

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE MESTRADO EM BIOQUÍMICA**

CONVÊNIO UFPE E UNIVERSIDADE DO VALE DO ACARAÚ (UVA)

**VALOR PROTÉICO E IMPLICAÇÕES NUTRICIONAIS DA
LECTINA DE SEMENTES DE *Cratylia mollis* QUANDO
PRESENTE NA DIETA**

Mestranda : Ana Claudia de Oliveira

Orientadora: Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia

Co-Orientadora: Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho

Orientadora Externa: Profa. Dra. Ilka Maria Vasconcelos

Recife – 2002

ANA CLAUDIA DE OLIVEIRA

**VALOR PROTÉICO E IMPLICAÇÕES NUTRICIONAIS DA
LECTINA DE SEMENTES DE *Cratylia mollis* QUANDO
PRESENTE NA DIETA**

Dissertação apresentada ao
Mestrado em Bioquímica para o
cumprimento parcial das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Bioquímica pela Universidade Federal
de Pernambuco.

Aprovada por: _____

Recife - 2002

A Deus;
Aos meus pais, Expedito e Aurineide;
Às minhas irmãs, Lourdes e Claudeane;
Aos meus sobrinhos, Pedro Victor e
Virgínia, pelo amor, apoio, dedicação e
carinho.

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora MARIA TEREZA DOS SANTOS CORREIA, pela sua orientação, incentivo e apoio na realização deste trabalho.

À Professora Doutora ILKA MARIA VASCONCELOS, o meu muito obrigada, por ter disponibilizado o Laboratório de Toxinas Vegetais – UFC, para realização dos experimentos, bem como pelo apoio, carinho e paciência com que me acolheu.

À Professora Doutora LUANA CASSANDRA BREITENBACH BARROSO COELHO, por sua co-orientação e atenção.

À Professora Doutora ANA CÉLIA OLIVEIRA SANTOS, por ter contribuído, com sua amizade e constante disponibilidade na discussão de meus questionamentos.

À Professora Mestre FERNANDA MARIA MACHADO MAIA, pela amizade e apoio técnico.

À amiga RICRISTHI DE AGUIAR GONÇALVES, pelo seu companheirismo, dedicação e presença constante durante toda a realização do experimento.

Ao amigo CLÁUDIO CABRAL CAMPELLO, pela sua valiosa ajuda nas análises estatísticas.

A todos os integrantes do Laboratório de Glicoproteínas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, pela forma amiga e acolhedora, sem as quais não seria possível a realização desta pesquisa, em especial a técnica MARIA BARBOSA REIS DA SILVA, pela ajuda e apoio.

À todos do Laboratório de Toxinas Vegetais da Universidade Federal do Ceará – UFC, em especial, JANE, DANIELE, ELISÂNGELA, ISABEL, LÚCIA, SILVINHA, pelo carinho, ajuda, amizade e, principalmente, acolhida durante a realização dos experimentos.

Um agradecimento especial ao Professor CARLOS ROLIM da Universidade do Vale do Acaraú (UVA), não mas presente entre nós, por ter contribuído de forma significativa para a realização deste Mestrado.

Aos colegas do mestrado, pelo convívio amigo e ajuda diária, especialmente a amiga ANA MARY ALVES VIANA, que sempre esteve ao meu lado me incentivando, estimulando com seu carinho e amizade.

Ao meu chefe, e por que não dizer amigo LUÍZ CARLOS PEIXOTO, pelo seu incentivo e apoio, sem o qual não teria sido possível a concretização deste trabalho.

Às minhas amigas de trabalho ENALDA e EVELINE, pela ajuda, cooperação e apoio.

Às amigas ADRIANA CESAR E FLÁVIA PERES, pela acolhida, companheirismo, apoio e amizade.

À minha FAMÍLIA, pelo apoio e ensinamento ao longo de todos esses anos.

A todos os amigos e pessoas que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

E sobretudo a DEUS, que me permitiu concluir este trabalho através de suas bênçãos.

LISTA DE FIGURA

FIGURA		Página
1	Sementes de <i>Cratylia mollis</i>	11

LISTA DE TABELA

TABELA		Página
1	Classificação das lectinas em grupos de reconhecimento da especificidade	7

LISTA DE ABREVIATURAS

CCm	Dieta de Farinha Cozida de Sementes de <i>C. mollis</i> não suplementada com metionina e triptofano
Cra	Dieta contendo 8% de EW e 2% de lectina purificada de <i>C. mollis</i> .
EW	Egg-White (proteína do ovo)
NPC	Dieta Isenta de Proteína
NPR	Retenção Protéica Final
NPU	Utilização Protéica Final
PER	Relação de Eficiência Protéica
RCm	Dieta de Farinha Crua de Sementes de <i>C. mollis</i> não suplementada com metionina e triptofano
SCCm	Dieta de Farinha Cozida de Sementes de <i>C. mollis</i> suplementada com metionina e triptofano
SRCm	Dieta de Farinha Crua de Sementes de <i>C. mollis</i> suplementada com metionina e triptofano

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMENTOS	IV
LISTA DE FIGURA	VI
LISTA DE TABELA	VII
LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
ÍNDICE	IX
RESUMO	X
ABSTRACT	XI
1. INTRODUÇÃO	1
1.1- Considerações Gerais	1
1.2 - Valor Nutricional das Proteínas	2
1.3 - Avaliação Qualitativa das Proteínas	3
1.4 - Fatores Antinutricionais	4
1.4.1 – Lectinas	5
1.5 – <i>Cratylia mollis</i>	10
1.6 – Relevância do Trabalho	12
2. OBJETIVOS	13
2.1– Objetivo Geral	13
2.2 - Objetivos Específicos	13
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
4. ARTIGO “<i>Cratylia mollis</i> seeds. Protein quality and nutritional implications of dietary lectin”	27
5. CONCLUSÕES	51

RESUMO

Feijão camaratu (*Cratylia mollis*), planta nativa da Região de Pernambuco, é considerado um excelente recurso forrageiro, e uma alternativa para obtenção de lectinas. Neste trabalho avaliou-se a qualidade protéica e as implicações nutricionais da lectina de sementes de *C. mollis* visando uma melhor caracterização do feijão camaratu como fonte alimentícia. Dietas contendo “Egg-White” (EW, controle positivo), farinha crua (RCm) e cozida (CCm) de sementes de *C. mollis*, ou suplementadas (SRCm e SCCm) com L-metionina e L-triptofano, além de uma dieta contendo lectina de *C. mollis* purificada (Cra) e uma dieta isenta de proteínas (NPC), foram usadas por um período de 10 dias, em ratos machos tipo *Wistar*, desmamados aos 21 dias. Os órgãos foram retirados, pesados e liofilizados para obtenção do peso seco; as carcaças foram, também, desidratadas. Após a obtenção do peso seco dos órgãos e das carcaças, estes foram triturados de forma conjunta. Os animais que ingeriram as dietas RCm, SRCm e CCm apresentaram diminuição em seu crescimento, similar ao grupo com dieta NPC, o grupo SCCm apresentou uma redução menos significativa do desenvolvimento. Os parâmetros nutricionais de digestibilidade, NPU (“Utilização Protéica Final”), e valor biológico quando comparados com os do grupo EW, foram significativamente baixos para RCm; SRCm e CCm apresentaram valores baixos de NPU e valor biológico, mas boa digestibilidade. O grupo SCCm apresentou ótimos valores para todos os parâmetros. Os animais alimentados com a dieta contendo Cra apresentaram um bom crescimento, excelentes aspectos vitais e físicos, com boa digestibilidade e NPU e valor biológico, similares aos grupos da EW. Entretanto uma significativa hipertrofia em alguns órgãos foram observados, quando comparados aos mesmos órgãos dos animais alimentados à dieta EW. Estes resultados sugerem que a semente de *C. mollis* e Cra induziram alterações dos órgãos em ratos.

ABSTRACT

Camaratu bean (*Cratylia mollis*), a native plant from the Semi-Arid Region of Pernambuco, Brazil, is considered an excellent forage resource, and an alternative to obtain lectins. In this work the protein pattern and nutritional implications of *C. mollis* lectin was evaluated for a better characterization of the camaratu bean as a nutritional source. Diets with “egg-white”(Ew, positive control), raw (RCm) and cooked (CCm) *C. mollis* seed meals or supplemented (SRCm and SCCm) with L-methionine and L-tryptophan, as well as a diet containing purified *C. mollis* lectin (Cra) and a diet without protein (NPC), for 10 days as a period, for Wistar male rats weaned at 21 days of age. The main organs were dissected, weighted, and lyophilized to obtain the dry weight; carcasses were, also, dried. Dry weights were recorded before incorporating the organs with their original carcasses which were then grounded. The animals fed with RCm, SRCm and CCm showed low values of growth, similar to NPC group; SCCm group revealed a less significant reduction of development. The nutritional parameters of digestibility, NPU (“Net Protein Utilization”) and biologic value were significantly reduced to RCm; SRCm and CCm showed low NPU and biological value but good digestibility. The SCCm group presented good values to all parameters. Animal fed with Cra diet showed a good increase in animal weight, excellent vitality and physical aspects with good digestibility, NPU and biological values similar to EW group. However, a significant hypertrophy of some organs was observed when compared to of animals organs fed with EW diet. These results suggested that *C. mollis* seeds and Cra induced organ alterations in rats.

1- INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

A população mundial cresce em torno de 75 milhões ao ano e esta taxa de crescimento populacional, embora não seja desordenada, é considerada bastante elevada (Pinstrup-Anderson *et al.*, 1999). Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), a população mundial foi de 6,1 bilhões em 2001, devendo atingir a marca dos 7,2 bilhões em 2015 (Almanaque Abril, Mundo2002).

Este aumento populacional associado à escassez de recursos, faz com que a ciência busque de forma contínua alternativas para combater o déficit de suprimento e melhorar a distribuição de gêneros alimentícios (Campbell, 1997). A fome ainda é considerada um sério problema social, que vem se ampliando cada vez mais, principalmente nos países subdesenvolvidos. Segundo as estimativas, cerca de 800 milhões de pessoas em todo o mundo sofrem de fome e subnutrição (Pinstrup-Anderson *et al.*, 1999). De acordo com a ONU, o mundo produz uma vez e meia a quantidade de alimentos necessária para alimentar toda a população do planeta. Apesar disso, uma em cada sete pessoas passa fome e cerca de 6 milhões de crianças de até 5 anos morrem de desnutrição nos países em desenvolvimento. Dados do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), revelam que a renda de 53 milhões de brasileiros não é suficiente para cobrir suas despesas com alimentação (Almanaque Abril, Brasil 2002).

As proteínas de origem animal têm elevado valor biológico, porém têm custo de produção superior ao das proteínas vegetais (Bertrand, 1987; Beting, 1992; Messina, 1999), o que limita o seu consumo por populações de baixo poder aquisitivo.

Dentre os vegetais, os grãos de leguminosas vêm se destacando por

serem importantes fontes de proteína na dieta em muitas partes do mundo, devido ao seu alto teor protéico, além de serem uma relevante fonte de calorias por conterem carboidratos e lipídios. Em geral, nas sementes de leguminosas a concentração de lipídios pode variar de 1% a mais do que 40%, carboidratos até 60% e proteína de 15% a 50% dependendo da espécie (Boulter, 1980; Bressani e Elias, 1980; Friedman & Brandon, 2001).

