicultura do Departamento de Zootecnia da UFV.

No período de adaptação de 5 dias e no decorrer dos 31 dias dos ensaios biológicos, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, recebendo ração comercial da marca Guabi e água “ad libitum”. A composição da ração fornecida pelo fabricante é a seguinte:

Composição básica do produto - farelo de feno de gramíneas, milho, farelo de arroz solvente, sorgo, farelo de arroz cru, farelo de casca de arroz, farelo de soja, farelo de glúten de milho 60%, caulim, carbonato de cálcio, melaço líquido, sal, premix mineral e vitamínico, fosfato bicálcio.

Eventuais substitutos - arroz quirera, trigoilho, farelo de trigo, farelo de feno de alfafa, farelo de algodão 40%, farelo de casca de avelã, farelo de glúten de milho 21%.

Enriquecimento por Kg do produto – vitamina A 6.000 UI, vit. D3 700 UI, tiamina 1,50 mg, riboflavina 3 mg, pantotenato de cálcio 15 mg, niacina 35 mg, colina 350 mg, ácido fólico 1,4 mg, vit. B12 2 mcg, antioxidante (etoxiquim) 125 mg, antibiótico 50 mg, vit. E 30 UI, agente anticoccidiano 30 mg, cobre 5 mg, iodo 0,3 mg, ferro 35 mg, manganês 10 mg, zinco 60 mg, cobalto 0,1 mg.

Níveis de garantia- umidade (máx.) 13,00%, proteína bruta (mín.) 13,00%, extrato etéreo (mín) 1,50 %, matéria fibrosa (máx.) 17,00%, mineral (máx.) 16,00%, cálcio (máx.) 2,00%, fósforo (mín.) 0,45%.

A ração foi triturada e, antes de ser administrada aos animais, foi misturada com leite em pó de vaca (1º experimento), cabra (2º experimento) e extrato hidrossolúvel de soja (3º experimento). O leite em pó de cabra foi produzido no Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV.

3.1. Ensaio biológico utilizando leite em pó de vaca

Para a realização deste ensaio biológico foram utilizados 48 coelhos albinos, machos, da raça Nova Zelândia, com 53 dias de vida e peso médio de 1.640 g fornecidos pela Cunicultura do Departamento de Zootecnia da UFV.

As substâncias foram misturadas à ração previamente triturada, sendo que o grupo controle (G1) e o grupo hiperlipidêmico (G2) receberam diariamente 120 g de ração. Os demais grupos receberam 100 g/dia de ração adicionada de 20 g de leite em pó desnatado de vaca da marca Itambé.

Foram constituídos 8 grupos experimentais, contendo 6 animais cada um, distribuídos ao acaso, conforme a Tabela 7. O flavonóide naringenina e o carotenóide bixina foram fornecidos nas doses de 30 mg/kg e 125 mg/kg de peso corporal, respectivamente. Para induzir a hiperlipidemia foram fornecidos aos animais 0,5% de colesterol misturados na ração com o leite e as substâncias testadas, exceto para o grupo 1 (controle).

Tabela 7 – Relação dos grupos e respectivos tratamentos (dietas administradas)

Grupos	Dietas
1	Ração (Controle)
2	Ração + Colesterol (RC)
3	RC + Leite (RCL)
4	RC + Naringenina (RCN)
5	RC + Bixina (RCB)
6	RC + Leite + Naringenina (RCLN)
7	RC + Leite + Bixina (RCLB)
8	RC + Leite + Naringenina + Bixina (RCLNB)

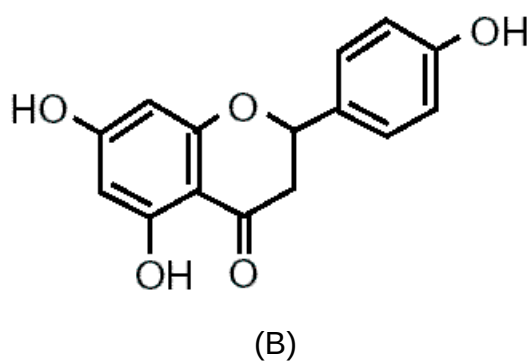
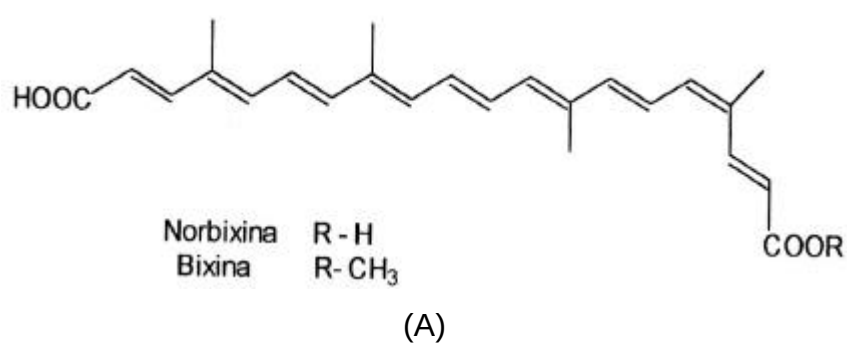


Figura 4 – Estrutura da Bixina (A) e da naringenina (B).

3.2. Ensaio biológico utilizando leite em pó de cabra

Os animais utilizados nesse experimento estavam com 70 dias e peso médio de 2.160 g. O mesmo procedimento do ensaio biológico utilizando leite de vaca foi adotado para a realização deste. Entretanto, os coelhos receberam 110 g de ração adicionada de 10 g de leite em pó de cabra, produzido pelo laticínios da UFV/Funarbe, com exceção do grupo controle (G1) e do grupo hiperlipidêmico (G2), que receberam 120 g de ração. Foram constituídos 5 grupos experimentais, contendo 6 animais cada um, distribuídos ao acaso, conforme Tabela 8.

Tabela 8 – Relação dos grupos e respectivos tratamentos (dietas administradas)

Grupos	Dietas
1	Ração (Controle)
2	Ração + Colesterol (RC)
3	RC + Leite de Cabra (RCC)
4	RCC + Naringenina (RCCN)
5	RCC + Bixina (RCCB)

Para produzir o leite em pó de cabra, o leite fluido foi homogeneizado, padronizado e concentrado, para depois ser transferido para o sistema de secagem. Normalmente, o sistema empregado é o “spray drier”, onde por aspersão contra corrente de ar quente, ocorre a secagem.

3.3. Ensaio biológico utilizando extrato hidrossolúvel de soja

Este experimento foi conduzido conforme descrito na realização do ensaio biológico utilizando leite de cabra, com os animais pesando em média 2.210 g. O extrato hidrossolúvel de soja em pó (marca Natus) utilizado foi adquirido no mercado local. A composição aproximada em 100 g de produto,

segundo o fabricante é a seguinte: 41% de proteína, 22% de lipídios, 24% de carboidratos, 2,5% de fibras, 4,5% de cinzas e 6% de umidade. A Tabela 9 mostra a disposição dos animais em cada grupo e seus respectivos tratamentos.

Tabela 9 – Relação dos grupos e respectivos tratamentos (dietas administradas)

Grupos	Dietas
1	Ração (Controle)
2	Ração + Colesterol (RC)
3	RC + Extrato Hidrossolúvel de Soja (RCS)
4	RCS + Naringenina (RCSN)
5	RCS + Bixina (RCSB)

3.4. Dosagens dos parâmetros bioquímicos

Para realização das dosagens sorológicas de triacilgliceróis, colesterol total, colesterol-HDL e glicose foram coletadas amostras de sangue no tempo zero (após os 5 dias de adaptação, caracterizando o início do experimento), 16º e 31º dias do ensaio. Os animais encontravam-se em jejum de doze horas, e, a coleta de sangue foi efetuada pelo plexo venoso retro-orbital utilizando-se capilar. Os pesos dos animais foram monitorados quinzenalmente.

As amostras de sangue foram centrifugadas à 7.100 x g, durante 15 minutos para obtenção do soro. As dosagens sorológicas foram efetuadas no equipamento de dosagens multiparamétrico de Bioquímica (Alizé) utilizando-se *kits* da marca BioMérieux, conforme as recomendações do fabricante.

3.4.1. Determinação do colesterol-total

A análise colorimétrica do colesterol no soro obtido baseou-se na transformação do colesterol esterificado e ácido graxo, mediado pela enzima

colesterol esterase. O colesterol formado é oxidado pela enzima colesterol oxidase em colesteno-4-ona-3, liberando água oxigenada. A reação do fenol e amino-4-antipirina, com a água oxigenada produzida pela ação da peroxidase, forma um cromogênio, que possui absorvância em 500 nm.

Foi colocada no equipamento uma solução tampão fosfato pH 7,00 a 0,1mol/L, contendo as respectivas enzimas solubilizadas e separadamente os soros sanguíneos a serem analisados. O equipamento foi programado para efetuar a reação colorimétrica, promovendo a mistura das soluções e dos soros, que foram incubados à 37°C e analisados em um comprimento de onda de 500 nm.

O aparelho subtraiu a absorvância encontrada no branco (solução tampão das enzimas com soro fisiológico) e a comparou com a concentração padrão existente, fornecendo o resultado em mg/dL de colesterol no soro sanguíneo.

3.4.2. Determinação do colesterol-HDL

O método de dosagem de colesterol-HDL baseia-se na precipitação dos quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) contidas na amostra. Esta precipitação é obtida pela adição de ácido fosfotúngstico em presença do íon magnésio. Antes que o equipamento possa efetuar a leitura do colesterol-HDL, em cada amostra adiciona-se 50 µl do reativo precipitante (ácido fosfotúngstico e $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ pH 6,2) em 500 µl de soro.

O sobrenadante obtido por centrifugação contém as lipoproteínas de alta densidade (HDL), cujo colesterol é determinado pelo mesmo processo já descrito para a determinação do colesterol total.

3.4.3. Determinação do triacilglicerol

A dosagem das concentrações de triacilgliceróis séricos foi efetuada por via enzimática. A enzima lipase degrada os triacilgliceróis em glicerol e ácidos graxos. O glicerol reage com ATP, em presença da glicerolquinase, formando glicerol-3-fosfato e ADP. O glicerol-3 fosfato é oxidado a dihidroxiacetonafosfato pelo glicerol-3 fosfato oxidase, liberando água oxigenada. A água oxigenada, juntamente com paraclorofenol e amino-4-antipirina, pela ação da peroxidase, transforma-se no cromogênio que absorve

em 505 nm, liberando água. O equipamento foi programado, e, a análise foi efetuada pelo mesmo processo descrito para a determinação do colesterol-total, fornecendo o resultado em mg/dL de triacilgliceróis no soro sangüíneo.

3.4.4. Determinação de glicose

A determinação enzimática da glicose baseia-se na reação da glicose presente no soro, na presença da glicose oxidase, formando a água oxigenada. A água oxigenada, juntamente com o fenol e amino-4-antipirina, em presença da peroxidase forma um cromogênio, liberando água. O equipamento foi programado e a análise foi efetuada pelo mesmo processo descrito para a determinação do colesterol-total, fornecendo o resultado em mg/dL de glicose no soro sangüíneo.

3.5. Análise bromatológica dos leites de vaca e cabra

Foram realizados as análises do teor de umidade, cinzas, proteínas e lipídios, presentes no leite em pó desnatado de vaca e de cabra, conforme métodos recomendados pelas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

O teor de lipídios foi determinado pelo método por pesagem do resíduo seco, após extração com éter etílico, em extrator soxhlet por 6 horas e o teor de proteínas totais pelo método Kjeldahl. O teor de cinzas foi determinado por incineração a 550°C e de umidade utilizando destilação. A determinação da lactose (método da cloramina-T) foi realizada conforme SILVA et al. (1997).

3.6. Análise estatística

O experimento foi montado segundo um esquema de parcela subdividida, tendo nas parcelas os tratamentos (dietas) e nas subparcelas os tempos no delineamento inteiramente casualizado com seis repetições.

Os dados foram analisados por meio de Análise de Variância (ANOVA). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey, adotando-se o nível de 5% de significância. O programa utilizado para as análises foi o SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Resultados das análises bromatológicas

Os resultados da análise dos principais constituintes do leite em pó de vaca desnatado (marca Itambé) e do leite em pó de cabra (produzido pelo laticínios da Funarbe/UFV) são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Análise dos constituintes do leite em pó de vaca desnatado e de cabra

Constituintes (%)	Leite de vaca	Leite de cabra
Proteínas	36,2	34,3
Lipídios	1,2	5,9
Umidade	3,7	3,9
Cinzas	8,5	7,6
Lactose	50,4	48,3

4.2. Resultados das dosagens dos parâmetros bioquímicos

4.2.1. Ensaio biológico utilizando leite de vaca

Os resultados obtidos para glicose, colesterol-total, triacilgliceróis e colesterol-HDL, no soro sanguíneo de coelhos hipercolesterolêmicos da raça Nova Zelândia, são apresentados nas tabelas a seguir, expressos em mg/dL, com suas respectivas porcentagens de variações em relação ao grupo 2 (ração + colesterol).

Os constituintes sanguíneos foram avaliados em três tempos, sendo, portanto, realizadas três coletas do soro sanguíneo dos coelhos. O tempo zero (caracterizado pelo primeiro dia) marca o início de cada experimento e até então, os animais só haviam recebido ração. Essa dosagem é muito importante por mostrar o quadro clínico dos coelhos, o que possibilita detectar se algum animal já apresentava alguma alteração nos parâmetros bioquímicos estudados, antes de se iniciar os tratamentos.