A busca contínua por técnicas que aproveitem eficazmente as proteínas vegetais visa aumentar a produção e obtenção de proteínas comestíveis a partir de fontes convencionais e, também, de fontes alternativas (Campbell, 1997).

1.2 Valor Nutricional das Proteínas

O valor nutritivo dos alimentos depende da concentração e do balanço de nutrientes, biodisponibilidade destes e da presença ou não de componentes tóxicos e/ou antinutricionais (Sgarbieri, 1987). A principal função das proteínas na alimentação é fornecer o nitrogênio e os aminoácidos necessários para a síntese das proteínas corporais e outros compostos orgânicos nitrogenados. Por isso, o valor protéico de um alimento corresponde à sua capacidade em satisfazer às necessidades do indivíduo em nitrogênio e aminoácidos e isto depende da natureza e quantidade de aminoácidos que ele contém (FAO/WHO, 1985). Os aminoácidos considerados essenciais para humanos incluem histidina (somente para crianças), leucina, isoleucina, valina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina e triptofano. As proteínas que contêm todos os aminoácidos essenciais em quantidades suficientes e nas proporções corretas para manter o equilíbrio de nitrogênio e permitir o crescimento, são conhecidas como proteínas completas (Krause, 2002). As que apresentam deficiências de um ou mais aminoácidos essenciais, são ditas proteínas incompletas. O aminoácido que está em falta, ou em quantidade insuficiente na

proteína, é conhecido como “fator limitante”. A ingestão de uma proteína incompleta resulta em um baixo valor nutritivo, condicionado ao nível dos fatores limitantes. A situação oposta, ingestão em excesso de um ou mais aminoácidos essenciais, também pode resultar em prejuízo nutricional ou mesmo em sintomas de toxicidade (Lajolo *et al.*, 1989).

1.3 Avaliação Qualitativa das Proteínas

A qualidade nutricional de uma proteína está ligada à sua capacidade de satisfazer às necessidades orgânicas de crescimento e manutenção. Para a sua avaliação costuma-se recorrer a métodos químicos, biológicos e microbiológicos (Lajolo *et al.*, 1989).

Os métodos químicos baseiam-se na análise dos aminoácidos da proteína em estudo e na composição do perfil dos aminoácidos essenciais, obtidos de uma proteína de referência (Lajolo *et al.*, 1989). Como proteína de referência tem sido recomendada a proteína do ovo ou a “Proteína Provisional” da “Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação” (FAO), esta última é idealizada para representar uma proteína ideal ao atendimento dos requerimentos mínimos do homem (FAO/WHO, 1985). Dentre os métodos químicos de avaliação protéica o cômputo de aminoácidos proposto inicialmente por Block & Mitchel (1946) é bastante utilizado para estimar a qualidade protéica, com base em seu balanço de aminoácidos essenciais.

Os métodos biológicos avaliam o valor nutritivo de uma proteína, baseado na resposta de um organismo à ingestão de uma proteína em estudo (Lajolo *et al.*, 1989). Para isso, os seguintes métodos podem ser utilizados: PER (“Relação de Eficiência Protéica”), estabelecido por Osborne *et al.* (1919), que

consiste em avaliar o crescimento de animais jovens, alimentados por 4 semanas com uma proteína teste, e relacionar o ganho de peso com a proteína ingerida citados por (Tagle, 1981); NPR ("Retenção Protéica Final"), método original de Bender & Doell (1957), semelhante ao PER, porém a duração do experimento é de 10 dias e inclui um grupo adicional submetido a uma dieta aprotéica (Lajolo *et al.*, 1989); NPU ("Utilização Protéica Final"), método original de Miller & Bender (1955), consiste em medir a percentagem do nitrogênio da dieta ingerida e a que foi retida no organismo, sendo o nitrogênio retido determinado pelo teor de nitrogênio total da carcaça dos grupos de ratos mantidos com a proteína em estudo, em comparação com o nitrogênio da carcaça do grupo aprotéico. Outro parâmetro biológico é a digestibilidade, que é determinada através do nitrogênio total excretado nas fezes menos o nitrogênio endógeno de um grupo semelhante de animais mantidos em dieta aprotéica, pelo mesmo período experimental (Miller & Bender, 1955).

Ensaio microbiológicos são, também, utilizados para aferir o valor protéico, utilizando microorganismos que tenham os requerimentos em aminoácidos essenciais conhecidos e que estes valores sejam próximos aos estabelecidos para o homem (Pellet & Young, 1980; Cheftell, 1989).

1.4 Fatores Antinutricionais

O aumento no consumo de alimentos de origem vegetal, frente às proteínas animais, obriga ao incremento da produção vegetal como alternativa para suprir as necessidades protéicas da população crescente. Nos países em desenvolvimento, o consumo de proteínas de origem vegetal chega a 78,8%, tornando-se fonte principal ou, em alguns casos, fonte suplementar das proteínas da dieta (Singh & Singh, 1992). As leguminosas são amplamente consumidas pelo homem como fonte protéica (Kendall *et al.*, 1997; Wilson, 1998). Entretanto, o uso

de grãos de leguminosas e de outras fontes vegetais como alimento é limitado devido à presença de fatores tóxicos e/ou antinutricionais que, quando consumidos, podem causar resposta adversa para o homem e/ou animais (Liener, 1980; Salunkhe *et al.*, 1982; Oboh *et al.*, 1998).

A distinção entre proteínas tóxicas e antinutricionais é que as tóxicas agem de forma aguda produzindo lesões nos órgãos e tecidos e alterações fisiológicas diversas que podem, inclusive, causar a morte. Já as antinutricionais são consideradas aquelas que embora não causem alterações teciduais evidentes, atuam no sentido de diminuir a eficiência do metabolismo, interferindo na utilização dos nutrientes (Sgarbieri, 1996). Como exemplos de condições capazes de interferir no aproveitamento nutricional de um nutriente podem ser citados: deficiência em aminoácidos sulfurados: metionina e cistina (Evans & Boulter, 1974; Sgarbieri *et al.*, 1979, Sathe, 2002); presença de substâncias antinutritivas: lectinas e inibidores de proteases (Tobin & Carpenter, 1978; Nielsen, 1991, Grela *et al.*, 2001); presença de fatores tóxicos, provocando efeitos fisiológicos adversos: glicosídeos cianogênicos, aminoácidos não protéicos (Sgarbieri, 1987, Oliveira, 1994, Grela *et al.*, 2001); digestibilidade protéica baixa, limitando a biodisponibilidade de seus aminoácidos (Tobin & Carpenter, 1978; Nielsen, 1991, Friedman & Brandon, 2001).

1.4.1 Lectinas

Muitas espécies de plantas contêm proteínas que se ligam a carboidratos, melhores conhecidas como “lectinas”, “aglutininas” ou “hemaglutininas” (Peumans & van Damme *et al.*, 1998, Loris, 2002). O termo lectina (originado do latim “legere”, significa “selecionar”) foi proposto por Boyd & Shapleigh (1954), em virtude da habilidade de algumas proteínas se ligarem a carboidratos, aglutinando seletivamente eritrócitos de um grupo sanguíneo humano (Peumans & Van Damme, 1998).

Lectinas são proteínas ou glicoproteínas que possuem pelo menos um sítio de ligação a carboidratos ou derivados (aminoaçúcares, alquilaçúcares, desoxiaçúcares, etc.), sem apresentar função catalítica nem características estruturais imunológicas (Ghosh *et al.*, 1999), e que se ligam reversivelmente a mono ou oligossacarídeos específicos (Peumans & Van Damme, 1998). Nesta definição, as lectinas podem ser classificadas quanto à quantidade e natureza dos sítios ligantes em três subgrupos: **Merolectinas**, aquelas que apresentam apenas um grupo ligante para carboidrato, sendo pequenas, incapazes de aglutinar células, devido à natureza monovalente; **Hololectinas**, as que apresentam dois ou mais ligantes homólogos para carboidratos ou derivados e, portanto, são capazes de aglutinar células e precipitar glicoconjugados e **Quimerolectinas**, as que possuem sítios ligantes distintos, com especificidade para diferentes moléculas de açúcar (Grubhoffer *et al.*, 1997). A maioria das lectinas de plantas são hololectinas, comportando-se como hemaglutininas. Mais recentemente, Peumans & Van Damme (1998) sugeriram a introdução de mais uma classe de lectinas, as **Superlectinas**, um tipo especial das quimerolectinas. Elas seriam proteínas com dois sítios de ligação a carboidratos, estruturalmente diferentes, reconhecendo carboidratos distintos.

A especificidade sacarídica de uma lectina pode ser determinada através de ensaio de inibição da atividade hemaglutinante, fazendo uso de monossacarídeos simples ou carboidratos complexos e avaliando aquele que, mais efetivamente, inibe sua aglutinação por eritrócitos (Peumans & Van Damme, 1998). Os eritrócitos podem ser de sangue humano ou de outras espécies, tratados com enzimas proteolíticas e/ou substâncias químicas para aumentar a sensibilidade das células a lectina (Kabir, 1998; Coelho & Da Silva, 2000), ou não tratados (Mo *et al.*, 1994; Mo *et al.*, 2000; Gerlach *et al.*, 2002; Ng *et al.*, 2002).

As lectinas são classificadas nos grupos de reconhecimento da especificidade de acordo com o monossacarídeo e/ou oligossacarídeo que mais efetivamente inibe a aglutinação de eritrócitos (tabela 1); as famílias mais numerosas

Tabela1 - Classificação das lectinas em grupos de reconhecimento da especificidade

ESPECIFICIDADE	FONTE DA LECTINA
Grupo Fucose	
Fucose	<i>Ulex europaeus</i> ; <i>Canavalia ensiformis</i>
Grupo Galactose/N -acetilgalactosamina	
Galactose>>GalNAc	<i>Artocarpus integrifolia</i>
Gal=GalNAc	<i>Clerodendron trichotomum</i>
Gal<<GalNAc	<i>Glicine max</i>
Grupo N -acetilglicosamina	
GlcNAc	<i>Triticum aestivum</i>
(GlcNAc) _n	<i>Urtica dioica</i>
Grupo Manose	
Manose	<i>Galanthus nivalis</i>
Manose/glucose	<i>Canavalia ensiformis</i>
Manose/maltose	<i>Calystegia sepium</i>
Grupo Ácido Siálico	
Ácido siálico	<i>Triticum aestivum</i>
Neu5Ac α (2,6)Gal/GalNAc	<i>Sambucus nigra</i> ; <i>Maackia amurensis</i>
Grupo Glicanos Complexos	
Complexos- especificidade conhecida	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Complexos- especificidade desconhecida	<i>Euonymus europaeus</i>
Gal, galactose; GalNAc, N-acetilgalactosamina; GlcNAc, N-acetilglicosamina	

correspondem àquelas isoladas de legumes e as ligadoras de quitina (Peumans & Van Damme, 1998).

As lectinas estão amplamente distribuídas nas plantas, animais e microorganismos. Um grande número delas tem sido purificada de várias fontes, especialmente de sementes de legumes (Siddiqui *et al.*, 1995; Ozeki *et al.*, 1996; Ahmad *et al.*, 2001). Na família das leguminosas, as lectinas têm sido detectadas em mais de 600 espécies e variedades, tendo sido purificadas em aproximadamente 70 destas. Nas plantas ainda estão presentes em todos os tecidos vegetativos, como raízes, bulbos, tubérculos, rizomas, folhas, cascas e frutos (Kaku *et al.*, 1990; Koshte *et al.*, 1990; Diaz *et al.*, 1990; Yamashita *et al.*, 1992; Saito *et al.*, 1993; Yamaguchi *et al.*, 1996; Van Damme *et al.*, 2000; Naeem *et al.*, 2001; Sampietro *et al.*, 2001). As lectinas de leguminosas, principalmente as que são encontradas em sementes, têm se destacado por constituir até 15% da proteína total (Peumans & Van Damme, 1998).

As lectinas de diferentes fontes para serem purificadas, em geral, requerem inicialmente a preparação de extratos em soluções aquosas salinas (Paiva & Coelho, 1992; Coelho & Silva, 2000; Karasaki *et al.*, 2001). Alguns extratos com atividade lectínica são submetidos à purificação parcial por diversos métodos como: diálise exaustiva (Sage & Green, 1972) ou fracionamento salino, em especial, com sulfato de amônio (Correia & Coelho, 1995; Syed *et al.*, 1999; Coelho & Silva, 2000; Sampietro *et al.*, 2001) ou utilizando micelas invertidas (Oliveira *et al.*, 2002; Nascimento *et al.*, 2002). As lectinas, em sua maioria, são purificadas por cromatografia de afinidade, técnica que se baseia na habilidade das mesmas em se ligarem específica e reversivelmente a carboidratos (Kennedy *et al.*, 1995).

Mesmo depois de mais de um século de detecção de lectinas em plantas, e de inúmeros estudos bioquímicos, fisiológicos e moleculares, a função deste grupo particular de proteínas é ainda pouco conhecida (Peumans & Van Damme, 1995).

Vários papéis fisiológicos têm sido propostos para as lectinas de plantas (Goldstein & Poretz, 1986; Gatehouse *et al.*, 1995). Exemplos destes são: fixação de nitrogênio, inibição do crescimento de organismos patogênicos, e transporte de açúcares, de hormônios ou de glicoproteínas (Strosberg *et al.*, 1986). Em animais, evidências sugerem que as lectinas participam do mecanismo da endocitose e transporte vetorial intracelular de glicoproteínas, apoptose, defesa contra microorganismos, na regulação da migração e adesão celular, na ligação de bactérias às células epiteliais e, ainda que suas proteínas funcionem como um tipo de receptor (Ponchel & Irache, 1998; Yamashita *et al.*, 1999; Rudiger *et al.*, 2000). A propriedade de ligação das lectinas a carboidratos específicos pode ser considerada como fator determinante das diferentes funções propostas (Peumans & Van Damme, 1995). Portanto, o maior argumento que justifica o papel das lectinas vegetais na interação com outros organismos é o fato delas terem mais afinidade por oligossacarídeos não comuns, ou totalmente ausentes, em plantas. Assim, há evidências crescentes de que a maioria das lectinas tem um papel na defesa de plantas contra diferentes organismos que se alimentam de vegetais, inclusive o homem. Isto é justificado, principalmente pelo fato das lectinas se ligarem a glicoconjugados presentes na superfície de microorganismos (por exemplo, bactérias e fungos), ou expostos ao longo do trato intestinal de insetos e mamíferos herbívoros (Peumans & Van Damme, 1995).

O princípio de desencadeamento dos mecanismos de toxicidade provocados pela lectina envolve a presença de sítios de ligação a carboidratos, o que faz com que muitas lectinas se liguem à borda em escova do intestino delgado causando uma série de alterações metabólicas, e levando a uma redução do crescimento dos animais que as ingerem, podendo inclusive levar à morte (Bandwell *et al.*, 1983; Pusztai, 1985; Grant, 1989). A lectina isolada de sementes de *Phaseolus vulgaris* (PHA), por exemplo, liga-se à mucosa, causando desorganização da borda em escova onde induz um aumento do “turnover” celular, perda de peso, acompanhada de balanço nitrogenado negativo, diminuição no consumo de

alimentos, aumento da secreção mucosa, hipertrofia do intestino, pâncreas, fígado e atrofia do timo e dos músculos esqueléticos (Grant *et al.*, 1985; Pusztai, 1986; Oliveira & Sgarbieri, 1986; Oliveira *et al.*, 1988; Grant *et al.*, 1989; Moreira *et al.*, 1991). Alguns desses efeitos foram também observados em ratos alimentados com dietas contendo a lectina de sementes de *Canavalia brasiliensis* (Con Br), sendo notada também a diminuição da NPU e da digestibilidade, bem como a recuperação de significativa quantidade de lectina ativa nas fezes (Oliveira *et al.*, 1994).

Algumas lectinas são resistentes à proteólise pelas enzimas digestivas e são prejudiciais quando ofertadas oralmente, levando a um comprometimento do crescimento, bem como alterações de órgãos, particularmente o intestino delgado (Vasconcelos *et al.*, 2001). Já foi demonstrado que Con Br (Oliveira *et al.*, 1994), a lectina de sementes de *Canavalia ensiformis*, Con A (Pusztai *et al.*, 1988) e PHA (Bandwell *et al.*, 1983; Grant, 1989) são bastante resistentes à proteólise. A resistência às enzimas proteolíticas presentes no trato digestivo é a condição básica para a manifestação da atividade tóxica das lectinas. A primeira consequência da não digestão das lectinas presentes em determinadas sementes, seria a não disponibilidade de seus aminoácidos constitutivos, geralmente com baixa proporção de aminoácidos sulfurados. Nas fezes dos animais alimentados com estas proteínas foram encontrados níveis bastante elevados de lectina biologicamente ativa. A PHA, e a Con A foram recuperadas em mais de 90% nas fezes de ratos alimentados com dietas contendo essas duas lectinas (Pusztai, 1991).

Lectinas de plantas são particularmente resistente a temperaturas elevadas (Pusztai & Grant, 1998). Segundo Nachbar & Oppenheim (1980), cerca de 30% dos alimentos de origem vegetal *in natura*, e mesmo alimentos industrialmente processados, contêm lectinas ativas. Tratamento a 90° C por 1 hora ou 100° C por 10 minutos, foi necessário para eliminar a atividade lectínica (Armour *et al.*, 1998).

1.5 *Cratylia mollis*

Cratylia mollis Mart., conhecida popularmente como feijão camaratu ou camaratuba, é uma planta nativa, perene, oriunda da Região Semi-Árida do Estado Pernambucano; pertence a tribo Phaseoleae, subtribo Dioclineae. O Laboratório de Glicoproteínas do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco já purificou à homogeneidade quatro isoformas da lectina das sementes deste feijão (Figura 1), que estão atualmente sendo aplicadas (Paiva & Coelho, 1992; Correia & Coelho, 1995). Uma preparação rica nas isoformas 1 e 4 e a isoforma 1 têm sido estudadas em suas características físico-químicas e em diferentes aplicações biológicas (Tavares *et al.*, 1996; Lima *et al.*, 1997; Beltrão *et al.*, 1998; Baszkin *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2001; Nascimento *et al.*, 2002).



Figura 1: Sementes de *Cratylia mollis*

1.6 Relevância do Trabalho

Sementes de leguminosas são importantes fontes protéicas em dietas consumidas por populações carentes em países em desenvolvimento. Nas comunidades rurais do Nordeste, devido ao baixo poder aquisitivo e a baixa oferta de alimentos, os feijões são diariamente consumidos sendo, muitas vezes, a principal fonte de proteínas na alimentação. Apesar do grande número de grãos de legumes existentes, os mais comumente consumidos são: feijões comuns (*Phaseolus vulgaris*), feijão de soja (*Glycine max*) e cowpea (*Vigna unguiculata*). Recentemente, considerável interesse tem sido focalizado na utilização destes legumes relativamente negligenciados para alimentação humana e componentes alimentares de estoque para vida, contudo, a presença de fatores antinutricionais impede a utilização de sementes de leguminosas (Oboh *et al.*, 1998). O valor nutricional ou a qualidade de diferentes proteínas varia e, são governadas pela composição de aminoácidos, proporções dos aminoácidos essenciais, susceptibilidade à hidrólise durante a digestão, fonte protéica, e os efeitos de processamento (Friedman, 1991). Vale ressaltar que, prioridades têm sido dadas ao melhoramento de alimentos vegetais como leguminosas, cereais e tubérculos devido ao desequilíbrio entre o crescimento populacional e disponibilidade de alimentos (Pellet & Young, 1980), com o intuito de aumentar a quantidade e qualidade protéica.

O feijão camaratu merece atenção especial, por ser nativo e perene; considerado excelente recurso forrageiro por apresentar teores protéicos elevados e digestibilidade “in vitro” superior a outros materiais tradicionalmente usados na alimentação animal (dados não publicados). O conhecimento sobre a sua qualidade protéica e as implicações nutricionais da lectina de *C. mollis* torna-se importante, visando a sua melhor caracterização como uma alternativa fonte alimentícia humana.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar o valor protéico e implicações nutricionais da lectina de sementes de *Cratylia mollis* quando presente na dieta.

2.2 Objetivos Específicos

- Purificar a lectina de *C. mollis*;
- Verificar a interferência da lectina de *C. mollis* sob os seguintes parâmetros:
 - a) Peso corporal de ratos machos tipo *Wistar*, desmamados aos 21 dias através da ingestão diária de dietas contendo :
 - “Egg-White” – 10% de proteína bruta contendo egg-white
 - NPC – dieta isenta de proteína
 - Farinha crua e cozida não suplementada com metionina e triptofano, sendo 10% de proteína constituída pela farinha de sementes de *Cratylia mollis*
 - Farinha crua e cozida suplementada com metionina e triptofano, sendo 10% de proteína constituída pela farinha de sementes de *Cratylia mollis*
 - Lectina – contendo 8% de proteína na forma de EW e 2% na forma da lectina purificada de *C. mollis* liofilizada
 - b) Utilização protéica final (NPU) e de dosagem de nitrogênio corpóreo;
 - c) Diferença de peso dos órgãos internos (estômago, intestinos delgado e grosso, timo, rins, coração, pulmão, pâncreas e baço).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, S., ANWAR, A., SALEEMUDDIN, M. Immobilization and stabilization of invertase on *Cajanus cajan* lectin support. **Bioresource Technology** 2001;79:121-7.

ALMANAQUE ABRIL. Brasil 2002. São Paulo: Ed. Abril, 2002. p. 135.

ALMANAQUE ABRIL. Mundo 2002. São Paulo: Ed. Abril, 2002. p. 73-82.

ARMOUR, J.C., CHANAKA PERERA, R.L., BUCHAN, W.C., GRANT, G. Protease inhibitors and lectins in soya bean and effects of aqueous heat-treatment. **Journal of Science of Food and Agriculture**, 78, 225-231, 1998.

BANDWELL, J. G., BOLDT, D. H., MEYERS, J., WEBER Jr., F. L. Phytohemagglutinin derived from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*): a cause for intestinal malabsorption associated with bacterial overgrowth in the rat. **Gastroenterology**, v.84, p. 506-515, 1983.

BELTRÃO, E.I.C., CORREIA, M.T.S., FIGUEREDO-SILVA, J., COELHO, L.C.B.B. Binding evaluation of isoform 1 from *Cratylia mollis* lectin to human mammary tissues. **Application Biochemistry Biotechnology**. 1998; 74:125-34.