A Tabela 11 nos mostra que as médias obtidas pelos tratamentos, em relação à concentração de glicose, não foram estatisticamente significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. No entanto, pela porcentagem de variação, observa-se que houve uma redução em todos os grupos em comparação com o grupo 2 (ração + colesterol), tanto com 16 quanto com 31 dias.

No 16º dia e no 31º do período experimental, o grupo 3 (leite de vaca) apresentou uma porcentagem de redução nas concentrações de glicose de 6,72% no 16º dia e 9,39% no 31º dia. O grupo 6 (leite de vaca + naringenina) mostrou uma redução de 9,94% e 7,44% no 16º e 31º dia, respectivamente. Já no grupo 4 (naringenina) a redução foi de 7,28% (16º dia) e 10,71% (31º dia). Os animais, que receberam leite vaca + bixina, tiveram um ligeiro aumento aos 16 dias de 1,99%, enquanto que os que receberam só bixina apresentaram uma redução de 5,91%.

A Figura 5 nos mostra que a associação de leite + naringenina apresentou a menor concentração nas concentrações de glicose (128,70 e 122,37 mg/dL no 16º e 31º dia respectivamente), em comparação com os demais grupos que também receberam leite.

Tabela 11 – Valores médios de glicose no soro sanguíneo de coelhos submetidos à diferentes dietas com leite de vaca

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Glicose (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	Variação (%)	Glicose (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	130,64 a	130,74 a		129,38 a	
2-Ração + colesterol (RC)	128,38 a	142,90 a		132,21 a	
3-RC + leite vaca (RCL)	130,42 a	133,30 a	-6,72	119,79 a	-9,39
4-RC + naringenina (RCN)	124,45 a	132,50 a	-7,28	118,05 a	-10,71
5-RC + bixina (RCB)	130,57 a	134,45 a	-5,91	115,30 a	-12,79
6-RCL + naringenina (RCLN)	130,47 a	128,70 a	-9,94	122,37 a	-7,44
7-RCL + bixina (RCLB)	141,18 a	145,74 a	+1,99	122,30 a	-7,50
8-RCL + naringenina + bixina (RCLNB)	137,03 a	136,45 a	-4,51	127,45 a	-3,60

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

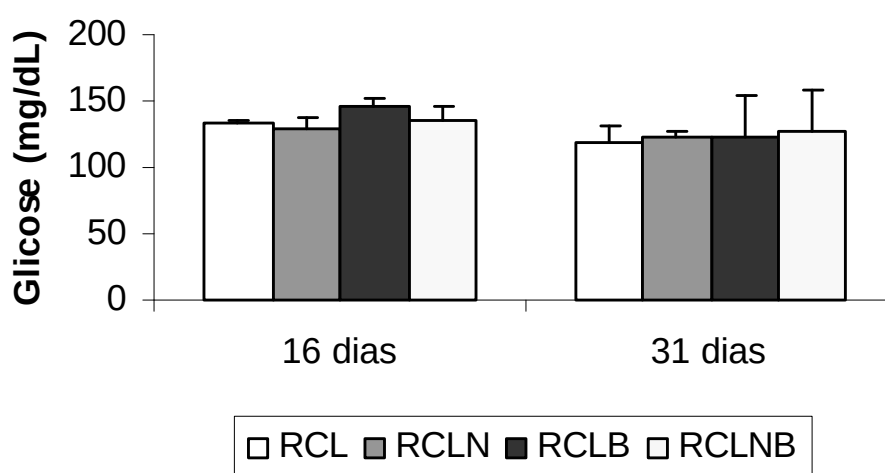


Figura 5 – Média das concentrações de glicose em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

A natureza da dieta estabelece o padrão básico do metabolismo dos tecidos. Os mamíferos, como os humanos, necessitam processar os produtos absorvidos da digestão, sendo que os principais são: glicose, ácidos graxos, glicerol e aminoácidos. Todos estes produtos da digestão são processados, através de suas respectivas vias metabólicas, dando um produto comum, a acetil-CoA, que é então completamente oxidada pela via do ácido cítrico. A glicose é o carboidrato mais importante. É sob a forma de glicose que a maior parte dos carboidratos da dieta são absorvidos pela corrente sanguínea, ou, é em glicose que o fígado converte os outros açúcares (MAYES, 1998).

Toda vez que o organismo recebe uma quantidade de carboidratos maior do que a que pode ser utilizada imediatamente para energia ou depositada na forma de glicogênio, o excesso é rapidamente convertido em triacilgliceróis, que são então armazenados e, posteriormente, utilizados como fonte de energia sob a forma de ácidos graxos liberados dos triacilgliceróis (GUYTON e HALL, 1997).

A lactose é o principal açúcar presente no leite. Não é de ocorrência em plantas, sendo encontrado exclusivamente nas glândulas mamárias de animais em estado de lactação (MAHAN e ARLIN, 1995). É uma importante fonte de energia para os recém-nascidos e, também, estimula a absorção de cálcio. Sua digestibilidade depende da presença da β -galactosidase (SOMKUTI e HOLSINGER, 1997). Por ser um dissacarídeo, a lactose não pode entrar diretamente na via glicolítica, sendo primeiramente hidrolisada pela lactase nos seus respectivos monossacarídeos, galactose e glicose (LEHINGER et al., 1995).

Em coelhos, os carboidratos são absorvidos em duas formas principais, como glicose e ácidos graxos voláteis, obtidos como produtos finais da fermentação bacteriana do ceco (CHEEKE, 1995).

A insulina tem um papel fundamental na regulação da glicemia, sendo liberada em resposta a uma elevação da concentração sanguínea de glicose. A ligação da insulina ao seu receptor específico na membrana celular resulta em uma cascata de eventos intracelulares. O receptor de insulina é sintetizado como um polipeptídeo único, que é glicosilado e clivado em subunidades alfa e beta. O domínio citosólico da subunidade beta é uma tirosina quinase, a qual é ativada pela insulina (CHAMPE e HARVEY ; 2000).

Os flavonóides podem agir como hipoglicemiantes por se ligarem a receptores de insulina. Estudos demonstraram que alguns flavonóides, como a genisteína, quercetina e luteonina são potentes inibidores da proteína quinase e da proteína tirosina quinase. O mecanismo que explica esse efeito é que os flavonóides competem com o ATP e se ligam ao sítio da subunidade catalítica da proteína quinase. Dessa forma, muitas enzimas que utilizam ATP são inibidas pelos flavonóides (NIJVELDT et al., 2000).

A tabela 12 nos mostra os valores médios de colesterol (mg/dL). Pelos resultados obtidos com 16 dias de tratamento, observa-se a eficiência do colesterol à 0,5% na indução da hiperlipidemia, uma vez que as concentrações de colesterol foram aumentados de 148,64 mg/dL (grupo 1) para 635,72 mg/dL (grupo 2).

Tabela 12 – Valores médios de colesterol no soro sangüíneo de coelhos submetidos a diferentes dietas com leite de vaca

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Colesterol (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Variação (%)	Colesterol (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	104,20 a	148,64 c		223,04 b	
2-Ração + colesterol (RC)	97,86 a	635,72 b		795,12 a	
3-RC + leite vaca (RCL)	109,35 a	776,13 ab	+22,09	780,98 a	-1,78
4-RC + naringenina (RCN)	136,32 a	558,23 b	-12,20	809,61 a	+1,82
5-RC + bixina (RCB)	121,42 a	479,83 bc	-24,52	615,96 a	-22,53
6-RCL + naringenina (RCLN)	117,95 a	995,30 a	+56,56	781,80 a	-1,67
7-RCL + bixina (RCLB)	151,78 a	513,65 b	-19,20	585,41 a	-26,37
8-RCL + naringenina + bixina (RCLNB)	130,22 a	820,00 ab	+28,99	746,78 a	-6,08

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

O grupo que recebeu leite de vaca teve um aumento de 22,09% no 16º dia, e, uma pequena redução de 1,78% no 31º dia em relação ao grupo hiperlipidêmico (grupo 2). A associação do leite + naringenina não apresentou efeito hipocolesterolêmico.

A Figura 6 nos mostra que o grupo tratado com ração + colesterol + bixina apresentou os menores concentrações de colesterol (mg/dL) em função do tempo e em relação aos outros grupos que também receberam leite.

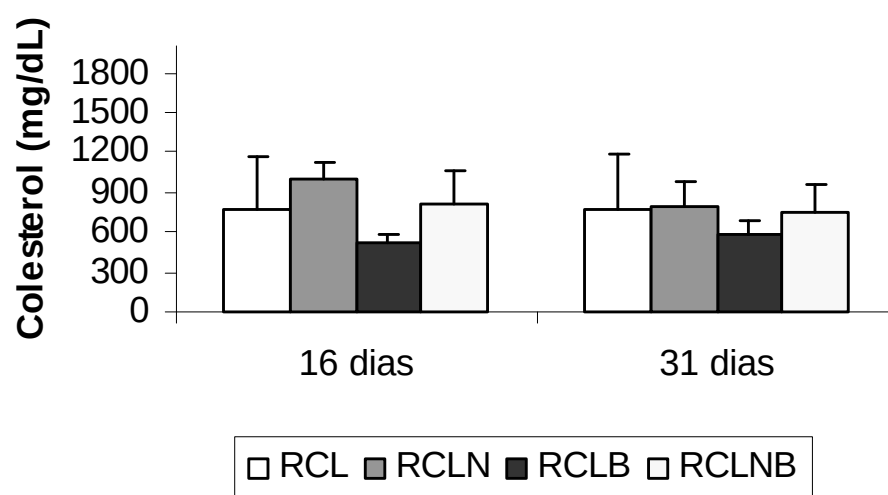


Figura 6 – Média das concentrações de colesterol em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

Embora o grupo 4, que recebeu somente naringenina, tenha apresentado uma redução de 12,20% no 16º dia, o melhor resultado foi obtido com o grupo 5 (bixina), apresentando uma redução de 24,52% no 16º dia, e, de 22,53% no 31º dia. Alguns estudos demonstraram que a bixina parece possuir propriedade hipolipidêmica. SOUZA (2001) administrou três doses de extrato que contém bixina (70, 350 e 700 mg) a ratos da raça Wistar, observando que a bixina teve efeito hipocolesterolêmico não apresentando nenhuma alteração tóxica. No teste de tolerabilidade cutânea realizado em coelhos, não houve

alterações cutâneas relativas à eritema, escaras e edema em nenhum dos tempos observados.

Inúmeras propriedades farmacológicas têm sido atribuídas aos flavonóides. LOPES (2001) administrou 0,03% de chitosan e 0,006% de naringenina, misturados na ração para avaliar o efeito da naringenina e chitosan sobre o metabolismo lipídico de coelhos. Verificou que o flavonóide naringenina reduziu as concentrações de colesterol em 5,27% no 7º dia e em 52,68% no 15º dia do experimento. Em associação com chitosan, houve uma redução de 15,24% no 7º dia e em 61,69% no 15º dia.

Frutas cítricas contém vários flavonóides, como naringina e naringenina, e têm sido avaliados farmacologicamente como potentes agentes anticancerígenos e hipolipidêmicos (SO et al., 1996 e BOK et al., 2000).

ERLUND et al. (2000) constataram que a naringenina e hesperidina presentes nos sucos de laranja e uva são absorvidos por humanos, e, que ocorrem grandes variações interindividuais na biodisponibilidade desses compostos. Essas variações, provavelmente, são causadas pelas diferenças na microflora gastrointestinal. O consumo regular desses produtos pode trazer efeitos benéficos à saúde, uma vez que, a naringenina e hesperidina possuem propriedades estrogênicas, anticarcinogênicas e antioxidantes.

CHUL-HO et al. (2001) investigaram os efeitos da naringina e naringenina em coelhos alimentados com uma dieta rica em colesterol. Os animais foram divididos em três grupos, sendo um grupo controle (dieta + de 1% de colesterol), um grupo teste (dieta + de 1% de colesterol + 0,1% de naringina) e um outro grupo teste (dieta + 1% de colesterol + 0,05% de naringenina) por um período de oito semanas. Eles observaram que estes flavonóides apresentaram uma atividade antiaterogênica. Um possível mecanismo que explica tal atividade, é a redução da atividade da enzima aciltransferase de colesterol (ACAT) hepática, inibição da adesão de molécula na célula vascular e da proteína quimiostática de monócitos.

NIJVELDT et al. (2001) relataram que os flavonóides podem atuar inibindo o metabolismo do ácido araquidônico, agindo também como antiinflamatórios e antitrombóticos.

A Tabela 13 mostra que no 16° dia, embora os tratamentos não sejam estatisticamente diferentes, o grupo 5 (bixina) e o grupo 8 (leite + naringenina + bixina) destacaram-se na redução das concentrações de triacilgliceróis. A maior porcentagem de redução foi obtida com o grupo que recebeu bixina (14,91%). No 31° dia, houve uma redução em todos os tratamentos em comparação com o grupo hiperlipidêmico.

Tabela 13 – Valores médios de triacilgliceróis no soro sangüíneo de coelhos submetidos a diferentes dietas com leite de vaca

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Triacilgliceróis (mg/dL)	Triacilgliceróis (mg/dL)	Variação (%)	Triacilgliceróis (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	64,70 a	110,18 a		107,44 c	
2-Ração + colesterol (RC)	59,38 a	141,35 a		184,01 a	
3-RC + leite vaca (RCL)	74,60 a	150,92 a	+6,77	178,23 ab	-3,14
4-RC + naringenina (RCN)	53,46 a	134,06 a	-5,16	164,45 abc	-10,63
5-RC + bixina (RCB)	56,27 a	120,28 a	-14,91	134,36 abc	-26,98
6-RCL + naringenina (RCLN)	73,47 a	133,84 a	-5,31	119,45 bc	-35,08
7-RCL + bixina (RCLB)	52,24 a	141,05 a	-0,21	154,19 abc	-16,20
8-RCL + naringenina + bixina (RCLNB)	72,18 a	120,37 a	-14,84	126,64 abc	-31,18

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

Como mostra a Figura 7, os melhores resultados na redução das concentrações de triacilgliceróis entre os grupos tratados com leite foram obtidos com o grupo que recebeu leite + naringenina + bixina no 16° dia, e, o grupo que recebeu leite + naringenina no 31° dia.

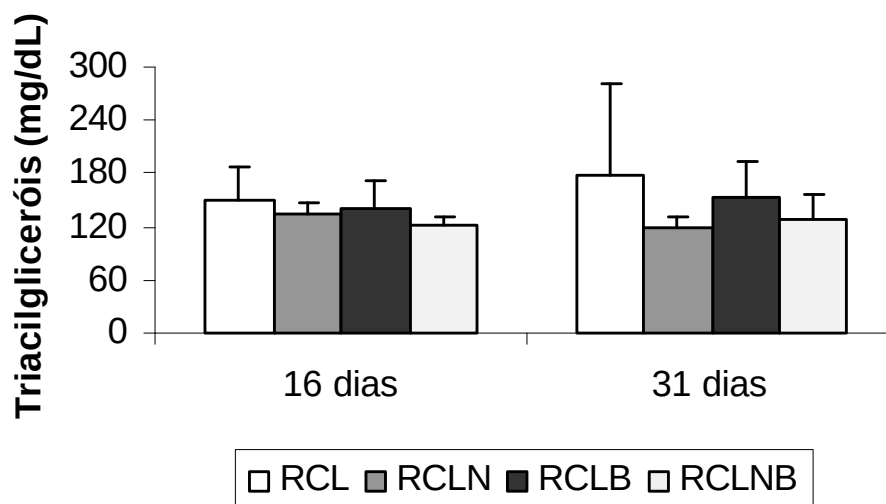


Figura 7 – Média das concentrações de triacilgliceróis em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

Em estudo realizado com a finalidade de testar os efeitos dos flavonóides luteolina e apigenina e dos carotenóides bixina e norbixina extraídos do urucum em coelhos hiperlipidêmicos, foi constatado que as substâncias testadas aumentaram a atividade da lipase em determinadas concentrações. Os modificadores que induziram a atividade lipase foram conferidos à bixina. Estes resultados parecem comprovar uma explicação para os efeitos hipotrigliceridêmicos destas duas classes de substâncias (LIMA, 2001).

Inúmeros estudos relataram que a hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia constituem fatores de risco para a aterosclerose (MANACH et al., 1996). Segundo KRITCHEVSKY et al. (1979) os triacilgliceróis afetam diretamente o processo de formação de aterosclerose, mas não são responsáveis pela elevação do colesterol total sanguíneo.

Em relação às concentrações de colesterol-HDL, como pode ser observado na Tabela 14, não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos. Os melhores resultados foram obtidos com o grupo 3 (leite) e com o grupo 6 (leite + naringenina).

Tabela 14 – Valores médios de colesterol-HDL no soro sanguíneo de coelhos submetidos a diferentes dietas com leite de vaca

Dietas	0 dias	16 dias	Variação (%)	31 dias	Variação (%)
	Colesterol-HDL (mg/dL)	Colesterol-HDL (mg/dL)		Colesterol-HDL (mg/dL)	
1-Ração	25,77 a	23,05 a		23,82 a	
2-Ração + colesterol (RC)	27,67 a	21,09 a		23,05 a	
3-RC + leite vaca (RCL)	29,68 a	23,30 a	+10,48	25,26 a	+9,59
4-RC + naringenina (RCN)	34,22 a	22,01 a	+4,36	23,43 a	+1,65
5-RC + bixina (RCB)	29,30 a	20,71 a	-1,80	23,24 a	+0,82
6-RCL + naringenina (RCLN)	35,98 a	22,53 a	+6,83	24,98 a	+8,37
7-RCL + bixina (RCLB)	32,18 a	21,23 a	+0,66	23,56 a	+2,21
8-RCL + naringenina + bixina (RCLNB)	29,52 a	20,70 a	-1,85	18,36 a	-20,35

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

Houve um aumento de 10,48% no 16 dia e de 9,59% no 31° dia para o grupo 3. Para o grupo tratado com leite + naringenina, ocorreu um aumento de 6,83% no 16 dia e de 8,37% no 31° dia.

Várias pesquisas demonstraram que a manutenção de concentrações elevadas de HDL produz um efeito protetor no desenvolvimento da doença cardiovascular, visto que esta lipoproteína é responsável pelo transporte do colesterol da circulação periférica para o fígado (PETER e JRKWITEROVICH, 2000).

SANTOS et al. (1999) relataram que naringenina, ácido de nicotínico e rutina, isolados e também em associação, apresentaram grande percentual de redução de colesterol em ratos hipercolesterolêmicos. Para o colesterol-HDL os melhores resultados foram obtidos com naringenina.

As médias dos pesos dos animais, obtidas durante o período experimental de 31 dias, são apresentadas na Tabela 15. Não houve diferença estatisticamente significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de

Tabela 15 – Valores médios do peso de coelhos submetidos a diferentes dietas com leite de vaca

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Peso (mg/dL)	Peso (mg/dL)	Variação (%)	Peso (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	1,331 a	1,610 a		1,754 a	
2-Ração + colesterol (RC)	1,343 a	1,657 a		1,877 a	
3-RC + leite vaca (RCL)	1,306 a	1,520 a	-8,27	1,738 a	-7,40
4-RC + naringenina (RCN)	1,310 a	1,625 a	-1,93	1,863 a	-0,74
5-RC + bixina (RCB)	1,343 a	1,714 a	+3,44	1,963 a	+4,58
6-RCL + naringenina (RCLN)	1,307 a	1,778 a	+7,30	2,072 a	+10,39
7-RCL + bixina (RCLB)	1,372 a	1,834 a	+10,68	2,098 a	+11,77
8-RCL + naringenina + bixina (RCLNB)	1,232 a	1,699 a	+2,53	2,008 a	+6,98

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

probabilidade. O grupo que recebeu leite de vaca apresentou uma redução de 8,27% com 16 dias, e, de 7,40% com 31 dias em relação ao grupo hiperlipidêmico (grupo 2). Nos demais grupos houve um aumento na porcentagem de variação. O grupo tratado com leite + bixina teve a maior porcentagem, sendo de 10,68% com 16 dias e 11,77% com 31 dias.

Segundo CHEEKE (1995), os coelhos preferem as rações granuladas às rações em forma de farinha. O crescimento melhora, significativamente, quando se administra as rações granuladas no lugar das rações moídas.

OLIVEIRA (1999) relatou que os coelhos são animais dóceis e muito sensíveis, sendo que diversos fatores como barulho, alteração do local no qual foram criados, temperatura ambiente podem ser causa de estresse. Sendo um animal homeotérmico, os coelhos precisam manter a sua temperatura corporal dentro de estreitos limites de variação. Quando a temperatura ambiental ultrapassa a faixa de conforto térmico, que no coelho está compreendida entre 15° e 18° C, é ativada uma série de mecanismos destinados a manter a temperatura corporal constante, envolvendo o consumo voluntário,

metabolismo protéico e energético, balanço de água e eletrólitos e secreção hormonal.

4.2.2. Ensaio biológico utilizando leite de cabra

A Tabela 16 nos mostra que ocorreu uma redução nas concentrações de glicose de 5,31% com 16 dias, e, de 2,67% com 31 dias no grupo tratado com leite de cabra. Os animais que receberam leite de cabra + naringenina tiveram um aumento de 3,54% com 16 dias, e, uma redução de 10,60% com 31 dias. O grupo que recebeu leite de cabra + bixina teve um aumento de 5,53% no 16º dia, e, uma redução de 5,70% no 31º dia do experimento.

Tabela 16 – Valores médios de glicose no soro sanguíneo de coelhos submetidos diferentes dietas com leite de cabra

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Glicose (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	Variação (%)	Glicose (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	142,57 a	135,82 a		125,67 a	
2-Ração + colesterol (RC)	147,47 a	120,53 a		129,87 a	
3-RC + leite cabra (RCC)	138,90 a	114,13 a	-5,31	126,40 a	-2,67
4-RCC + naringenina (RCCN)	145,05 a	124,80 a	+3,54	116,10 a	-10,60
5-RCC + bixina (RCCB)	150,61 a	127,20 a	+5,53	122,47 a	-5,70

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

O estado de repleção do estômago e a quantidade de ácido produzido conseqüente à ingestão de alimentos podem alterar a absorção de medicamentos administrados concomitantemente por via oral. Assim, muitas drogas podem ter sua absorção gastrointestinal diminuída (ou, às vezes, aumentada) devido à presença de alimentos. O tipo de alimentação ingerida pode dificultar ou impedir a ação de medicamentos, como por exemplo,

alimentos com alto teor de cálcio como leite e derivados, associados com clodronato dissódico, reduz a absorção desse medicamento usado por via oral. Produtos de laticínios, associados com quinolonas, também reduzem sua absorção (FONSECA, 2001).

A Figura 8 mostra que houve pouca variação entre as concentrações de glicose entre os grupos, sendo que o grupo 3 (leite de cabra) apresentou a menor concentração (114,13 mg/dL) com 16 dias, e, o grupo 4 (leite de cabra + naringenina) apresentou a menor concentração (116,10 mg/dL) com 31 dias.

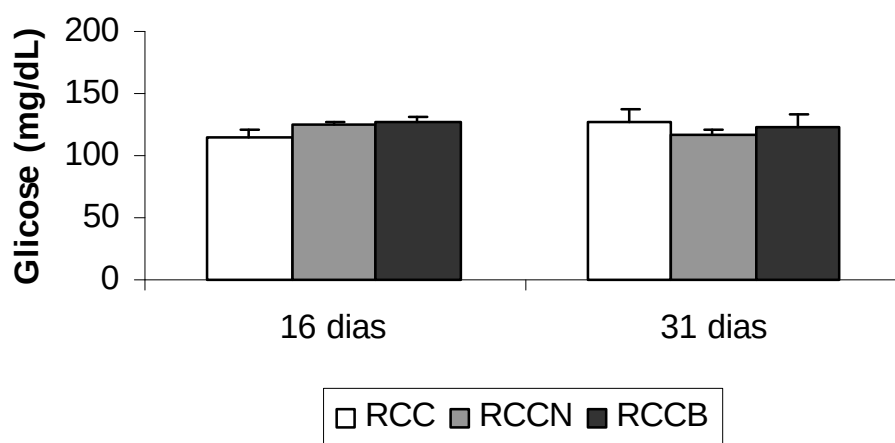


Figura 8 – Média das concentrações de glicose em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

A Tabela 17 nos mostra as concentrações de colesterol (mg/dL). No 16º dia houve um aumento de 4,18%, e, de 20,62% no 31º dia nas concentrações de colesterol do grupo tratado com leite de cabra. No grupo que recebeu leite de cabra + bixina houve uma redução de 17,03% no 16º dia, e, de 8,14% no 31º dia nas concentrações desse constituinte sanguíneo. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos tratamentos em comparação com o grupo tratado com ração + colesterol.

Tabela 17 – Valores médios de colesterol no soro sangüíneo de coelhos submetidos a diferentes dietas com leite de cabra

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Colesterol (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Variação (%)	Colesterol (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	118,31 a	115,47 b		168,63 b	
2-Ração + colesterol (RC)	102,25 a	649,83 a		950,05 a	
3-RC + leite cabra (RCC)	109,49 a	677,01 a	+4,18	1145,92 a	+20,62
4-RCC + naringenina (RCCN)	84,91a	515,84 a	-20,62	797,50 a	-16,06
5-RCC + bixina (RCCB)	74,78 a	539,13 a	-17,03	872,67 a	-8,14

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

A Figura 9 nos mostra que as menores médias das concentrações de colesterol foram obtidas com o grupo que recebeu leite de cabra + naringenina, tanto com 16 quanto com 31 dias.