BENDER, A E., DOELL, B. H. Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. **The British Journal of Nutrition**. V. 11, p. 138-143, 1957 apud PELLET & YOUNG, 1980.

BERTRAND, J. P. **O Mundo da Soja**. São PAULO, hucitec, Ed. Da Universidade de São Paulo, 1987. 139p.

BETING, J. **A Vocação do Brasil para a Produção de Alimentos**. Campinas : Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1992. 14 p.

BLOCK, R. J., MITCHELL, H. H. The Correlation of the Amino- acid Composition of Proteins with their Nutritive Value. **Nutrition Abstracts and Reviews**, Farham Royal Slough, n. 16, v. 2, p. 249-278, 1946.

BOULTER, D. Ontogeny and development of biochemical and nutritional attributes in legumes seeds. In: SUMMERFIELD, R. J., BUNTING, A. H. (ed.) **Advances in legume science**. London: Royal Botanical Gardens, 1980, v.1, sec. 3, p. 127-134.

BOYD, W.C., SHAPLEIGH, E. Specific precipitating activity of plant agglutinins. **Science**, v. 119, p. 419-20, 1954.

BRESSANI, R., ELIAS, L.G. Nutritional value of legumes crops for humans and animals. In: SUMMERFIELD, R. J., BUNTING, A. H. (ed.). **Advances in legume science**. London. Royal Botanical Gardens, 1980. v. 1, sec. 3, p. 135-155.

CAMPBELL, L. H. Transgenics plants in agricultural. **The Joint Nature Conservation Committee**. England, 1997. p. 227.

CHEFTEL, J. C., CUQ, J. L., LORIENT, D. **Proteínas Alimentarias**. Zaragoza: Acribia, 1989. 354p.

COELHO, L. C. B. B. and SILVA, M. B. R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose – specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. **Phytochemical analysis**. v. 11, p. 1-6, 2000.

CORREIA, M. T. S., COELHO, L. C. B. B. Purification of glucose/mannose specific Lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). **Applied Biochemistry on Biotechnology**, v. 55, n. 3, p. 261-273, 1995.

DIAZ, C. L., HOSSELET, M., LOGMAN, G.J.J., VAN DRIESSE, E., LUGTENBERG, B. J. J., KIJNE, J.W. Distribution of glucose/mannose – specific isolectins in pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. **Planta**, v. 181, p. 451-461, 1990.

EVANS, M. I. BOULTER, D. Amino acid Composition of Seed Meals of Yam Bean (*Sphenostylis stenocarpa*) and Lima Bean (*Phaseolus lunatus*). **Journal of The Science of Food and Agriculture, London**, v. 25, p. 919-922, 1974.

FAO/WHO. **Protein Quality Evaluation**. Food and Agricultural Organization of the United Nations: Rome, Italy, p. 66, 1991.

FAO/WHO/ UNU. Energy and protein requirements. Report of a joint FAO/WHO/UNU. **Technical Report Series 724**. Geneva: who, 1985.

FRIEDMAN, M., BRANDON, D. L. Nutritional and Health Benefits of soy proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1069-1086, 2001.

FRIEDMAN, M., BRANDON, D.L., BATES, A.H., HYMOWITZ, T. Comparison of a commercial soybean cultivar and an isolate lacking the Kunitz trypsin inhibitor: composition, nutritional value, and effects of heating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, p. 327-335, 1991.

GATEHOUSE, A. M. R., POWELL, K. S., PEUMANS, W. J., VAN DAMME, E. J. M., GATEHOUSE, J. A. Insecticidal properties of plant lectins: their potential in plant protection. In PUSZTAI, A., BARDOZ, S. (ed.) **Lectins biomedical perspectives**. London: Taylor & Francis Ltda. 1995, cap. 3, p. 35-57.

GERLACH, D., WAGNER, M., SCHLOTT, B., ZÄHRINGER, U., SCHMIDT, KH. Chemical and physicochemical characterization of the sialic acid-specific lectin from *Cepaea hortensis*. **Microbiology Letters**. 10579, p. 1-8, 2002.

GHOSH, S., MANJUMDER, M., MANJUMDER, S., GANGULY, N., CHATTERJEE, B. P. Saracin: A lectin from *Saraca indica* seeds integument induces apoptosis in human T-lymphocytes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 371, n. 2, Nov. 15, p. 163-68, 1999.

GOLDSTEIN, I. J. PORETZ, R. D. Isolation, physicochemical characterization, and carbohydrate – binding specificity of lectins. In: LIENER, I. E., SHARON, N., GOLDSTEIN, J. (ed). **The lectins: properties, functions, and applications in biology and medicine**. New York: Academic press. 1986, p-35-244.

GRANT, G. Anti-nutritional effects of dietary lectins. **Aspects of Applied Biology**, v. 19, p. 51-74, 1989.

GRANT, G., GREER, F., MCKENZIE, N. H., PUSZTAI, A. Nutritional response of mature rats to kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) lectins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.36, p. 409-414, 1985.

GRELA, E. R., STUDZIŃSKI, T., MATRAS, J. Antinutritional factors in seeds of *Lathyrus sativus* cultivated in Poland. **Lathyrus Lathyrism Newsletter**. V. 2, p. 101-104, 2001.

GRUBHOFFER, L, HYPSE, V. and VOLF, P. Lectins (hemagglutinins) in the gut of the important disease vectors. **Parasite**, v. 4, p. 203-216, 1997.

KABIR, S. and DAAR, A. S. The composition and properties of jacalin, a lectin of diverse applications obtained from the jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed. **Immunological Investigation**, v. 23, p. 167-188, 1994.

KABIR, S. Jacalin: a jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed-derived lectin of versatile applications in immunobiological research. **Journal of Immunological Methods**, v. 212, p. 193 – 211, 1998.

KAKU, H, PEUMANS, W. J. and GOLDSTEIN, I. J. Isolatron and characterization of a Secon Lectin (SNA-II) Present in Elderbery (*Sambucus migra L.*) Bark. **Archive of Biochemistry and Biophysics** 277: 255-62, 1990.

KARASAKI, Y., TSUKAMOTO, S., MIZUSAKI, K., SUGIURA, T., GOTOH, S. A garlic lectin exerted an antitumour activity and induced apoptosis in human tumor cells. **Food Research International**. 2001; 34: 7-13.

KENDALL, H. W., BEACHY, R., EISNER, T., GOULD, F., HERDT, R., RAVEN, P. H., SCHELL, J. S., SWAMINATHAN, M. S. World Food Supplies. In: _____. **Bioengineering of crops. Report of the world Bank Panel on transgenic crops**. Washington: The World Bank, 1997. Cap. 1, p. 3-10.

KENNEDY, J.F., PAIVA, P.M.G., CORELIA, M.T.S., CAVALCANTI, M.S.M., COELHO, L.C.B.B. Lectins, versatile proteins of recognition: review. **Carbohydrate Polymers** , 26, p. 219-230, 1995.

KOSHTE, V. L., VAN DIJK, N., VAN DER STELT, M. E. and AALBERSE, R. C. Isolation and Characterization of Banlee-i, a mannoside-binding Lectin from *Musa paradisiaca* (banana). **Biochemistry Journal**. 272: 721-6, 1990.

KRAUSE, M. V., MAHAN, L. K. Macronutrientes: Carboidratos, Proteínas e Lipídios. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. P. 30-64, 2002.

LAJOLO, F. M., SANTOS, A C., WILSON, E. D. Proteínas e aminoácidos. In: Oliveira, J. E. D. de, SANTOS, A C., WILSON, E. D. **Nutrição básica**. São Paulo: Sarvier, 1989. Cap. 4, p. 29-61.

LIENER, I. E. Heat-labile antinutritional factors. In: SUMMERFIELD, R. J., BUNTING, A H. (ed.). **Advances in legumes science**. London: Royal Botanical Gardens, 1980. V. 1. Sec. 3, p. 157-170.

LIMA, V.L.M., CORREIA, M.T.S., CECHINEL, Y.M.N., SAMPAIO, C.A.M., OWEN, J., COELHO, L.C.B.B. Immobilized *Cratylia mollis* lectin as a potential matrix to isolate plasma glycoproteins, including lecithin-cholesterol acyltransferase. **Carbohydrate Polymers** 1997; 33: 27-32.

LIS, H and SHARON, N. Lectins in higher plants in the biochemistry of plants; a comprehensive treatise Proteins and nucleic acids (Marcus. A; ed), **Ed. Academic Press**, New York, v. 6, p. 371-447, 1981.

LORIS, R. Principles of structures of animal and plant lectins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 25366, p. 1-13, 2002.

MESSINA, M. J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 439-500, 1999.

MILLER, D. S., BENDER, A. E. The determination of the net utilization of protein by a shortened method. **British Journal of Nutrition**. v. 9, p. 382-388, 1955.

MO, H., WINTER, H. C., GOLDSTEIN, I. J. Purification and characterization of a Neu5Acalpha2-6Galbeta1-4Glc/GlcNAc-specific lectin from the fruiting body of the polypore mushroom *Polyporus squamosus*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, p. 10623-29, 2000.

MO, H.; WINTER, H.C.; GOLDSTEIN, I.J. Purification and characterization of a Neu5Acalpha2-6Galbeta1-4Glc/GlcNAc-specific lectin from *Dutch iris bulbs* which recognizes the blood group A disaccharide (GalNAcalpha1-3Gal). **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, p. 7666-73, 1994.

MOREIRA, R. A , CAVADA, B. S., OLIVEIRA, J. T. A , AINOUIZ, I. L. Plant lectins. In: OLIVEIRA, B., SGARBIERI, V. (eds.), **Proceedings of the first Brazilian congress on proteins**, p. 71-96, São Paulo, 1991.

NACHBAR, M. S., OPPENHEIM, J. D. Lectins in the United States diet: A survey of lectins in commonly consumed foods and a review of literature. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 33, p. 2338-2345, 1980.

NAEEM, A, KHAN, R.H., VIKRAM, H., AKIF, M. Purification of *Cajanus cajan* root lectin and its interaction with rhizobial lipopolysaccharide as studied by different spectroscopic techniques. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 2001: 396: 99-105.

NASCIMENTO, C.O., COELHO, L.C.B.B., CORREIA, M.T.S., CARNEIRO-DA-CUNHA, M.G. Liquid-liquid extraction of lectin from *Cratylia mollis* seeds using reversed micelles. **Biotechnology Letters** 2002; 24: 905-7.

NG, T. B., YU. L., CHU, K. I. Isolation of a novel legumin-like lectin with potent hemagglutinating activity from seeds of the Chinese chesnut *Castanea mollissima*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 133, p. 453-460, 2002.

NIELSEN, S. S. Digestibility of legume proteins. **Food Technology**, Chigaco, v. 45, n. 9, p. 112-118, 1991.

OBOH, H. A., MUZQUIZ, M., BURBANO, C., CUADRADO, C., PEDROSA, M. M., AYET, G., OSAGIE, A. V. Antinutritional constituents of six underutilized legumes grow in Nigeria. **Journal of Chromatography A**. v. 823, p. 307-312, 1998.

OLIVEIRA, A C., SGARBIERI, V. C. Effect of diets containing dry beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) on the rat excretion of endogenous nitrogen. **Journal of Nutrition**, v. 116, p. 2387-2392, 1986.