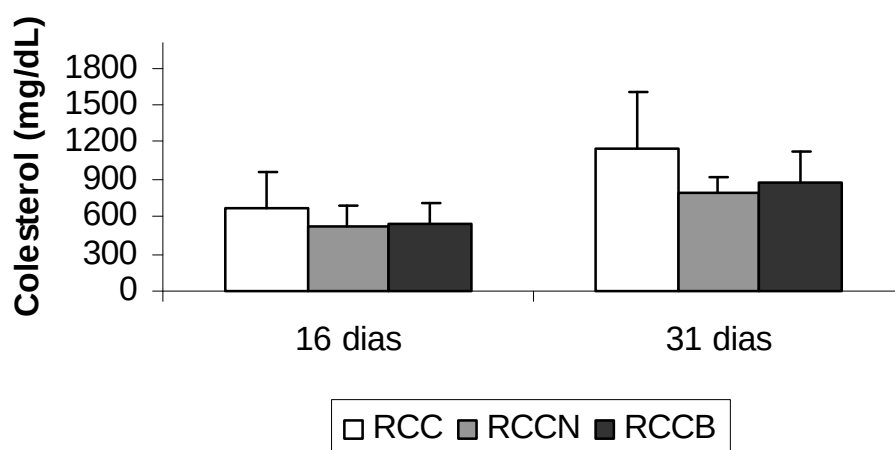


Figura 9 – Média das concentrações de colesterol em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

Em muitas frutas e vegetais, a atividade antioxidante dos flavonóides é mais importante que a atividade antioxidante da vitamina C, α -tocoferol ou β -caroteno. Devido a esta propriedade, os flavonóides podem proteger as células das atividades dos compostos cancerígenos por estimular a atividade das enzimas detoxificadoras. (MARTÍNEZ et al., 2001).

Estudos com animais demonstraram que os antioxidantes bloqueiam as fases de iniciação e desenvolvimento da carcinogênese (MARTÍNEZ et al., 2001). O mecanismo, pelo qual os radicais livres interferem nas funções celulares, não está totalmente esclarecido, mas um dos eventos importantes parece ser a peroxidação lipídica, que pode provocar danos às membranas celulares (NIJVELDT et al., 2001).

MARTÍNEZ et al. (2001) relataram que os radicais livres são capazes de iniciar reações de peroxidação nas cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, inativar proteínas e enzimas por reações com os aminoácidos e, também, causar lesões no RNA e DNA pela interação com a guanina.

Os flavonóides inibem a peroxidação lipídica *in vitro* por atuar na eliminação de ânions superóxidos e radicais hidroxilas. Em adição a sua propriedade antioxidante, alguns flavonóides têm a capacidade de quelar íons metálicos, reduzindo assim, a peroxidação induzida por metais. A atividade biológica dos flavonóides e seus metabólitos dependem de sua estrutura química e também dos grupos ligados na molécula (COOK e SAMMAN, 1996).

Tem sido demonstrado que a genisteína e daidzeína apresentam efeito anticancerígeno. Os mecanismos postulados são baseados na habilidade que esses flavonóides possuem de se ligarem aos receptores dos estrógenos dentro das células de maneira semelhante ao estradiol, o que influenciaria no metabolismo do colesterol e das lipoproteínas (MARTÍNEZ et al., 2001, ESTEVES e MONTEIRO, 2001).

Segundo COOK e SAMMAN (1996) a catequina, rutina e quercetina podem inibir a oxidação das LDL. A agregação plaquetária contribui para o desenvolvimento da aterosclerose. A literatura relata que a quercetina e kaempherol inibiram a agregação plaquetária em macacos e cães (NIJVELDT et al., 2001).

O efeito antioxidante dos flavonóides parece estar relacionado com sua ação antitrombótica. A ação antitrombótica de alguns flavonóides tem sido atribuída à sua habilidade de ligar-se à membrana de plaquetas e eliminar radicais livres. Através de sua ação antioxidante, os flavonóides restabelecem a biossíntese e ação de prostaciclina endotelial e fator de relaxamento derivado do endotélio, os quais são inibidos pelos radicais livres (COOK e SAMMAN, 1996).

Em relação às concentrações de triacilgliceróis, como pode ser observado na Tabela 18, houve um aumento nos animais do grupo 5 (leite de cabra + bixina), porém esse resultado ainda foi melhor em comparação com o grupo 3 (leite de cabra). O grupo 5 apresentou uma porcentagem de variação de 8,60% e 1,95% no 16° e 31° dia, respectivamente, enquanto que, no grupo 3 o aumento foi de 13,41% (16° dia) e 4,60% (31° dia).

Tabela 18 – Valores médios de triacilgliceróis no soro sangüíneo de coelhos submetidos a diferentes dietas com leite de cabra

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Triacilgliceróis (mg/dL)	Triacilgliceróis (mg/dL)	Variação (%)	Triacilgliceróis (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	65,56 a	77,28 a		86,12 b	
2-Ração + colesterol (RC)	94,06 a	109,13 a		151,44 a	
3-RC + leite cabra (RCC)	99,5 a	123,77 a	+13,41	158,40 a	+4,60
4-RCC+naringenina (RCCN)	63,27 a	97,91 a	-10,28	115,80 ab	-23,53
5-RCC + bixina (RCCB)	85,51 a	118,52 a	+8,60	154,40 a	+1,95

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).
No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação.
% de variação em relação ao grupo 2 (RC).

A Figura 10 nos mostra as médias das concentrações de triacilgliceróis em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas.

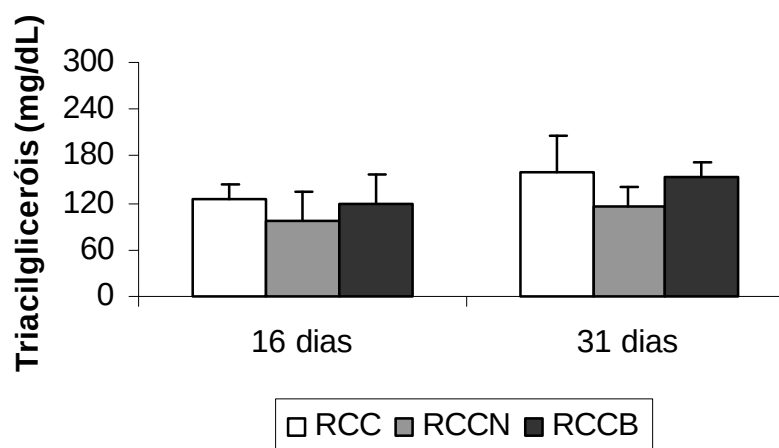


Figura 10 – Média das concentrações de triacilgliceróis em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

Até 2001, mais de 200 estudos epidemiológicos foram realizados e estabeleceram uma associação entre o elevado consumo de frutas e vegetais a uma baixa incidência de câncer no homem, principalmente o câncer de pulmão, mama, do aparelho reprodutor feminino e do trato gastrointestinal. As isoflavonas podem se ligar aos receptores dos estrógenos, protegendo o organismo de certos tipos de câncer como o de mama e de cólon (MARTÍNEZ et al., 2001).

Investigações *in vitro* e *in vivo* sugerem que os flavonóides podem afetar muitas das etapas da cancerogênese. Durante o período inicial, eles podem danificar as alterações xenotóxicas por várias maneiras: inibição da monooxigenase do fígado, ativação de enzimas que asseguram a detoxificação de xenobióticos e interação com carcinógenos, levando a expulsão destes para fora da célula (MANACH et al., 1996).

Os resultados apresentados, na Tabela 19, mostraram que houve um aumento em todos os tratamentos nas concentrações de colesterol-HDL, embora não tenha ocorrido diferença estatisticamente significativa pelo teste de Tukey.

No grupo 4 (leite de cabra + naringenina) ocorreu um aumento de 26,49% com 16 dias e 36,67% com 31 dias. No entanto, o melhor resultado foi obtido com leite de cabra + bixina, como pode ser observado pela Figura 11, uma vez que esse tratamento apresentou um aumento do constituinte analisado de 56,79% com 16 dias e 40,39% com 31 dias.

Tabela 19 – Valores médios de Colesterol-HDL no soro sanguíneo de coelhos submetidos a diferentes dietas com leite de cabra

Dietas	0 dias	16 dias	Variação (%)	31 dias	Variação (%)
	Colesterol-HDL (mg/dL)	Colesterol-HDL (mg/dL)		Colesterol-HDL (mg/dL)	
1-Ração	28,45 a	30,75 a		28,18 a	
2-Ração + colesterol (RC)	25,33 a	20,16 a		30,87 a	
3-RC + leite cabra (RCC)	24,22 a	22,42 a	+11,21	36,42 a	+17,98
4-RCC+naringenina (RCCN)	29,97 a	25,50 a	+26,49	42,19 a	+36,67
5-RCC + bixina (RCCB)	32,85 a	31,61 a	+56,79	43,34 a	+40,39

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

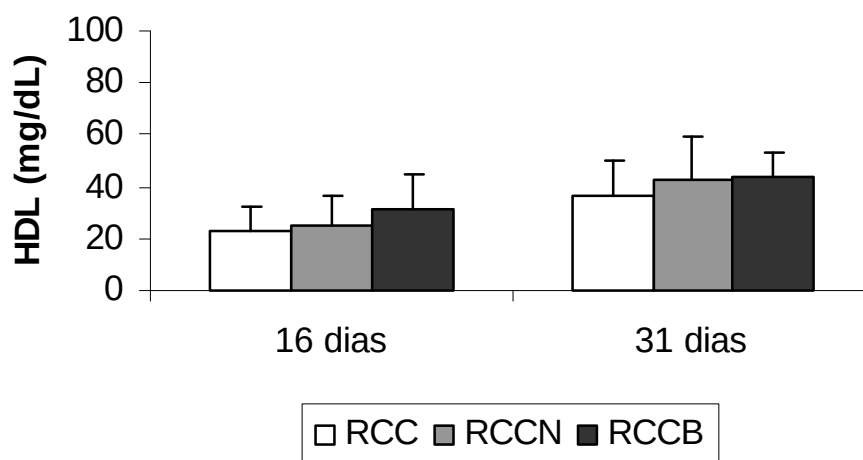


Figura 11 – Média das concentrações de colesterol-HDL em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

LIMA et al. (2001) administraram o carotenóide bixina (95%) na dose de 10 mmol/Kg de peso corporal, por via intraperitoneal a coelhos e verificaram que houve um aumento nas concentrações de colesterol-HDL. Isto é um resultado positivo, visto que esta lipoproteína realiza o transporte do colesterol da circulação periférica para o fígado, onde é metabolizado.

A regulação da concentração plasmática de colesterol envolve fatores que influenciam tanto o metabolismo do colesterol intracelular como extracelular. Duas enzimas chaves estão envolvidas nesse processo, a 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) redutase e a acil-CoA-colesterol acil transferase (ACAT). BOK et al. (1999) administraram uma mistura contendo naringina e hesperidina obtidos do extrato da casca da tangerina a ratos hiperlipidêmicos. Eles verificaram que esses flavonóides são potentes inibidores dessas enzimas. Isto é importante, pois indica que estas substâncias poderão ser utilizadas no futuro como fármacos no tratamento ou prevenção de desordens cardiovasculares.

A Tabela 20 nos mostra as médias dos pesos dos coelhos no decorrer dos 31 dias de experimento.

Tabela 20 – Valores médios do peso de coelhos submetidos a diferentes dietas com leite de cabra

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Peso (mg/dL)	Peso (mg/dL)	Variação (%)	Peso (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	2,078 a	2,225 a		2,264 a	
2-Ração + colesterol (RC)	2,008 a	2,139 a		2,218 a	
3-RC + leite cabra (RCC)	1,908 a	2,107 a	-1,50	2,264 a	+2,07
4-RCC+naringenina (RCCN)	1,860 a	2,047 a	-4,30	2,161 a	-2,57
5-RCC + bixina (RCCB)	1,900 a	2,181 a	+1,96	2,359 a	+6,36

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

O grupo que recebeu leite de cabra + naringenina apresentou a maior porcentagem de variação aos 16 dias, sendo de 4,30%. No grupo tratado com leite de cabra houve uma pequena redução de 1,50%. Os animais que receberam leite de cabra + bixina tiveram um pequeno aumento de 1,96% em comparação com o grupo hiperlipidêmico (grupo 2).

Com 31 dias de experimento, houve um aumento no grupo 3 (leite de cabra) e no grupo 5 (leite de cabra + bixina), sendo de 2,07% e 6,365, respectivamente.

Diversas pesquisas têm identificado várias atividades biológicas e farmacológicas dos flavonóides. ZHANG et al. (2002) relataram efeitos da apigenina como antiproliferativos e vasorelaxantes dependentes do endotélio. Estudos *in vitro*, com preparações contendo artérias isoladas, mostraram que a apigenina causa relaxamento pela supressão do influxo de cálcio através do canal de cálcio acoplado à voltagem e receptores. Efeitos de flavonóides também têm sido demonstrados em culturas de células do músculo liso, demonstrando um alto efeito antiproliferativo que pode ser benéfico em desordens do sistema cardiovascular.

LEE et al. (1997) relataram efeitos de flavonóides inibidores da proteína C. Isto é importante em processos cardiovasculares, uma vez que a vasoconstrição mediada por receptores adrenérgicos α_1 são inibidos também por inibidores da proteína quinase.

SAIJA et al. (1996) avaliaram as interações de flavonóides com biomembranas. Nesse trabalho foram utilizados quercetina, hesperetina e naringenina. Há evidências que esta classe de compostos podem interagir e penetrar nas bicamadas lipídicas. Nesse estudo utilizaram-se vesículas de α - α dipalmitoilfosfatidilcolina como um modelo de biomembranas para investigar interações droga fosfolípídeo.

Através de estudos observou-se que os flavonóides, incorporados na membrana lipossômica, podem causar estresse na bicamada lipídica, alterando as funções de barreira. Algumas propriedades de flavonóides são medidas por suas perturbações nas membranas biológicas. Outros autores citaram também que flavonóides podem modelar a resistência de vasos sangüíneos por aumentar a fluidez lipídica (IVANOV et al., 1992).