OLIVEIRA, J. T. A., MELO, V. M. M., CÂMARA, M. F. L., VASCONCELOS, I. M., BELTRAMINI, L. M., MACHADO, ° L. T., GOMES, V. M., PEREIRA, S. P., FERNANDES, C. F., NUNES, E. P., CAPISTRANO, G. G. G., MONTEIRO-MOREIRA, A. C. O. Purification and physicochemical characterization of a cotyledonary lectin from *Luetzelbugia auriculate*. **Phytochemistry**. V.61, p. 301-310, 2002.

OLIVEIRA, J. T. A , PUSZTAI, A , GRANT, G. Changes in organs and tissues induced by feeding of purified kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) lectins. **Nutrition Research**. v.8, p. 943-947, 1988.

OLIVEIRA, J. T. A , VASCONCELOS, I. M., GONDIM, M. J. L., CAVADA, B. S., MOREIRA, R. A , SANTOS, C. F., MOREIRA, L. I. M. *Canavalia brasiliensis* seeds. Protein quality and nutritional implications of dietary lectin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 64, p. 417-424, 1994.

OSBORNE, T. B., MENDEL, L. B., FERRY, E. L. A method of expressing numerically the growth promoting value of proteins. **Journal of Biological Chemistry**. V. 37, p. 223-229, 1919 apud PELLET & YOUNG, 1980.

OZEKI, M., KAMEMURA, K., MORIYAMA, K. ITOH, Y., FURUICHI, Y., UMEKAWA, H., TAKAMASHI, T. Purification and characterization of a lectin from *Amaranthus hypochondriacus* var. México seeds. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v. 60(12), p. 2048-2051, 1996.

PAIVA, P. M. G. e COELHO, L. C. B. B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart (Camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 36, p. 113-17, 1992.

PELLET, P. L., YOUNG, V. R. **Nutritional evaluation of protein foods**. Tokyo: The United Nations University, 1980, 138p.

PELLETT, L.P., YOUNG, U.R. Evaluation of protein quality in experimental animals. In: **Nutricional evaluation of protein foods**. Tokio: The United Nations University, 1980. cap. 4, p. 41-55.

PEUMANS, W. J., VAN DAMME, E. J. M. Plant lectins: versatile proteins with important perspectives in biotechnology. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 15, p. 199-228, 1998.

PEUMANS, W.J., VAN DAMME, J.M.E. Lectins as plant defense proteins. **Plant Physiology**. Belgium, n. 109, p. 347-352, 1995.

PINSTRUP-ANDERSON, M., PINTO, Y. M., SCOTT, S.E. World foodprospects: critical issues for the early 21st century. In: _____. **International Food Policy Research Institute** . Washington DC, USA, 1999. p. 234-237.

PONCHEL, G., IRACHE, J. M. Specific and non-specific bioadhesive particulate systems for oral delivery to the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 34, p. 191-219, 1998.

PUSZTAI, A , EWEN, S. W. B., GRANT, G., PEUMANS, W. J., VAN DAMME, E. J. M., RUBIO, L. A , BARDOCZ, S. Plant (food) lectins as signal molecules: effects on the morphology and bacterial ecology of the small intestine. **Lectin Reviews**, v. 1, p. 1-15, 1991.

PUSZTAI, A , GRANT, G., BROWN, D. S., EWEN, S. W. B., BARDOCZ, S. *Phaseolus vulgaris* lectin induces growth and incre ase polyamine content of rat small intestine *in vivo*. **Medical Science Research**, v. 16, p. 1283-1284, 1988.

PUSZTAI, A Constraints on the nutritional utilization of plant proteins. **Nutrition Abstracts and Reviews**, v. 55, n.7, p. 363-369, 1985.

PUSZTAI, A The biological effects of lectins in the diet of animals and man. **Lectins**, vol. V, p. 317-327, 1986.

RUDIGER, H., SIEBERT, H. C., SOLIS, D., JIMENEZ-BARBERO, J., ROMERO, A., VON DER LIETH, C. W., DIAZ-MARINO, T e GABIUS, H. J. Medicinal chemistry based on the sugar code: fundamentals of lectinology and experimental strategies with lectins as targets. **Current Medical Chemistry**, v. 7, p. 389-416, 2000.

SAGE, H. J. and GREEN, R. W. Commoln lentil (*Lens culinaris*) phytohemagglutinin. **Methods in Enzimology**, v. 28, p. 332-339, 1972.

SAITO, K., KOMAE, A., KATUTA, M., VAN DAMME, E. J. M., PEUMANS, W. J., GOLDESTEN, I. J. and MASAKI, A. The 2 – mannosyl-bindin Lectin from Leaves of Orchid Twayblade (*Listera ovata*). Application to Separation of 2-D-mannans from 2-D-glucans. **Europe Journal Biochemistry**. 217: 677-81, 1993.

SALUNKHE, D. K., SATHE, S. K., REDDY, N. R. Legumes lipid. In: ARORA, S. K. (ed.). **Chemistry and biochemistry of legumes**. New Delhi. Oxford & IBM Publissing Co. 1982. P. 51-107.

SAMPIETRO, A. R., ISLA, M. A. QUIROGA, E. N., VATTUONE, M. A. An N-acetylglucosamine oligomer binding agglutinin (lectin) from ripe *Cyphomandra betacea* Sendt. Fruits. **Plant Science** . 160:659-67, 2001.

SATHE, S. K. Dry bean protein functionality. **Critical Reviews in Biotechnology**. V. 22. P. 175-223, 2002.

SGARBIERI, V. C. Conceitos básicos em alimentação e nutrição. In: **Alimentação e nutrição – fator de saúde e desenvolvimento** . São Paulo: Almed, 1987, cap. 1, p. 19-28.

SGARBIERI, V. C. Fontes de proteínas na alimentação. In: _____. **Proteínas em Alimentos Protéicos**. Propriedades – Degradações – Modificações. São Paulo: Livraria Varela Ltda., 1996. Cap. 2, p. 139-257.

SGARBIERI, V. C., ANTUNES, P. L., ALMEIDA, L. D. Nutritional evaluation of four varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) **Journal of Food Science**, Chicago, v. 44, n. 4, p. 1306-1308, 1979.

SGARBIERI, V. C., CLARK, M. W., PUSZTAI, A. Proteolytic breakdown of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). **Storage Food Agriculture**. V. 33, p. 881-891. 1982.

SIDDIQUI, S. HASAN, S., SALAHU DDIN, A. Isolation and characterization of Cajanun cajan lectin. **Archives Biochemistry and Biophysics**, v. 319, p. 426-431, 1995.

SING, U., SINGH, B. Tropical grain legumes as important human foods. **Economic Botany**. New York, v. 46, n. 3, p. 310-321, 1992.

SOUZA, S.R., CORREIA, M.T.S., PESSOA, M.M.A., KENNEDY, J.F., LIMA-FILHO, J.L., COELHO, L.C.B.B. A novel model to characterize the double electric layer of lectin from *Cratylia mollis* (amaranth bean) and *Canavalia ensiformis* in metallic surface. **Carbohydrate Polymers** 2001; 46: 191-3.

STROSBERG, A., D., BUFFARD, D., LAUWEREYS, M., FORJES, A. Legume lectins: a large family of homologues. In: LIENER, I. E., SHARON, N., GOLDSTEIN, J. (ed.). **The lectins: properties, functions, and applications in biology and medicine**. New York: Academic press. 1986, cap. 3, p. 251-263.

SYED, F.B.F., JOSHI , B.N., SIVARAMAN, H., KHIRE, J. M. and KHAN, M.I. Purification and characterization of a cell-surface lectin (lectin II) from *Agrobacterium radiobacter* NCIM 2443. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 47, n. 3, p. 361-367, 1999.

TAGLE, M.A. Proteína: qualidade química e biológica. In: **Nutrição**. São Paulo: Artes Médicas, 1981. cap. 4, p.49-64.

TAVARES, G. A., CARACELLI, I., BURGER, R., CORREIA, M.T.S., COELHO, L.C.B.B., OLIVA, G. Crystallization and preliminary X-ray studies on the lectin from the seeds of *Cratylia mollis*. **Acta Crystallographica**. 1996; D52:1046-7.

TOBIN, G., CARPENTER, R. J. The nutritional value of the dry beans (*Phaseolus vulgaris*): a literature review. **Nutrition Abstracts and Reviews – serie A human and experimental**, Farham Royal Slough, v. 48, n. 11, p. 919– 936, 1978.

VAN DAMME, E. J. M., ASTOUL, C. H., BARRE, A., ROUGE, P., PEUMANS, W. J. Cloning and characterization of a monocot mannose-binding lectin from *Crocus vernus* (family Iridaceae). **European Journal of Biochemistry**, v. 267, p. 5067-5077, 2000.

VASCONCELOS, I. M., MAIA, A. A. B., SIEBRA, E. A., OLIVEIRA, J. T. A., CARVALHO, A. F. F. U., MELO, V. M. M., CARLINI, C. R., CASTELAR, L. I. Nutritional study of two brazilian soybeans (*Glycine max*) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 2, p. 55-62, 2001.

WILSON, E. O. **Biodiversity**. National Academy of Sciences, Washington, 1998.

YAMAGUCHI, K. I., MORI, A., FUNATSU, G. Amino acid sequence and some properties of lectin-D from the roots of pokeweed (*Phytolacca americana*).

Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, v. 60, p. 1380-1382, 1996.

YAMASHITA, K., HARA-KUGE, S., OHKURA, T. Intracellular lectins associated with N-linked glycoprotein traffic. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1473, p. 147-60, 1999.

YAMASHITA, K., OHKURA, T., UMETSU, K., SUZUKI, T. Purification and Characterization of a Fuc 21 → 2Galβ1 → and Gal Nac β1 → Specific Lectin in Root Tubes of *Trichosanthes japonica*. **Journal Biology Chemistry**. 267: 25414-22, 1992.

**4- Artigo a ser submetido ao periódico THE JOURNAL OF NUTRITIONAL
BIOCHEMISTRY**

***Cratylia mollis* SEEDS: PROTEIN QUALITY AND NUTRITIONAL
IMPLICATIONS OF DIETARY LECTIN**

**Ana C. Oliveira, Ricristhi A. Gonçalves, Fernanda M.M. Maia, Ana C.O. Santos,
Luana C.B.B. Coelho, Ilka M. Vasconcelos, Maria T.S. Correia.**

***Cratylia mollis* seeds: protein quality and nutritional implications of dietary lectin**

Ana C. Oliveira,¹ Ricristhi A. Gonçalves,² Fernanda M.M. Maia,² Ana C.O. Santos,³ Luana C.B.B. Coelho,¹ Ilka M. Vasconcelos,² Maria T.S. Correia^{1,*}

¹ Departamento de Bioquímica, CBB/UFPE, Av. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, Recife -PE, 50670-420, Brazil.

² Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, PO Box 6020, Campus do Pici, 60451-970, Fortaleza, Ceará, Brazil.

³ Departamento de Ciências Fisiológicas – ICB - UPE

Abstract: This study reports on the performance of rats fed with diets based on *Cratylia mollis* seed proteins. Feeding rats with different meals from *C. mollis* seeds (supplemented or not raw meal or cooked meal not supplemented), causing lost weight to the animals while the animals fed with supplemented cooked meal maintained the weight. The group that received meal containing pure *C. mollis* lectin (Cra) showed similar development to the group that was fed with control diet (egg-white). The same results were obtained in relation to nutritional parameters: supplemented cooked meal showed good results to digestibility, NPU and biological value; Cra diet resulted in egg-white similar values. Some organs showed hypertrophy when fed with the experimental diets (*C. mollis* seed meals and Cra diets). It was suggested that the *C. mollis* seed meals have antinutritive factors, however supplemented cooked meal and the Cra diet showed good values to nutritional parameters.

Keywords: *Cratylia mollis*, seed protein, protein quality, lectin, nutritional parameters

*Corresponding author. Fax: 55.81.3271-8576

E-mail address: mcorreia@ufpe.br (M.T.S. Correia)

1 Introduction

Lectins were originally defined as agglutinins which could discriminate among types of red blood cells. They have been found in viruses, microorganisms, animals, and plants, but despite their ubiquity, their function in nature is unclear. They represent a heterogeneous group of oligomeric proteins that vary widely in size, structure, molecular organization, as well as in the constitution of their combining sites [1]. Lectins are proteins possessing at least one non-catalytic domain, which binds reversibly to a specific mono or oligosaccharide [2]. The definition comprises a broad range of proteins with different agglutination and/or glycoconjugate precipitation properties. On the basis of overall structure of primary translation products, mature plant lectins are subdivided in merolectins, hololectins, chimerolectins, and superlectins [2].

Seed legumes are an important source of proteins, carbohydrates, dietary fiber, or certain minerals and vitamins in the human food supply. These species can contain 15 to 25% protein in a dry weight basis [3]. However, some legumes contain a large number of antinutritional substances such as amino acids, glycosinolates, alkaloids polyphenols, saponines, protease inhibitors, allergens and lectins, that can possibly alter the body metabolism of consumers [4]. Many plants food contain proteins that are usually referred to as lectins on the basis of their specific carbohydrate binding properties. Some of these lectins protect plants against predatory invertebrates and higher animals, and they may also be harmful to humans [5].

Cratylia mollis (camaratu bean) is a native forage of Northeast, Brazil. Lectin isoforms were obtained from *C. mollis* seeds [6,7]. Structural studies and applications of Cra lectin have been performed [8,9,10,11,12].

This study presented the use of *C. mollis* seeds as a source of protein for monogastric animals (rats) and an approach to analyse its nutritional quality. Additionally, purified seed lectin was included into a diet and its antinutritional effects are discussed.

2 Materials and Methods

2.1- Materials

C. mollis seeds were obtained from plants that grow widely in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. Casein was purchased from Merck and egg white from Sigma Chemical Co. All the other chemicals used were of analytical grade. The bean samples used for the preparation of the diets were ground in a coffee grinder. Cooked bean samples were prepared by heating at 100⁰ C for 60 min (556 g of seeds in 800 ml of distilled water). This condition was sufficient to abolish the haemagglutinating activity. Cooked seeds were lyophilised and grounded. Purified lectin was obtained by affinity chromatography on a Sephadex G-75 column (Cra) as described earlier [7].

2.2 Diets

Diets were prepared to contain 100 g of protein kg⁻¹ diet (Table 1) as casein, or egg-white (EW), or *C. mollis* seed meals, raw (RCm) and cooked (CCm). RCm and CCm were also supplemented (SRCm and SCCm) with L-tryptophan and L-methionine based on the amino acid contents of the raw seeds, to bring the amino acid content to the target requirements for rats [13]. Cra was incorporated at level of 20 g protein/kg diet, similar to the amount in the mature seeds, and total protein content adjusted by addition of 80 g egg-white protein kg⁻¹ diet. A diet containing no protein (NPC) was fed as a control.

2.3 Feeding trials

Wistar male rats were weaned at 21 days of age and given a commercial stock diet until their weights reached 69–70 g. They were fed casein diet *ad libitum* for 3 days as a period of adaptation to pulverized diets and were selected according to food consumption and body weight. The animals were divided into 6 groups of six rats and one group of three rats (purified lectin), housed individually in screen-bottomed cages and fed control (EW), NPC or experimental diets (Table 1) for 10 days. Feed and water were supplied *ad libitum*. Rat weights, diet spillage and refused diet were recorded daily. Feces were collected during the last 5 days of the experimental period, bulked, freeze-dried, weighed and grounded in a coffee grinder. At the end of the trial the rats were killed by ether overdose and the internal organs

dissected. These were then freeze-dried while the carcasses were dried in a oven at 100°C for 24 h. Dry weights were recorded before incorporating the organs with their original carcasses which were then grounded and kept in a desiccator for appropriate analyses.

2.4 Chemical analysis

Diets, carcasses and ground fecal samples were analyzed for moisture content [14] and total nitrogen [15]. The data were used to calculate apparent protein digestibility and net protein utilization (NPU) based on the method described by [16]. All the results were calculated for each rat and the mean calculated within a group.

2.5. Statistical analysis

The results were subjected to a one-way analysis of variance and the significance between means determined by Tuckey's.

3. Results

3.1 Nutritional parameters

The analysis of nutritional parameters (Figure 1 and Table 2) revealed that experimental diets induced a little growing when compared to EW; the diet increased

with the lectin showed a result similar to control diet (EW). The growing curves of the rats fed with Cra diet was better than the group that receive SCCm. Animals fed with EW and Cra meals presented gain of weight corresponded to 54,84% and 67,86%, respectively. Groups fed with RCm, SRCm, CCm, SCCm and NPC meals showed weight reduction of -20,56%, -14,26%, -19,01%, -4,89% and -16,96%, respectively (Table 2). Diary feed consume of experimental and control groups (Figure 2) revealed that the best *C. mollis* seed meal was SCCm; the others were consumed in similar quantities of NPC, without statistical differences. The group fed with Cra meal ingested higher quantities than EW meal.

3.2 Biological Assay

The best results of NPU and digestibility were obtained with SCCm and Cra (Table 2) and in spite of to be smaller than control diet (EW) they are considered satisfactory. CCm and SRCm were significantly smaller than EW; RCm showed negative NPU and low digestibility.

The quantities of feeding and nitrogen intake by the control and Cra group were significantly different from the other experimental groups (Figure 3 and Table 3). SCCm group showed the best results when the diet and nitrogen intakes of experimental groups (RCm, SRCm, CCm and SCCm) were compared. The experimental groups had fecal nitrogen (absolute values) and output higher than control group (Figure 3). In relation to fecal nitrogen output, Cra group showed a higher value than control. The groups fed with *C. mollis* seed meals showed a

significant and elevated quantity of excreted nitrogen in relation to intake diet from EW and Cra groups.

3.3 Internal organs alterations

Table 4 shows the relative dry weights from animal organs submitted to the different feeding conditions. The analysis was based on parameters of dry weight from control diet. In a general way, groups fed with *C. mollis* meals showed hypertrophy of stomach, intestine, caecum plus colon, liver, heart, lung and kidney. The alterations observed to Cra group was an expressive hypertrophy of pancreas, stomach, intestine, liver, heart, lung and kidney. The animals fed with NPC showed divergent results in some organ weights when compared to EW diet.

4 Discussion

Dry beans are an important source of calories and proteins in Latin American countries and India [17]. However bean seeds proteins have a low nutritive value due to limiting amounts of sulfur amino acids, low digestibility, low bioavailability of essential amino acids, the presence of toxic and antinutritive factors, and the interference with digestion and absorption of nutrients by non-protein substances [18]. Considerable interest has been aroused on the utilization of these relatively neglected legume sources for human food [19].

C. mollis as a whole is a perennial forage from the Semi-Arid Region of the State of Pernambuco. *C. mollis* seeds have high protein values (42% of nitrogen); the knowledge about the protein quality and the nutritional implications of seed and Cra would be of most importance to characterize the beans as an alternative source of protein in human nutrition.

RCm e SRCm behaved similarly to NPC, an indication of seed antinutritional factors. The reduction of the proteins digestibility in leguminous seeds, can be related by the fact of vegetable proteins showed lower digestibility than animal proteins [20, 21, 22, 23]. Antinutritional factors, very common in many leguminous, just as tanine and trypsin inhibitor, as well as lectins, are resistant to *in vitro* digestibility through digestive enzymes [24, 25]. Dietary trypsin inhibitors are said to be responsible for the poor digestibility of proteins by interference with the proper function of trypsin leading to growth inhibition and pancreatic hypertrophy[26]. Lectins and trypsin inhibitors are considered important antinutritional factors in seeds; others proteins may also contributed either directly or synergistically to promote adverse effects after feeding [27]. The total contribution of proteases inhibitors to diminish nutritional performance of animals fed with soybean diet was low; other factors should be involved to damage animal development [28]. Protein components such as toxins and urease present in soybean, also contributed to induce harmful effects observed in rats fed with raw seed meals [4]. Similar results were obtained for rats fed with diets containing meals from seeds of the same tribe Diocleinae such as *Dioclea grandiflora*, *Dioclea sclerocarpa* [29] and *Canavalia brasiliensis* [30].

In relation to digestibility and NPU, SCCm gave better results than CCm, however still significantly inferior to EW diet. Fecal output level and fecal nitrogen were higher than control diet, possibly due to the low digestibility of nitrogen components of the experimental meals. The reduction of digestion and absorption of proteins from SCCm meals should be related to the presence of other antinutritional factors which induced an increase of fecal nitrogen concentration. The relation between quantity of nitrogen output and nitrogen intake by SCCm diet allowed to detect a lost and/or an insignificant use of provided nitrogen. Similar results were detected with supplement meals from cooked seeds of *Canavalia brasiliensis* [30] and a soybean cultivar [4].

As already mentioned, SCCm nutritional parameters were satisfactory. However, when animal organs were evaluated significant weight alterations have been detected. Apparently, the lectin was inactivated after heating, but other antinutritional factors could induce the disturbance. Also, the low diet consumption could promote nutrient deficiency since NPC, CCm and SCCm contributed to organ hypertrophy.

Animals did grow well and did not reveal nutritional deficiency, alteration of vitality or rejection to Cra diet, which showed digestibility and NPU similar to EW diet, but with higher nitrogen output. The results showed that a good protein digestibility is not necessarily related to efficacy of use through animal organism or constituent aminoacids. Similar results found to lectins purified from seeds of *Canavalia brasiliensis* [30] and *Cratylia floribunda* (unpublished data) suggesting that the rejection observed to *C. mollis* seed meals should not be due to the lectin presence.

Cra det showed organs alterations, such as hypertrophy of spleen, thymus, pancreas, stomach, small intestine, liver, heart and kidneys, when compared with the same organs of animals fed with EW diet. Lectins caused local (acute and chronic) as well as effects on the organism; the first is resultant of direct interaction of the lectin with the intestinal surface or brush-border membrane and the second is a consequence of the epithelial cell binding and internalization [5].

Alterations at enzymatic activities and at the nutrient transports across of gut surface have been attributed to the changes at the conformation of enzymes and transporters, caused by the binding from lectins to glycoproteins and glycolipidis [31, 32, 33]. PHA induced, at dose dependent, the intestine growing through the increase of the number of Lieberkühn crypt cells. This lectin, also, caused changes at the intestine and pancreas [34]. The increase of these organs induced by lectins was, already, demonstrated several times [35, 27, 36, 37, 38, 39]. The induction mechanism of pancreatic and intestinal hypertrophy in rats fed with PHA, showed an increase at colecistocinine levels; intestinal hyperplasia and hypertrophy was independent of this mechanism [40].