4.2.3. Ensaio biológico utilizando extrato hidrossolúvel de soja

Com relação à concentração de glicose deste ensaio, a Tabela 21 mostra que os animais que receberam leite de soja + colesterol apresentaram um aumento de 6,14% com 16 dias, e, de 11,65% com 31 dias de tratamento em relação ao grupo 2 (hipercolesterolêmico).

Tabela 21 – Valores médios de glicose no soro sanguíneo de coelhos submetidos diferentes dietas com extrato hidrossolúvel de soja

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Glicose (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	Variação (%)	Glicose (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	142,57 a	135,82 a		125,67 a	
2-Ração + colesterol (RC)	147,47 a	120,53 a		129,87 a	
3-RC + leite soja (RCS)	147,13 a	127,93 a	+6,14	145,00 a	+11,65
4-RCS + naringenina (RCSN)	143,78 a	126,27 a	+4,76	135,47 a	+4,31
5-RCS+ bixina (RCSB)	132,84 a	128,87 a	+6,92	130,42 a	+0,42

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

Já no grupo 4 (leite de soja + naringenina) houve um aumento menos acentuado em comparação com grupo 2, sendo de 4,76% e 4,31% no 16° e 31° dias, respectivamente.

O grupo 5 (leite de soja + bixina) apresentou um aumento de 6,92% no 16° dia. Com 31 dias de experimento, o aumento que ocorreu foi bem pequeno, sendo de 0,42%. No tempo zero, as médias das concentrações de glicose variaram entre 132,84 a 147,47 mg/dL. Estes valores podem ser considerados como parâmetro de referência (faixa de normalidade) para este experimento, uma vez que os coelhos estavam recebendo somente ração comercial.

A Figura 12 mostra que houve pequenas variações entre as concentrações de glicose, mas estas variações não foram estatisticamente significativas pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

De acordo com os resultados obtidos na Tabela 22, a concentração de colesterol do grupo 2 (ração + colesterol) teve um aumento de cerca de 5,6 vezes com 16 e 31 dias, em comparação com o grupo controle, que recebeu apenas ração.

No 16° dia houve uma redução na concentração de colesterol de 6,08% para o grupo 4 (leite de soja + naringenina) e de 16,04% para o grupo 5 (leite de soja + bixina), embora as médias dos tratamentos não tenham diferido estatisticamente.

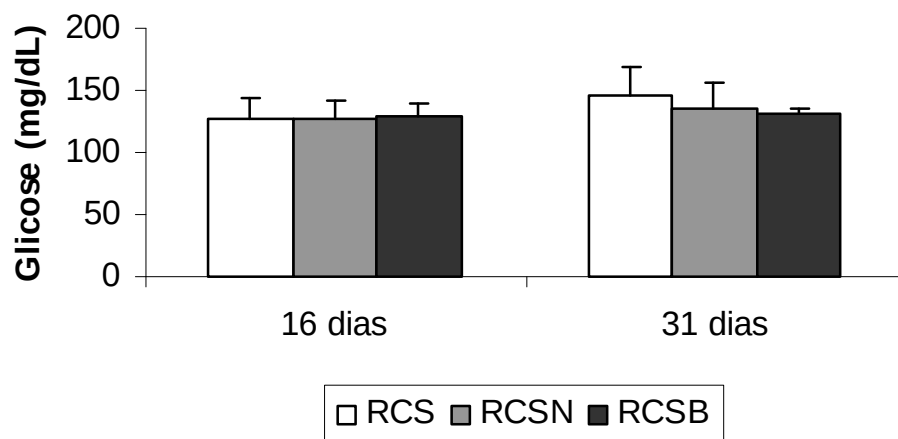


Figura 12 – Média das concentrações de glicose em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

Tabela 22 – Valores médios de colesterol no soro sangüíneo de coelhos submetidos a diferentes dietas com extrato hidrossolúvel de soja

Dietas	0 dias	16 dias		31 dias	
	Colesterol (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Variação (%)	Colesterol (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	118,31 a	115,47 b		168,63 c	
2-Ração + colesterol (RC)	102,25 a	649,83 a		950,05 b	
3-RC + extrato hidrossolúvel de soja (RCS)	90,25 a	655,28 a	+0,84	1333,80 a	+40,39
4-RCS + naringenina (RCSN)	121,94 a	610,29 a	-6,08	1211,10 ab	+27,48
5-RCS+ bixina (RCSB)	114,50 a	545,61 a	-16,04	1041,96 ab	+9,67

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

Já no 31º dia, houve um aumento em todos os tratamentos em comparação com o grupo hiperlipidêmico. No grupo que recebeu leite de soja + naringenina, este aumento foi de 27,48%.

Os animais, tratados com leite de soja + bixina, apresentam as menores concentrações de colesterol (mg/dL) em relação aos outros tratamentos, como pode ser observado na Figura 13.

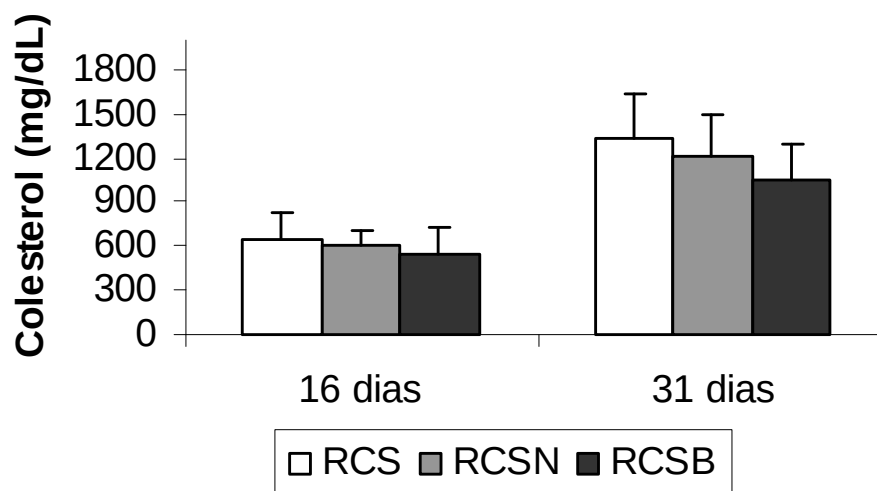


Figura 13 – Média das concentrações de colesterol em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

Estudos epidemiológicos têm sugerido que dentre os fatores de risco para doenças cardiovasculares, estão alguns hábitos relacionados ao estilo de vida, como dieta rica em energia, gorduras saturadas, colesterol e sal, bem como consumo de bebida alcoólica, tabagismo e sedentarismo (LIMA et al., 2000).

Diversos estudos mostram que dietas contendo colesterol semipurificado produzem hipercolesterolemia e aterosclerose em coelhos. Além da dieta contendo 0,5 % de colesterol, os animais receberam leite de soja obtido no mercado local, contendo 22% de lipídios, 41% de proteína, 24% de carboidrato e 2,5% de fibras. Os animais receberam uma dieta hipercolesterolêmica e hipercalórica, simulando o que ocorre quotidianamente na alimentação humana.

MELLO e SILVA (1989) relataram que o requerimento nutricional para coelhos, em relação ao nível de fibra, é em torno de 12% a 14%. O fornecimento de fibras em níveis muito elevados pode afetar a conversão alimentar e reduzir o ganho de peso. A exigência de proteína na ração varia de 12 a 17%. Os níveis recomendados são: 12% para reprodutores, 15% para gestação, 16% para animais em crescimento e 17% para fêmeas em lactação. As gorduras, por sua vez, além de fonte de energia, são partes de ácidos graxos essenciais e permitem o suprimento e a absorção das vitaminas lipossolúveis. Elas devem estar presentes nas rações para coelhos em torno de 2%.

A revisão de literatura mostra que a maioria dos estudos conduzidos com animais experimentais avalia o efeito de um único constituinte da dieta (proteína ou ácido graxo ou carboidrato) sobre o metabolismo lipídico.

A proposta desse trabalho foi avaliar o efeito da ração com suplementações, simulando o que ocorre quotidianamente na alimentação humana. Segundo SALGADO, et al. (2001) o estado nutricional de populações vivendo em países industrialmente desenvolvidos pode, claramente, ser mostrado pelas tendências desfavoráveis como o excessivo consumo de gorduras, principalmente saturadas, excessivo consumo de açúcar e sal e, ainda, diminuição considerável do consumo de amido e fibras dietéticas.

BUCIONE (2001) relatou que o Instituto Nacional de Alimentação (INAN) publicou uma estatística sobre a evolução do peso e obesidade da população brasileira, mostrando que no ano de 1974 para o ano de 1989, houve um aumento de 16,5% para 24% das pessoas classificadas como obesas. De 1989 para o ano de 1996, houve um aumento de 24% para 30%. Esses dados podem ser utilizados como alerta em relação ao estado de saúde e qualidade da alimentação da população brasileira.

A Tabela 23 mostra que aos 16 dias, as concentrações séricas de triacilgliceróis diminuíram em todos os tratamentos em comparação com o grupo 2 (hiperlipidêmico).

No grupo que recebeu leite de soja houve uma redução de 15,12%. Embora o grupo tratado com leite de soja + naringenina tenha apresentado uma redução de 4,71%, o melhor resultado foi obtido com grupo 5 (leite de soja + bixina), que apresentou uma porcentagem de redução de 15,59%.

Tabela 23 – Valores médios de triacilgliceróis no soro sangüíneo de coelhos submetidos a diferentes dietas com extrato hidrossolúvel de soja

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Triacilgliceróis (mg/dL)	Triacilgliceróis (mg/dL)	Variação (%)	Triacilgliceróis (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	65,56 a	77,28 a		86,12 b	
2-Ração + colesterol (RC)	94,06 a	109,13 a		151,44 a	
3-RC + extrato hidrossolúvel de soja (RCS)	68,88 a	92,63 a	-15,12	143,00 a	-5,57
4-RCS+naringenina (RCSN)	69,68 a	103,99 a	-4,71	151,33 a	-0,07
5-RCS+ bixina (RCSB)	76,57 a	92,12 a	-15,59	135,35 a	-10,62

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação.

% de variação em relação ao grupo 2 (RC).

A Figura 14 mostra que as menores concentrações de triacilgliceróis (mg/dL) foram obtidas com o grupo extrato hidrossolúvel de soja + bixina (RCSB), tanto com 16 quanto com 31 dias do experimento.

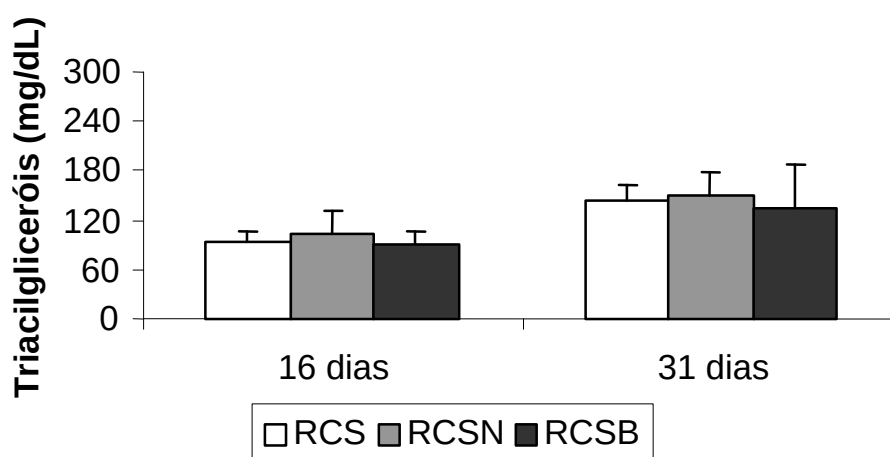


Figura 14 – Média das concentrações de triacilgliceróis em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

De acordo com os resultados obtidos na Tabela 24, observa-se um aumento nas concentrações de colesterol-HDL em todos os tratamentos em relação ao grupo hiperlipidêmico.

Tabela 24 – Valores médios de colesterol-HDL no soro sangüíneo de coelhos submetidos a diferentes dietas com extrato hidrossolúvel de soja

Dietas	0 dias	16 dias	Variação (%)	31 dias	Variação (%)
	Colesterol-HDL (mg/dL)	Colesterol-HDL (mg/dL)		Colesterol-HDL (mg/dL)	
1-Ração	28,45 a	30,75 a		28,18 c	
2-Ração + colesterol (RC)	25,33 a	20,16 a		30,87 bc	
3-RC + extrato hidrossolúvel de soja (RCS)	25,07 a	21,47 a	+6,50	46,21 ab	+49,69
4-RCS+naringenina (RCSN)	31,32 a	26,62 a	+32,04	39,48 abc	+27,89
5-RCS+ bixina (RCSB)	29,38 a	25,01 a	+24,06	48,83 a	+58,18

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação.
% de variação em relação ao grupo 2 (RC).

Com 16 dias, o melhor resultado foi obtido com o grupo 4 (extrato hidrossolúvel de soja + naringenina), que teve um aumento de 32,04% em relação ao grupo hiperlipidêmico. O grupo 3 (extrato hidrossolúvel de soja) teve um aumento de 6,50%.

Como pode ser observado pela figura 15, no 31º dia de tratamento os melhores resultados foram obtidos extrato hidrossolúvel de soja + bixina (RCSB) e extrato hidrossolúvel de soja (RCS), que apresentaram as maiores concentrações de colesterol-HDL (mg/dL). Esses resultados mostram um efeito desejável, uma vez que essa lipoproteína desempenha um importante papel na prevenção da aterosclerose.