According to this study, to define a protein source to consumption it is important to consider animal growing, biological assays and potential organ alterations. Animals fed with SCCm and Cra showed positive nutritional parameters.

5 References

- [1] Gerlach, D, Wagner, M, Schlott, B, Zähringer, U, Schmidt, KH. Chemical and physicochemical characterization of the sialic acid-specific lectin from *Cepaea hortensis*. FEMS Microbiology Letters 2002, pp. 1-8.
- [2] Peumans, WJ, Van Damme, JME. Lectins as plant defense proteins. Plant Physiology. Belgium, 1995;109:347-52.
- [3] Sathe, SK. Dry bean protein functionality. Critical Reviews in Biotechnology. 2002; 22:175-223.
- [4] Vasconcelos, IM., Maia, AAB., Siebra, EA., Oliveira, JTA, Carvalho, AFFU, Melo, VMM, Carlini, CR, Castelar, LI. Nutritional study of two brazilian soybeans (*Glycine max*) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. The Journal of Nutrition Biochemistry, 2001;2: 55-62.
- [5] Peumans, WJ, Van Damme, JME. Prevalence, biological activity and genetic manipulation of lectins in foods. Trends in food science & technology, 1996;7: 132-8.
- [6] Paiva, PMG and Coelho, LCBB. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart (Camaratu bean). Applied Biochemistry and Biotechnology, 1992;36:113-17.
- [7] Correia, MTS, Coelho, LCBB. Purification of glucose/mannose specific Lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). Applied Biochemistry on Biotechnology, 1995;55:261-73.
- [8] Tavares, GA, Caracelli, I, Burger, R, Correia, MTS, Coelho, LCBB, Oliva, G. Crystallization and preliminary X-ray studies on the lectin from the seeds of *Cratylia mollis*. Acta Cryst., 1996;52:1046-7.
- [9] Lima, VLM, Correia, MTS, Cechinel, YMN, Sampaio, CAM, Owen, J, Coelho, LCBB. Immobilized *Cratylia mollis* lectin as a potential matrix to isolate plasma glycoproteins, including lecithin-cholesterol acyltransferase. Carbohydr Polym 1997; 33: 27-32.
- [10] Beltrão, EIC, Correia, MTS, Figueredo-Silva, J, Coelho, LCBB. Binding evaluation of isoform 1 from *Cratylia mollis* lectin to human mammary tissues. Appl Biochem Biotechnol 1998; 74:125-34.

- [11] Souza, SR, Correia, MTS, Pessoa, MMA, Kennedy, JF, Lima-Filho, JL, Coelho, LCBB. A novel model to characterize the double electric layer of lectin from *Cratylia mollis* (camaratu bean) and *Canavalia ensiformis* in metallic surface. *Carbohydr Polym* 2001; 46: 191-3.
- [12] Nascimento, CO, Coelho, LCBB, Correia, MTS, Carneiro-da-Cunha, MG. Liquid-liquid extraction of lectin from *Cratylia mollis* seeds using reversed micelles. *Biotechnol Letters* 2002; 24: 905-7.
- [13] Coates, ME, Odonoghue, PN, Payne, PR, Ward, RJ. Dietary standards for laboratory rats and mice – nutritional and microbiological recommendations. *Laboratory animal handbook* 2. London: Laboratories Animals, 1969, pp. 13-15.
- [14] Triebold, HO. Quantitative analysis with applications to agricultural and food products. New York: Van Nostrand Co, 1946; pp. 331.
- [15] Baethgen, WE, Alley, MM. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digests. *Soil Science*, 1989;20:961-69.
- [16] Miller, D S, Bender, A E. The determination of the net utilization of protein by a shortened method. *British Journal of Nutrition*, 1955;9:382-88.
- [17] Friend, M. Nutritional value of proteins from different food sources. A Review. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 1996; 44:6-29.
- [18] Valenzuela, MRC, Sgarbieri, VC. Influence of various dry bean fractions, carioca 80, on diet efficiency and dietary protein utilization. *Journal Nutrition Science Vitamology*, 1990; 36:141-151.
- [19] Oboh, HA, Muzquiz, M, Burbano, C, Cuadrado, C, Pedrosa, MM, Ayet, G, Osagie, AV. Antinutritional constituents of six underutilized legumes grow in Nigeria. *Journal of Chromatography A.*, 1998; 823: 307-312.
- [20] Mitchell, G. Food and populations (a personal view). *South African Journal of Science*, 1984;80:403-406.
- [21] Nielsen, SS, Deshpande, SS, Hermodson, MA, Scoot, MP. Comparative digestibility of legume storage proteins. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 1988;36:896-902.
- [22] Laurena, AC, Rodriguez, FM, Sabino, NG, Zamora, AF, Mendoza, EMT. Amino acid composition, relative value and *in vitro* protein digestibility of several Philippine indigenous legumes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 1991;41:59-68.

- [23] Sathe, SK. Dry bean protein functionality. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2002; 22: 175-223.
- [24] Carbonaro, M, Virgili, F, Lucarini, M, Carnovale, E. Role of tannins in legume-containing diets: interaction to protein and antioxidant properties. Bardocz, S, Gelencsér, E, Pusttai, A. (eds.). *Second Workshop of COST 98 Action – Effects of antinutrients on the nutritional value of legume diets*, 1995;03:65-69.
- [25] Hossain, MA, Becker, K. Nutritive value and antinutritional factors in different varieties of *Sesbania* seeds and their morphological fractions. *Food Chemistry*, 2001; 73:421-31.
- [26] Liener, IE. Implications of antinutritional components in soybean foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1994;34:31-67.
- [27] Grant, G. Anti-nutritional effects of dietary lectins. *Aspects of Applied Biology*, 1989; 19:51-74.
- [28] Armour, JC, Chanaka Perera, RL, Buchan, WC, GRANT, G. Protease inhibitors and lectins in soya bean and effects of aqueous heat-treatment. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 1998; 78: 225-231.
- [29] Grant, G., McKenzie, NH, Moreira, RA, Pusttai, A. *Dioclea grandiflora* and *Dioclea sclerocarpa* seeds. A nutritional study. *Qual Plant P. Foods Human Nutrition*, 1986;36: 47-61.
- [30] Oliveira, JTA, Vasconcelos, IM, Gondim, MJL, Cavada, BS, Moreira, RA, Santos, CF, Moreira, LIM. *Canavalia brasiliensis* seeds. Protein quality and nutritional implications of dietary lectin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1994;64:417-424.
- [31] Dhaunsi, GS, Garg, UC, Sidhu, GS, Bhatnagar, R. Enzymatic and transport studies on the rat intestinal brush membrane vesicles bound to pea and lentil lectins. *IRCS Medical Science*, 1985;13:469-70.
- [32] Pusttai, A, Grant, G, Bardocz, S, Ewen, SWB, Baintner, K, Peumans, WJ, Van Damme, EJM. Lectins binding to the gut wall are growth factors for the pancreas. Nutritional implications for transgenic plants. In: Pusttai, A, Bardocz, S (ed.). *Lectins. Biomedica perspectives*. London: Taylor & Francis Ltda, 1995;8:137-141.

- [33] Pusztai, A. Characteristics and consequences of interactions of lectins with the intestinal mucosa. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 1996;44:10-15.
- [34] Bardocz, S, Ewen, SWB, Grant, G, Pusztai, A. Lectins as growth factors for the small intestine and the gut. In: Pusztai, a, Bardocz, S (ed.). *Lectins biomedical perspectives*. London: Taylor & Francis Ltda, 1995;6:103-115.
- [35] Pusztai, A. The biological effects of lectins in the diet of animals and man. *Lectins*, 1986;5:317-327.
- [36] Grant, G, Dorward, PM and Pusztai, A. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1995;67:235-38.
- [37] Oliveira, AC, Sgarbieri, VC. Effect of diets containing dry beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) on the rat excretion of endogenous nitrogen. *Journal of Nutrition*, 1986; 116:2387-2392.
- [38] Oliveira, JTA , Pusztai, A , Grant, G. Changes in organs and tissues induced by feeding of purified kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) lectins. *Nutrition Research*, 1988;8:943-47.
- [39] Moreira, R A , Cavada, BS, Oliveira, JTA, Ainouz, IL. Plant lectins. In: OLIVEIRA, B., SGARBIERI, V. (eds.), *Proceedings of the first Brazilian congress on proteins*, 1991; pp 71-96.
- [40] Herzig, KH, Bardocz, S, Grant, G, Nustede, R, Folsch, UR, Pusztai, A. Red kidney bean lectin is a potent cholecystokinin releasing stimulus in the rat inducing pancreatic growth. *Gut*, 1997;41:333-38.

Table 1Composition (g/kg) of NPC, EW and experimental diets^a

Diets	Casein	NPC	EW	RCm	SRCm	CCm	SCCm	Cra
Maize starch	377	500	374.2	220.49	214.83	228.49	222.68	360.4
Potato starch	100	100	100	100	100	100	100	100
Glucose	150	150	150	150	150	150	150	150
Maize oil	150	150	150	150	150	150	150	150
Vitamin mix ^{b=}	50	50	50	50	50	50	50	50
Mineral mix ^b	50	50	50	50	50	50	50	50
Casein	123	-	-	-	-	-	-	-
Egg white	-	-	125.8	-	-	-	-	100.6
<i>C. mollis</i>	-	-	-					
Raw				279.50	279.5			
Cooked						271.5	271.5	
Purified lectin								39
L-Tryptophan ^c	-	-	-	-	1.8	-	1.8	-
L-Methionine ^c	-	-	-	-	3.86	-	3.86	-

^a CAS, casein; NPC, non-protein control; EW, egg-white protein; RCm, raw *C. mollis seeds*; SRCm, supplied raw *C. mollis seeds*; CCm, cooked *C. mollis seeds*; SCCm; supplied cooked *C. mollis seeds*; Cra, egg-white protein plus purified lectin (Cra).

^b Vitamin mix (g/kg): vitamin B12 (100%), 0.02; folic acid, 0.04; biotin(1%), 4.0; pyridoxine HCl, 0.04; thiamine HCl, 0.06; riboflavin(99%), 0.21; Ca-pantothenato(45%), 1.2; nicotinic acid, 4.0; inositol, 4.0; p-amino-benzoic acid, 12.0; choline chloride(50%), 24.0; maize starch, 950.43. Mineral mix (g/kg): calcium citrate, 296.2; monobasic calcium phosphate, 108.3; dibasic potassium phosphate, 210.1; sodium chloride, 74.0; potassium chloride, 119.5; calcium carbonate (40%), 65.8; magnesium carbonate, 34.3; magnesium sulfate, 75.4; ferric citrate, 9.1; magnesium chloride.6H₂O, 5.82; copper carbonate, 1.1; zinc carbonate, 0.48; sodium fluoride, 0.48; potassium iodate, 0.1.

^c Diets containing raw or cooked seed meal were supplemented with L-methionine and L-tryptophan according to their amino acid compositions.