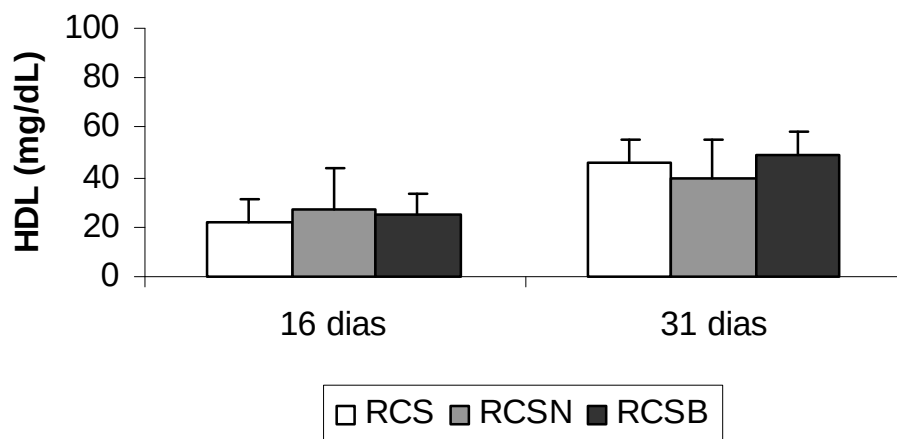


Figura 15 – Média das concentrações de colesterol-HDL em função do tempo, para animais tratados com diferentes dietas. As barras significam o desvio padrão.

PERCEGONI (2002) administrou uma dieta hipercolesterolêmica a coelhos por um período de 31 dias, contendo 10% de caseína e 10% de proteimax (proteína de soja) adicionados à ração. Verificou-se que a proteína de soja teve um efeito hipolipidêmico, reduzindo as concentrações de colesterol total e colesterol-LDL, enquanto que a caseína promoveu um aumento nas concentrações desses constituintes. Em relação às concentrações de triacilgliceróis e glicose, houve uma redução desses parâmetros em ambas as proteínas.

Os pesos dos animais foram monitorados quinzenalmente, as médias obtidas se encontram na Tabela 25.

Houve um aumento na porcentagem de variação em todos os grupos em comparação com o grupo hiperlipidêmico. O grupo 3 (extrato hidrossolúvel de soja) apresentou um aumento de 4,07% e de 6,094% com 16 e 31 dias, respectivamente.

O grupo que recebeu extrato hidrossolúvel de soja + naringenina apresentou um aumento pequeno com 16 dias (1,92%). Com 31 dias esses animais tiveram um aumento de 5,23%.

Os animais do grupo 4 (extrato hidrossolúvel de soja + bixina) apresentaram um aumento de 2,5% e 6,315 com 16 e 31 dias, respectivamente.

Tabela 25 – Valores médios do peso de coelhos submetidos a diferentes dietas com extrato hidrossolúvel de soja

Dietas	0 dias	16 dias	31 dias		
	Peso (mg/dL)	Peso (mg/dL)	Variação (%)	Peso (mg/dL)	Variação (%)
1-Ração	2,078 a	2,225 a		2,264 a	
2-Ração + colesterol (RC)	2,008 a	2,139 a		2,218 a	
3-RC + extrato hidrossolúvel de soja (RCS)	2,017 a	2,226 a	+4,07	2,372 a	+6,94
4-RCS+naringenina (RCSN)	1,941 a	2,180 a	+1,92	2,334 a	+5,23
5-RCS+ bixina (RCSB)	1,922 a	2,185 a	+2,15	2,358 a	+6,31

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

No tempo zero, os animais receberam ração sem nenhuma suplementação. % de variação em relação ao grupo 2 (RC).

5. CONCLUSÕES

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do flavonóide naringenina e do carotenóide bixina e suas associações com o leite em pó de vaca, cabra e com o extrato hidrossolúvel de soja sobre o metabolismo lipídico de coelhos, e para isto, foram realizados três experimentos. No experimento utilizando leite de vaca, ao se comparar com o grupo hiperlipidêmico, o grupo tratado com bixina apresentou uma porcentagem de redução nas concentrações de colesterol de 24,52% e 22,53% com 16 e 31 dias, respectivamente. Em relação às concentrações de triacilgliceróis o melhor resultado foi obtido com o grupo que recebeu leite de vaca + naringenina, onde houve uma redução de 35,08% com 31 dias. Para o colesterol-HDL, os grupos tratados com leite de vaca e leite de vaca + naringenina apresentaram bons resultados, tendo um aumento de 9,59% e 8,37%, respectivamente.

Já no experimento utilizando leite de cabra, as duas substâncias (naringenina e bixina) associadas com o leite de cabra, reduziram as concentrações de colesterol, sendo o melhor resultado obtido com o grupo leite de cabra + naringenina (20,62% com 16 dias e 16,06% com 31 dias). Em relação às concentrações de triacilgliceróis, o grupo leite de cabra + naringenina apresentou o melhor resultado, tendo uma redução de 10,28% com 16 dias e 23,53% com 31 dias. Para o colesterol-HDL, todos os grupos apresentaram bons resultados, aumentando as concentrações desse

parâmetro, tendo destaque o grupo leite de cabra + bixina (56,79% com 16 dias e 40,39% com 31 dias).

No experimento realizado utilizando extrato hidrossolúvel de soja, os melhores resultados na redução das concentrações de colesterol e triacilgliceróis foram obtidos com o grupo tratado com extrato hidrossolúvel de soja + bixina, sendo esta redução de 16,04% para colesterol e 15,59% para triacilgliceróis, ambos aos 16 dias. Em relação às concentrações de colesterol-HDL, todos os tratamentos apresentaram bons resultados, sendo que o grupo extrato hidrossolúvel de soja + naringenina teve um aumento de 32,04% com 16 dias, e, o grupo extrato hidrossolúvel de soja + bixina teve um aumento de 58,18% com 31 dias.

Pelos resultados obtidos, verificou-se que a associação das substâncias (naringenina e bixina) com o leite de vaca, cabra e extrato hidrossolúvel de soja apresentou bons resultados em relação aos parâmetros analisados. Diante disso, muitos trabalhos podem ser desenvolvidos, como por exemplo testar os efeitos das proteínas do soro, proteína da soja, peptídeos de caseína e probióticos associados com flavonóides e carotenóides em animais hiperlipidêmicos. Assim, no futuro, estas substâncias poderão ser utilizadas pela indústria, inclusive pela indústria de alimentos, no desenvolvimento de formulados com propriedades funcionais à base de leite e de soja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. A importância do leite de cabra na nutrição humana. Disponível em: www.cico.rj.gov.br. Acessado em: 15 de fevereiro de 2003.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, v. 18, p. 75-81, 2002.

ARTS, H. C. W.; HOLLMAN, P. C. H.; FESKENS, E. J. M.; MESQUITA, H. B. B.; KROMHOUT, D. Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen elderly study. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 74, p. 227-232, 2001.

BALMIR, F.; STAACK, R.; JEFFREY, E., et al. An extract of soy flour influences serum cholesterol and thyroid hormones in rats and hamsters. **Journal Nutrition**, v.126, p. 3046-3053, 1996.

BASILE, A. C. Fármacos e alimentos. In: OGA, S.; BASILE, A. C. **Medicamentos e suas interações**. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 157-188.

BATLOUNI, M. Hipótese oxidativa da aterosclerose e emprego dos antioxidantes na doença arterial coronária. **Artigos Brasileiros de Cardiologia**, v. 68, n. 1, p. 55-63, 1997.

BLAS, C.; WISEMAN, J. **The nutrition of the rabbit**. New York: CABI Publishing, 1998. p. 344.

BOK, S. H.; SHIN, Y. W.; BAE, K. H.; JEONG, T. S.; KWON, Y. K.; PARK, Y. B.; AND CHOI, M. S. Effects of naringin and lovastatin on plasma and hepatic lipids in high-fat and highcholesterol fed rats. **Nutrition Research**, v. 20, p. 1007–1015, 2000.

BRANDÃO, S. C. C.; CUNHA, M. F. C. O último vilão dos alimentos: a gordura hidrogenada. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 5, n. 29, p. 61-65, 2000.

BUCIONE. **O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais**, Minas Gerais, 2001, p. 183-203.

BURCHELL, B.; BRIERLEY, C. H.; RANCE, D. Specificity of human UDP-glucuronosyltransferases and xenobiotic glucuronidation. **Life Science**, v. 57, p. 1819-1831, 1995.

CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Artes Médicas Sul, 2001. 751p.

CARROLL, K. K.; KUROWSKA, E. M. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3, p. 594-597, 1995.

CARROLL, K. K. Soya protein and atherosclerosis. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 2, p. 416-419, 1981.

CARVALHO FILHO, E. T.; ALENCAR, Y. M. G.; LIBERMAN, S. Fatores de Risco de Aterosclerose na Mulher após a Menopausa. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 66, n. 1, p. 37-48, 1996.

CARVALHO, P. R. N. Corantes de urucum hidrossolúveis. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 1, n. 1, p. 242-243, 1922.

CARVALHO, P. R. N. Potencialidade dos corantes naturais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 1, n. 1, p. 244-245, 1922.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. **Bioquímica Ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 446p.

CHEEKE, P. R. **Alimentación y nutrición del conejo**. Espanha: Acribia S. A., 1995. p. 429.

CHUL-HO, L.; TAE-SOOK, J.; YANG-KYU, C.; BYUNG-HWA, H.; GOO-TAEG, O.; EUN-HEE, K.; JU-RYOUNG, K.; JANG-IL, H.; SONG-HAE, B. Anti-atherogenic effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, associated with hepatic ACAT and aortic VCAM-1 and MCP-1 in high cholesterol-fed rabbits. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 284, n. 3, p. 681-688, 2001.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 7, p. 66-76, 1996.

CROUVEZIER, S.; POWELL, B.; KEIR, D.; YAQOOB, P. The effects of phenolic components of tea on the production of pro- and anti-inflammatory cytokines by human leukocytes in vitro. **Cytokine**, v. 13, n. 5, p. 280-281, 2001.

DASHTI, N.; FENG, Q.; FRANKLIN, F.A. Long-term effects of *cis* and *trans* monounsaturated (18:1) and saturated (16:0) fatty acids on the synthesis and secretion of apolipoprotein A-I and apolipoprotein B-containing lipoproteins in HepG2 cells. **Journal of Lipid Research**, v. 41, p. 1980-1990, 2000.

DUARTE J.; PEREZ-VIZCAINO F.; ZARZUELO A.; JIMENEZ J.; TANARGO J. Vasodilator effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. **European Journal of Pharmacology**, v. 239, p. 1–7, 1993.

DUNHAM, N.; ALLARD, K. R. A preliminary pharmacologic investigation of the roots of *Bixa orellana*. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 49, n. 4, p. 218-219, 1960.

ERLUND, I.; MERIRINE, E.; ALFTHAN, G.; ARO, A. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. **American Journal Clinical Nutrition**, p. 235-241, 2000.

ESPÍNDOLA, G. B. Valor fisiológico e nutricional da fibra vegetal para coelhos. **III Seminário Nacional de Pesquisa e Tecnologia em Cunicultura**. Unesp, Jaboticabal, São Paulo, 1999, 74 p.

ESTEVES, E. A.; MONTEIRO, J. B. R. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. **Revista de Nutrição de Campinas**, v. 14, n. 1, p. 43-52, 2001.

FEKETE, S. Cholesterol, atherosclerosis and rabbits. **J. Appl. Rabbit Res.**, v. 14, p. 77-79, 1991.

FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F. S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n.3, p. 375-382, 2002.

FERREIRA, C. L. L. F. Tecnologia para produtos lácteos funcionais: probióticos. In: PORTUGAL, J. A. B.; CASTRO, M. C. D.; SILVA, P. H. F. da; SAVINO, A. C. **O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais**, Minas Gerais, 2001, p. 183-203.

FERREIRA, C. L. L. F. Valor nutricional e bioterapêutico de leites fermentados. **Revista Leite & Derivados**, São Paulo, n. 36, p. 46-53, 1997.

FISBERG, M.; NOGUEIRA, M.; FERREIRA, A. M. A.; FISBERG, R. M. Aceitação e tolerância de leite de cabra em pré-escolares. **Separata da Revista Pediatria Moderna**, v. 35, n. 7, 1999.

FONSECA, L. M.; FONSECA, C. S. P.; BRANDÃO, S. C. C. Propriedades anticarcinogênicas de componentes do leite. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, p.50-56, 1999.

FONSECA, A. L. Interações com alimentos. In: **Interações Medicamentosas**. 3ª ed. São Paulo: EPUB, 2001. p. 455-461.

FONTANA, J. D.; MENDES, S. V.; PERSIKE, D. S.; PERACETTA, L. F.; PASSOS, M. Carotenóides: cores atraentes e ação biológica. **Bio Tecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 13, 2000.

FORSYTHE, W. A. Soy protein, thyroid regulation and cholesterol metabolism. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 3, p. 619-623, 1995.

FRIEDMAN, F. K.; WIEBEL, F. J.; GELBOIN, H. V. Modulation of rat hepatic aryl hidrocarbon hidroxiylase by various flavones and polycyclic aromatic hidrocarbons. **Pharmacology**, v. 31, n.4, p. 194-202, 1985.

GALVÃO, L. de P. Novos ingredientes funcionais e seus benefícios para a saúde do século XXI. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, p. 26-30, 2001.

GERENALIDADES SOBRE O URUCUM. Disponível em: www.firace.com.br/urucum.html. Acesso em: 15 de dezembro de 2002.

GERMANO, M. P.; PASQUALE, R.; RAPISARDA, A.; MONTELEONE, D.; KEITA, A.; SANOGO, R. Drugs used in Africa as dyes: I. skin absorption and tolerability of *Bixa orellana* L. **Phytomedicine**, v. 4, n. 2, p. 129-131, 1997.

GHIRALDINI, E. Corantes naturais mais comumente usados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Bahia, v. 2, n. 1, p. 93-97, 1996.

GILANI, G. S; RATNAYAKE, W. M. N.; BROOKS, S. P. J.; BOTTING, H. G.; PLOUFFE, L. J.; LAMPI, B. J. Effects of dietary protein and fat on cholesterol and fat metabolism in rats. **Nutrition Research**, v. 22, p. 297-311, 2002.

GOMES, P. **A soja**. 5ª ed., 3ª reimpressão. São Paulo: Nobel, 1990. 152p.

GROLIER, P.; DUSZKA, C. BOREL, P.; ALEXANDREGOUABAU, M. C.; AZAISBRAESCO, V. *In vitro* and *in vivo* inhibition of β -carotene dioxygenase activity by canthaxanthin in rat intestine. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 348, p. 233-238, 1997.

GRUNDY, S. Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long-chain fatty acids. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 60, n. 6(ssupl), p. 986S-990S, 1994.

GRUNDY, S. M. Nutrição e Dieta no Tratamento de Hiperlipidemia e Aterosclerose. IN: SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9 ed. Editora Manole, 2003, 2106 p.

GUIMARÃES, I. S. S. Corantes naturais: os sucedâneos dos artificiais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Bahia, v. 2 n. 1, p. 98-110, 1996.

GUIMARÃES, I. S. S. Fontes alternativas de corantes naturais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Minas Gerais, v. 1 n. 1, p. 177-181, 1992.

GUIMARÃES, I. S. S. Pesquisa básica e aplicada na área de corantes para a indústria de alimentos. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 21, n. 11, 1991.

GUYTON, A.; C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997, 1014 p.

HACKETT, A. M. The metabolism of flavonoid compounds in mammals. In: Liss, A. R. **Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological, and struture-activity relationships**. New York, 1986. v. 213, p. 177-194.

HARBONE, J. B., CODY, V.; MIDDLETON, E. Nature, distribution, and function of plant flavonoids. In: Liss, A. R. **Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological, and struture-activity relationships**. New York, 1986. v. 213, p. 15.

HELLER, W. ; CODY, V.; MIDDLETON, E.; HARBONE, J. B. Flavonoid biosynthesis: na overview. In: Liss, A. R. **Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological, and struture-activity relationships**. New York, 1986. v. 213, p. 25.

HOLLMAN, P. C. H.; VRIES, J. H.; VANLEEWEN, S. D.; MENGELERS, M. J. B.; KATAN, M. B. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 62, p. 1276, 1995.

HUFF, M. W.; CARROLL, K. K. Effects of dietary protein on turnover, oxidation, and absortion of cholesterol, and on steroid excretion in rabbits. **Journal Lipid Research**, v. 21, p. 546-558, 1980.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. Ed. São Paulo, 1985. v. 1. 531 p.

IVANOV, L.V.; KHADZHAI, Y. I.; KOSHELEVA, L. P.; CHUEVA, I. N.; SHEREMET, I. P.; VASELOVSKII, V. Y. Affinity of flavonoid compounds for biomembranes and some features of their pharmacokinetics. **Khim. Pharm.**, v. 26, p. 20-23, 1992.

JACOBUECCIA, H. B.; SGARBIERI, V. C.; DIASA, N. F. G. P.; BORGESA, P.; TANIKAWAA, C. Impact of different dietary protein on rat growth, blood serum lipids and protein and liver cholesterol. **Nutrition Research**, v. 21, n. 6 p. 905-915, 2001.

JAHROMI, M. A. F.; RAY A. B. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Pterocarpus marsupin*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 7, p. 989-994, 1993.

JENKINS, D. J. A.; KENDALL, C. W. C.; VIDGEN, E.; AUGUSTIN, L. S. A.; ERK, M. van.; GEELEN, A.; PARKER, T.; FAULKNER, D.; VUKSAN, V.; JOSSE, G. R.; LEITER, L. A.; CONNELLY, P. W. High-protein diets in hiperlipidemia: effect of wheat gluten on serum lipids, uric acid, and renal function. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 74, p. 57-63, 2001.

JORGE, P. A. R. Endotélio, lípides e aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 68, n. 2, p. 129-134, 1997.

JORGE, P. A. R.; NEYRA, L. C.; OZAKI, R. M.; ALMEIDA, E. Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sobre o relaxamento-dependente do endotélio em coelhos hipercolesterolêmicos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 69, n. 1, p. 1-12, 1997.

KAYASHITA, J.; SHIMAOKA, I.; NAKAJOH, M.; KATO, N. Feeding of buckwheat protein extract reduces hepatic triglyceride concentration, adipose tissue weight, and hepatic lipogenesis in rats. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 7, p. 555-559, 1996.

KERN, M.; ELLISON, D.; MARROQUIM, Y.; AMBROSE, M.; MOSIER, K. Effects of soy protein supplemented with methionine on blood lipids and adiposity of rats. **Nutrition**, v.18, n.7/8, p. 654-656, 2002.

KINSELLA, J. E.; BRUCKNER, G.; MAI, J.; SHIMP, J. Metabolism of trans fatty acids with emphasis on the effects of *trans*, *trans*-octadecadienoate on lipid composition, essential fatty acid, and prostaglandins: na overview. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, p. 2307-2318, 1981.

KOHLMEIER, L.; HASTINGS, S. B. Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 62, (suppl): 1370S-1376S, 1995.

KOLB, A. F. The prospects of modifying the antimicrobial properties of milk. **Biotechnology Advances**, v. 19, p. 299-316, 2001.

KRITCHEVSKY, D.; TEPPER, S. A.; KUKSIS, A.; EGHTEDARY, K.; KLURFELD, D. M. Cholesterol vehicle in experimental atherosclerosis. 21. Native and randomized lard and tallow. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 9, p. 582-585, 1998.

KRITCHVSKY, D. Vegetable protein and atherosclerosis. **J. Am. Oil Chemistis' Soc.**, v. 56, p. 135-140, 1979.

KUBOW, S. The influence of positional distribution of fatty acids in native, interesterified and struture-specific lipids on lipoprotein metabolism and atherogenesis. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 7, p. 530-541, 1996.

KUROWSKA, E.; SPENCE, J. D.; JORDAN, J.; WETMORE, S.; FREEMAN, D. J.; PICHÉ, L. A.; SERRATORE, P. HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. **Am J Clin Nutr**, v. 72, p. 1095-1100, 2000.

LAJOLO, F. M. IN: **Seminário Internacional sobre Alimentos Funcionais**, 1., São Paulo. CD-ROM. ILSI, 1999.

LEE, S. F.; LIN, J.K. Inhibitory effects of phytopolyphenols on TPA-induced transformation, PKC activation, and *C-jun* expression in mouse fibroblast cells. **Nutr. Câncer**, v. 28, p.177-183, 1997.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 839p.

LIMA, F. E. L.; MENEZES, T. N.; TAVARES, M. P.; SZARFARC, S. C.; FISBERG, R. M. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. **Revista de Nutrição de Campinas**, v. 13, n. 2, 73-80, 2000.

LIMA, L. R. P. **Efeitos farmacológico, toxicológico e mecanismo de ação dos flavonóides e corantes naturais extraídos do urucum (*Bixa orella* L.) no metabolismo lipídico de coelhos**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 122 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.

LIMA, L. R. P.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S.; STRINGHETA, P. C. ; OLIVEIRA, M. G. A.; TINOCO, A. L. A.; OLIVEIRA, M. L.; SILVA, J. F. Controle da hiperlipidemia em coelhos tratados com flavonóides e corantes naturais do urucum. **Acta Farmcéutica Bonaerense**, v. 20, n. 1, p. 53-57, 2001.

LOPES, R. M. **Efeitos (hipolipidêmicos) de naringenina e quitosan e toxicologia de monascus e rutina sobre o metabolismo em coelhos**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 105 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.

LOTTENBERG, A. M. Dieta na Hipercolesterolemia. IN: QUINTÃO, E. Colesterol e Aterosclerose. Rio de Janeiro: **Qualitymark**, 1992. 276 p.

MANACH, C.; REGERAT, F.; TEXIER, O.; AGULLO, G.; DEMIGNE, C.; REMESY, C. Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxo-flavonoids. **Nutrition Research**, v. 16, n. 3, p. 517-544, 1996.

MANHAN, L.; K.; ARLIN, M. T. **krause- Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 8 ed. São Paulo: Roca, 1995, 957 p.

MARTÍNEZ, A.; HAZA, A. I.; MORALES, P. Frutas y verduras como agentes preventivos en la dieta. I. Actividad antioxidante. **Alimentaria**, v. 1, n. 319, p. 27-31, 2001.

MARTÍNEZ, A.; HAZA, A. I.; MORALES, P. Frutas y verduras como agentes preventivos en la dieta. II. Actividad antimutagénica y anticancerígena. **Alimentaria**, v. 1, n. 319, p. 33-39, 2001.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica Básica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1999. 360 p.

MASSEY, L. K. Leite pode reduzir pressão arterial e risco de derrame. Disponível em: <http://www.ablv.org.br/noticias/>. Acesso: 15 de dezembro de 2002.

MATSUBARA, S. Alimentos funcionais: uma tendência que abre perspectivas aos laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, p. 10-18, 2001.

MAXWELL, S.; CRUICKSHANK, A.; THORPE, G. Red wine and antioxidant activity in serum. **Lancet**, v. 344: p. 193-4, 1994.

MAYES, P. A. Colesterol: síntese, transporte & excreção. In: MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A.; RODWELL, V. W. **Haper: Bioquímica**. São Paulo: Atheneu, 1994. 763p.

MEAD, J. R.; RAMJI, D. P. The pivotal role of lipoprotein lipase in atherosclerosis. **Cardiovascular Research**, v. 55, p. 261-269, 2002.

MEIER, P.; GYGAX, P. A comparison of different reagents for the activated partial thromboplastin time in rabbit and rat plasma. **Thromb. Res.**, v. 59, p. 883-886, 1990.

MELLO, H. V.; SILVA, J. F. **A criação de coelhos**. 2 ed. Editora Globo, 1989, 214p.

MIDDLETON E.; KANDASWAMI C. Effects of flavonoids on immune and inflammatory function. **Biochemical Pharmacology**, v. 43, p. 1167–79, 1992.

MIDDLETONJR, E.; KANDASWAMI, C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: HARBONE, J. B. **The flavonoids advances in research since 1986**. 1 ed. Chapman & Hall, 1994, 676 p.

MOGHADASIAN, M. H. Experimental atherosclerosis a historical overview. **Life Science**, v. 70, p. 855-865, 2002.

MILNER, J. A. Nutrition and health benefits of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, v.129, p. 1395S-1397S, 1999.

NAGATA, Y.; IMAIZUMI, K.; SUGANO, M. Effects of soya-bean protein and casein on serum cholesterol levels in rats. **Br. J. Nutr.** v. 44, p. 113-121, 1980.

NAGATA,Y.; YSHIWAKI, N.; SUGANO,M. Studies on then mecanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats. **Journal Nutrition**, v. 112, p. 1614-1625, 1982.

NAZÁRIO, G. Regulamentação e toxicologia de corantes para a indústria de alimentos. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 21, n. 11, p. 24-26 ,1991.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Principles of biochemistry**. 3. ed. New York, Worth Publishers, 2000. 1200p.

NEVES, B. dos S.; ARCURI, E. F. **O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais**, Minas Gerais, 2001, p. 183-203.

NIJVELDT, R. J; NOOD, E. van; HOORN, D. E. C. VAN; BOELENS, P. G.; NOOREN, K. VAN; LEEUVEN, P. A. M. VAN. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 74, p. 418-425, 2001.

OGA, S. Tipos de interações. In: OGA, S.; BASILE, A. C. **Medicamentos e suas interações**. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 12-28.

OLIVEIRA, E. M. Ambiente e produtividade na cunicultura. **III Seminário Nacional de Pesquisa e Tecnologia em Cunicultura**. Unesp, Jaboticabal, São Paulo, 1999, 74 p.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, p. 1-21, 2002.

PASQUALUCCI, C. A.; UINT, L.; LAGE, S. G. Parte I: fenômenos celulares na aterosclerose. **Revista Brasileira de Cardiologia**, v. 1, n. 1, 1999.

PENÃ, N. C.; MELGAREJO, J. A. S.; MÉNDES, J. D. Atherosclerosis experimental. Cambios bioquímicos y vasculares. **Revista Médica**, v. 37, n. 5, p. 401-406, 1999.

PENNINGTON, J. A. T. Food composition databases for bioactive food components. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 419-434, 2002.

PERCEGONI, N. **Efeitos do flavonóide crisina, xantona e das proteínas de soja e caseína nos lipídeos sanguíneos e hepáticos de coelhos**. Viçosa, MG:UFV, 2002. 145 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

PETERSON, J.; DWYER, J. An informatics appprocah to flavonoid database development. **Journal of Food Composition an Analysis**, v. 13, p. 441-454, 2000.

PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v. 18,n. 12, p. 1995-2018, 1998.

PRATES, J. A. M.; MATEUS, C. M. R. P. Componentes com actividade fisiológica dos alimentos de origem animal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 97, n. 541, p. 3-12, 2002.

PUPIN, A. C. Legislação dos produtos lácteos funcionais. IN: PORTUGAL, J. A. B.; CASTRO, M. C. D.; SILVA, P. H. F.; SAVINO, A. C.; NEVES, B. dos S.; ARCURI, E. F. **O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais**, 2001, 204 p.

REIG, A. L. C. Los probióticos y su efecto inmunomodulador. **Alimentaria**, julho-agosto, n. 324, 29-34, 2001.

RENAUD, S.; DE LORGERIL, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. **Lancet**, v. 339, p. 1523-6, 1992.

RICHARDS, N. S. P. S. Soro lácteo perspectivas industriais e proteção ao meio ambiente. **Food Ingredientes**, p. 20-27, 2002.

ROBERFROID, M. Concepts and strategy of funcional food science: the European perspective. **American Journal Clinical Nutrition**, v.71(suppl), p. 1660S-4S, 2000.

ROSSI, E. A.; VENDRAMINI, R. C.; CARLOS, I. Z.;UEIJI, I. S.; SQUINZARI, M. M.; JR SILVA, S.I.; VALDEZ, G. F. Efeito de um novo produto fermentado de soja sobre os lípides séricos de coelhos hipercolesterolêmicos. **Arq Bras Cardiol**, v. 74, n. 3, p. 209-212, 200.

ROTA, C.; HERRERA, A. Nuevas leches fermentadas. **Alimentaria**, v. 1, n. 320, p. 57-64, 2001.

SAIJA, A.; RAPISARDA, A.; TOMAINO, A.; TROMBETTA, D. Flavonoid interactions with biomembranes. **Phytotherapy Research**, v. 10, S132-S134, 1996.

SALGADO, J. M.; ALVARENGA, A.; LOTTEMBERG, A. M. P.; BORGES, V. C. Impacto dos alimentos funcionais para a saúde. **Revista Nutrição em Pauta**. São Paulo, v. 9, n. 48, 2001.

SANTOS, K. F. R.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S.; OLIVEIRA, M. G. A. Hypolipidaemic effects of naringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. **Pharmacological Research**, v. 40 n. 6, p. 493-496, 1999.

SANTOS, M. D.; BLATT, C. T. T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta miers* de mata e de cerrado. **Revista Brasileira Botânica**, São Paulo, v. 21, n. 2, 1998.

SARWAR, G.; RATNAYAKE, W. M. N. Effects of amino acid supplementation of dietary proteins on serum cholesterol and fatty acids in rats. **Nutrition Research**, v. 20, p. 665-674, 2000.

SCHWENKE, D. Antioxidants and atherogenesis. **Journal Nutritional Biochemistry**, v. 9, p. 424-445, 1998.

SILVA, P. H. F.; PEREIRA, D. B. C.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA JR, L. C. G. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora, 1997. 190 p.

SILVEIRA, I. L.; FLÁVIO, E. F.; OLIVEIRA, S. A. M. **Soja, o alimento e a nutrição. Cadernos didáticos**. Universidade Federal de Viçosa, n. 273, 1989, 58 p.

SKIBOLA, C. F.; SMITH, M. T. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 29, n. 3/4, p. 375-383, 2000.

SILVA, R. R. **Modelos de indução de hiperlipidemia e avaliação do efeito hipolipidêmico de flavonóides e corantes naturais em frangos de corte**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 128 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.

SMITH, E.L., HILL, R.L., LEHMAN, I.R., LEFKOWITZ, R.J., HANDLER, P., WHITE, A. **Bioquímica Mamíferos**. 7^a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 620 p.

SO, F. V.; GUTHRIE, N.; CHAMBERS, A. F.; MOUSSA, M.; CARROLL K.K. Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juices. **Nutrition and Cancer**, v. 26, p.167–81, 1996.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Consenso brasileiro sobre dislipidemias: detecção – avaliação – tratamento. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 67, n. 2, p. 113-128, 1996.

SOMKUTI, G. A.; HOLSINGER, V. H. Tecnologías microbiológicas para la elaboración de productos lácteos con bajo contenido en lactosa. **Food Science and Technology International**, v. 3, n. 3, p. 163-169, 1997.

SOUZA, E. C. G. **Efeito de bixina sobre os parâmetros bioquímicos séricos em ratos**. Viçosa, MG: UFV, 2001.129p. Dissertação (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Viçosa, 2001.

SPEZIALE, A. M. T.; MADRIGAL, N. M. B. Lípidos: aplicación de niveles de decisión clínica. Cronobiología en México. **Revista Médica**, v. 39, n. 2, p. 97-104, 2001.

STRUCKMANN, J. R.; NICOLAIDES, A. N. Flavonoids: a review of the pharmacology and therapeutic efficacy of daflon 500 mg in patients with chronic venous insufficiency and related disorders. **The Journal of Vascular Diseases**, v. 45, n.6, p. 419-427, 1994.

SUGIYAMA, K.; KANAMORI, H.; AKACHI, T.; YAMAKAWA, A. Amino acid composition of dietary proteins affects plasma cholesterol concentration through alteration of hepatic phospholipid metabolism in rats fed a cholesterol-free diet. **Nutrition Biochemistry**, v. 7, p. 40-48, 1996.

SZARKA, C. E.; GRANA, G.; ENGSTROM, P. F. Chemoprevention of cancer. **Current Problems in Cancer**, v. 18, p. 6-79, 1994.

TAKAHASHI, M.; YABIKU, H. Corantes naturais: usos, restrições e perspectivas. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 1, n. 1, p. 246-247, 1992.

TAPIERO, H.; TEW, K. D.; NGUYEN BA, G.; MATHÉ, G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 4, p. 200-207, 2002.

TEITELBAUM, J. E.; WALKER, A. Review: the role of omega 3 fatty acids in intestinal inflammation. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 12, p. 21-32, 2001.

TERPSTRA, A. H. M.; TINTELEN, G. V.; WEST, C. E. The effect of semipurified diets containing different proportions of cholesterol in whole serum, serum lipoproteins and liver in male and female rats. **Atherosclerosis**, v. 42, p. 85-95, 1982.

THURNHAM, D. I.; NORTHOP-CLEWES, C. A. Optimal nutrition: vitamin A and the carotenoids. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 58, p. 449-457, 1999

TOMOTAKE, H.; SHIMAOKA, I.; KAYASHITA, J.; YOKOYAMA, F.; NAKAJOH, M.; KATO, N. A buckwheat protein product suppresses gallstone formation and plasma cholesterol more strongly than soy protein isolate in hamsters. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1670-1674, 2000.

TSAI, P.; HUANG, P. Effects of isoflavones containing soy protein isolate compared with fish protein on serum lipids and susceptibility of low density lipoprotein to in vitro oxidation in hamsters. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 10, p. 631-637, 1999.

VALENTE, S. T. X. **Efeito de corantes naturais nos níveis de colesterol e triacilgliceróis séricos em ratos hiperlipidêmicos**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 102 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.

VIERA, A. V.; SCHNEIDER, W. J.; VIERA, P. M. Retinoids: transport, metabolism, and mechanism of action. **J. Endocrinol.**, v. 146, p. 201-207, 1995.

VIRTUOSO, L. S.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S.; TINOCO, A. L. A.; PINTO, J. G. Efeitos de rutina, colestiramina, e betalaína no controle de lipídios em soro de coelhos hiperlipidêmicos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 33, n. 2, p. 85-89, 2001.

WALLE, T.; OTAKE, Y.; WALLE, U. K.; WILSON, F. A. Quercetin glucosides are completely hydrolyzed in ileostomy patients before absorption. **Journal Nutritional**, v. 130, p. 2658, 2000.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 304-309, 1997.

WILLIAM, C. H.; HOULT, J.R.S.; HARBORNE, J. B.; GREENHAM, J., EAGLES, J. A. Biologically active lipophilic flavonol from *tanacetum parthenium*. **Phytochemistry**, v. 38, p. 267-70, 1995.

WITZTUM, J. L.; STEINBERG, D. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: does it hold for humans? **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 11, n. 3/4, p.93-102, 2001.

WOOD, A. W.; SMITH, D. S.; CHANG, R. L.; HUANG, M-T; CONNEY, A. H. Effects of flavonoids on the metabolism of xenobiotics. In: Liss, A. R. **Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological, and structure-activity relationships**. New York, 1986. v. 213, p. 195-210.

YADAV, N. R.; LIENER, I. E. Reduction of serum cholesterol in rats fed vegetable protein or an equivalent amino acid mixture. **Nutrition Reports International**, v. 16, n. 4, p. , 1977.

YI-FA, L.; MING-RU, J. Effects of soy protein and casein on lipid metabolism in mature and suckling rats. **Nutrition Research**, v. 17 n. 8, p. 1341-1350, 1997.

YUJIM, K. A.; MCDONALD, J.; KALT, W.; JOSEPH^a, J. A. Potencial role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 282-288, 2002.

YUGARAN T.; TAN, B. K. H. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. **Lipids**, v. 27, n. 3, p. 181-186, 1992.

ZHANG, Y.; PARK, Y.; KIM, T.; FANG, L.; AHN, H.; HONG, J.; KIM, Y.; LEE, C.; YUN, Y. Endothelium-dependent vasorelaxant and antiproliferative effects of apigenin. **General Pharmacology**, v. 35, p. 341-347, 2002.

ZHONGHONG, G.; KAIXUN, H.; HUIBI, X. Protective effects of flavonoids in the roots of *Scutellaria baicalensis Georgi* against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HS-SY5Y cells. **Pharmacological Research**, v. 43, n. 2, p. 173-178, 2001.

ZULU, R. M.; GRAYER, R.J.; INGHAM, J. L.; HARBORNE, J. B. Flavonoids from the roots of two *Rhynchosia species* used in the preparation of a Zambian Beverage. **J. Sci. Food Agric.**, v. 65, p. 347-354, 1994.

APÊNDICE

APÊNDICE

Quadro 1A – Resumo da análise de variância das variáveis glicose, colesterol, triacilgliceróis, colesterol- HDL e peso, de coelhos tratados com diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias (relativo ao experimento com leite em pó de vaca)

FV	GL	Quadrado médio				
		Glicose	Colesterol	Triacilgliceróis	Colesterol-HDL	Peso
Dieta (D)	7	439,73 ns	367163,90 **	3154,56 ns	60,89 ns	0,12 ns
Resíduo-A	40	318,44	60293,63	2264,14	41,99	0,12
Tempo (T)	2	1967,30 **	4231122,00 **	93792,94 **	911,39 **	4,44 **
D x T	14	181,27 ns	130783,80 **	1624,43 *	26,16 ns	0,03 **
Resíduo-B	80	223,60	24191,27	807,08	32,33	0,56
CV (%) parcela		13,76	52,99	41,87	25,37	21,03
CV (%) subparcela		11,53	33,57	25,00	22,26	4,57

** F significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* F significativo ao nível de 5% de probabilidade.

ns F não-significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 2A – Resumo da análise de variância das variáveis glicose, colesterol, triacilgliceróis, colesterol-HDL e peso, de coelhos tratados com diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias (relativo ao experimento com leite em pó de cabra)

FV	GL	Quadrado médio				
		Glicose	Colesterol	Triacilgliceróis	Colesterol-HDL	Peso
Dieta (D)	4	438,75 ns	688102,40 **	8310,20 **	307,68 *	0,70 ns
Resíduo-A	25	551,66	78256,48	1856,35	114,96	0,78
Tempo (T)	2	2785,64 **	3592961,00 **	20050,05 **	855,84 **	0,69**
D x T	8	361,88 ns	218399,50 **	638,56 ns	93,39 ns	0,19**
Resíduo-B	50	299,12	35157,05	662,04	87,59	0,65
CV (%) parcela		17,52	60,62	40,38	35,56	41,86
CV (%) subparcela		12,90	40,63	24,11	31,04	3,81

** F significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* F significativo ao nível de 5% de probabilidade.

ns F não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 3A – Resumo da análise de variância das variáveis glicose, colesterol, triacilgliceróis, colesterol-HDL e peso, de coelhos tratados com diferentes dietas e avaliados aos 0, 16 e 31 dias (relativo ao experimento com leite em pó de soja)

FV	GL	Quadrado médio				
		Glicose	Colesterol	Triacilgliceróis	Colesterol-HDL	Peso
Dieta (D)	4	219,47 ns	910223,00 **	4539,72 **	209,99 ns	0,19 ns
Resíduo-A	25	303,80	76406,11	1195,62	107,17	0,79
Tempo (T)	2	1701,01 **	5370388,00 **	31020,10 **	1600,31 **	0,76**
D x T	8	251,20 ns	340470,10 **	1427,34 *	218,86 *	0,19*
Resíduo-B	50	183,84	29437,11	668,57	87,19	0,74
CV (%) parcela		12,94	52,48	33,69	33,97	41,14
CV (%) subparcela		10,07	32,57	25,19	30,64	3,98

** F significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* F significativo ao nível de 5% de probabilidade.

ns F não-significativo ao nível de 5% de probabilidade.