Table 2

Nutritional parameters of rats fed on *Cratylia mollis* seed meals (RCm, SRCm, CCm, SCCm, Cra) compared^a with those of rats fed on EW and NPC diets

	Diets ^b						
	<u>NPC</u>	<u>EW</u>	<u>RCm</u>	<u>SRCm</u>	<u>CCm</u>	<u>SCCm</u>	<u>Cra</u>
Initial body weight ^f (g)	69.58 ± 3.2 ^a	70.66 ± 3.0 ^a	69.21 ± 3.6 ^a	69.97 ± 4.3 ^a	69.17 ± 1.3 ^a	71.44 ± 3.6 ^a	69.74 ± 2.4 ^a
Final body weight ^c (g)	57.78 ± 3.2 ^d	109.41 ± 7.8 ^b	54.98 ± 2.3 ^d	59.99 ± 6.5 ^{cd}	56.02 ± 1.9 ^d	67.94 ± 3.2 ^c	117.07 ± 11.8 ^a
Daily food intake ^c (g)	3.91 ± 0.8 ^d	8.81 ± 1.2 ^b	3.91 ± 1.75 ^d	3.21 ± 0.65 ^d	4.03 ± 0.70 ^{cd}	5.37 ± 0.89 ^c	11.54 ± 2.54 ^a
NPU ^d	-	83.90 ± 4.4 ^a	-16.79 ± 4.55 ^d	38.72 ± 1.40 ^c	36.53 ± 2.77 ^c	67.18 ± 1.54 ^b	70.90 ± 0.01 ^b
Protein digestibility ^d (%)	-	99.43 ± 0.6 ^a	32.87 ± 6.72 ^d	77.90 ± 2.04 ^c	75.00 ± 6.21 ^c	86.31 ± 3.18 ^b	87.60 ± 0.01 ^b
Body nitrogen ^c (g/kg)	81.70 ± 6.1 ^b	61.12 ± 6.3 ^d	86.8 ± 0.81 ^b	98.7 ± 9.3 ^a	109.3 ± 4.0 ^a	99.6 ± 6.0 ^a	79.1 ± 10.6 ^c

^a Values in horizontal row with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

^b For Key to diets see material and methods.

^c Per rat.

Oliveira, A.C.

^a Per group of rats.

Valor Protéico e Implicações Nutricionais...

Table 3 – Relative fecal dry matter and nitrogen outputs of rats^a fed on control (EW) and experimental diets calculated for the last 5 days

Diets	Diet intake (g per rat)	N intake (g per rat)	F. output ^b (g per rat)	Fecal N (g per rat)	<u>F.output(x100)</u> Diet intake	<u>Fecal N (X00)</u> N intake
EW	42.89±4.28 ^b	1.51 ± 0.12 ^b	1.19 ± 0.15 ^c	0.033± 0.002 ^c	2.80 ± 0.38 ^b	2.18 ± 1.97 ^d
RCm	15.66± 2.35 ^d	0.61 ± 0.08 ^d	1.37 ± 0.22 ^b	0.074± 0.012 ^b	8.78 ± 0.30 ^a	12.34 ± 2.17 ^a
SRCm	16.23±2.13 ^{cd}	0.48 ± 0.04 ^d	1.40 ± 0.16 ^a	0.029 ± 0.04 ^d	8.85 ± 1.90 ^a	5.89 ± 0.32 ^c
CCm	19.50± 1.76 ^d	0.52 ± 0.04 ^d	1.85 ± 0.49 ^a	0.040± 0.012 ^c	9.41 ± 1.94 ^a	7.53 ± 1.56 ^b
SCCm	27.19± 4.11 ^c	0.75 ± 0.08 ^c	2.19 ± 0.25 ^a	0.048± 0.016 ^c	8.14 ± 0.71 ^a	6.28 ± 1.21 ^c
LEC	62.96± 8.08 ^a	1.82 ± 0.26 ^a	2.37 ± 0.22 ^a	0.184± 0.018 ^a	3.00 ± 0.41 ^b	10.09 ± 0.35 ^b

^aValues in vertical row with different following letters significantly ($p < 0.05$).

NPC, non-protein control; EW, egg-white protein; RCm, raw *C. mollis* seeds; SRCm, supplied raw *C. mollis* seeds; CCm, cooked *C. mollis* seeds; SCCm; supplied cooked *C. mollis* seeds;

Cra , egg-white protein plus purified lectin (Cra).

^b Fecal output

Table 4Relative dry weights^a (g/100 g body dry matter) of organs of rats fed on NPC, EW and experimental diets

Organ	Diets						
	EW	NPC	RCm	SRcm	CCm	SCCm	LEC
Spleen	0.14 ± 0.02 ^b	0.13 ± 0.01 ^b	0.14 ± 0.01 ^b	0.17 ± 0.02 ^b	0.15 ± 0.02 ^b	0.18 ± 0.01 ^b	0.18 ± 0.01 ^b
Thymus	0.18 ± 0.02 ^b	0.12 ± 0.02 ^c	0.22 ± 0.31 ^a	0.26 ± 0.42 ^a	0.13 ± 0.03 ^c	0.15 ± 0.03 ^c	0.23 ± 0.01 ^a
Pancreas	0.17 ± 0.04 ^c	0.12 ± 0.04 ^d	0.22 ± 1.82 ^b	0.19 ± 0.02 ^b	0.17 ± 0.02 ^c	0.17 ± 0.02 ^c	0.33 ± 0.09 ^a
Stomach	0.38 ± 0.02 ^c	0.65 ± 0.14 ^a	0.60 ± 0.06 ^a	0.59 ± 0.05 ^a	0.58 ± 0.03 ^a	0.56 ± 0.04 ^a	0.46 ± 0.11 ^b
Intestine	1.99 ± 0.16 ^c	2.31 ± 0.18 ^b	3.03 ± 0.28 ^a	3.15 ± 0.52 ^a	2.47 ± 0.28 ^b	2.52 ± 0.23 ^b	2.57 ± 0.32 ^b
Caecum + colon	0.52 ± 0.08 ^b	0.64 ± 0.06 ^a	0.68 ± 0.10 ^a	0.77 ± 0.07 ^a	0.79 ± 0.03 ^a	0.73 ± 0.02 ^a	0.59 ± 0.03 ^b
Liver	3.21 ± 0.53 ^b	4.05 ± 0.12 ^a	3.11 ± 0.26 ^b	3.38 ± 0.29 ^b	3.53 ± 0.23 ^b	4.52 ± 0.33 ^a	4.27 ± 0.59 ^a
Heart	0.19 ± 0.03 ^c	0.43 ± 0.04 ^a	0.30 ± 0.03 ^b	0.31 ± 0.07 ^b	0.30 ± 0.02 ^b	0.30 ± 0.02 ^b	0.25 ± 0.03 ^b
Lungs	0.30 ± 0.04 ^b	0.26 ± 0.02 ^c	0.45 ± 0.04 ^a	0.45 ± 0.02 ^a	0.49 ± 0.02 ^a	0.43 ± 0.01 ^a	0.36 ± 0.06 ^b
Kidneys	0.43 ± 0.04 ^d	0.66 ± 0.09 ^b	0.82 ± 0.08 ^a	0.83 ± 0.10 ^a	0.88 ± 0.08 ^a	0.80 ± 0.05 ^a	0.56 ± 0.10 ^c

^aValues in a horizontal row with different following letters significantly (p < 0.05).

6. Figure Legends

6.1 - **Figure 1**- Growing curves of rats fed with diets of *Cratylia mollis* seed meals (n = 6) and purified *C. mollis* seed lectins (n = 3) using as pattern rats fed with “egg-white” (positive control) and non-protein diet (negative control).

NPC, non-protein control; EW, egg-white protein; RCm, raw *C. mollis seeds*; SRCm, supplied raw *C. mollis seeds*; CCm, cooked *C. mollis seeds*; SCCm; supplied cooked *C. mollis seeds*; Cra , egg-white protein plus purified lectin (Cra).

6.2 - **Figure 2** – Daily consume curves of fed rats with diets of *Cratylia mollis* seed meals (n = 6) and purified *C. mollis* seed lectins (n = 3) using as pattern rats fed with “egg-white” (positive control) and non-protein diet (negative control).

NPC, non-protein control; EW, egg-white protein; RCm, raw *C. mollis seeds*; SRCm, supplied raw *C. mollis seeds*; CCm, cooked *C. mollis seeds*; SCCm; supplied cooked *C. mollis seeds*; Cra , egg-white protein plus purified lectin (Cra).

6.3 - **Figure 3** – Quantities at absolute values of the intake diet, fecal output, intake and fecal nitrogen.

NPC, non-protein control; EW, egg-white protein; RCm, raw *C. mollis seeds*; SRCm, supplied raw *C. mollis seeds*; CCm, cooked *C. mollis seeds*; SCCm; supplied cooked *C. mollis seeds*; Cra , egg-white protein plus purified lectin (Cra).

FIGURE 1

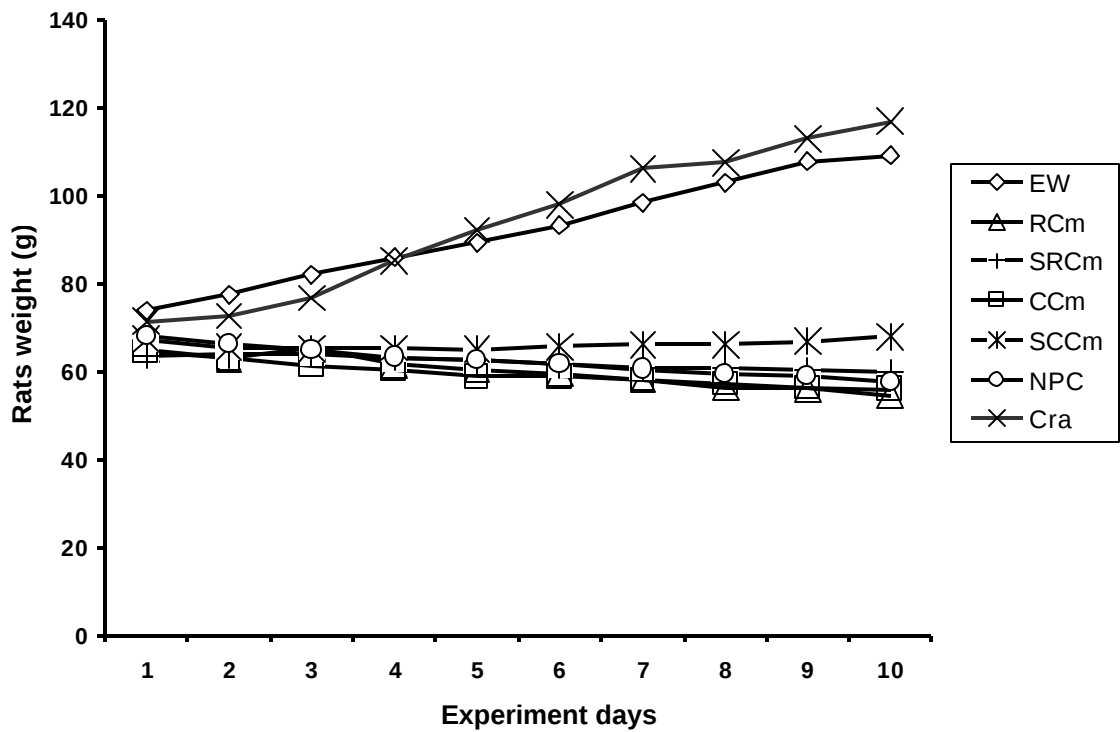


FIGURE 2

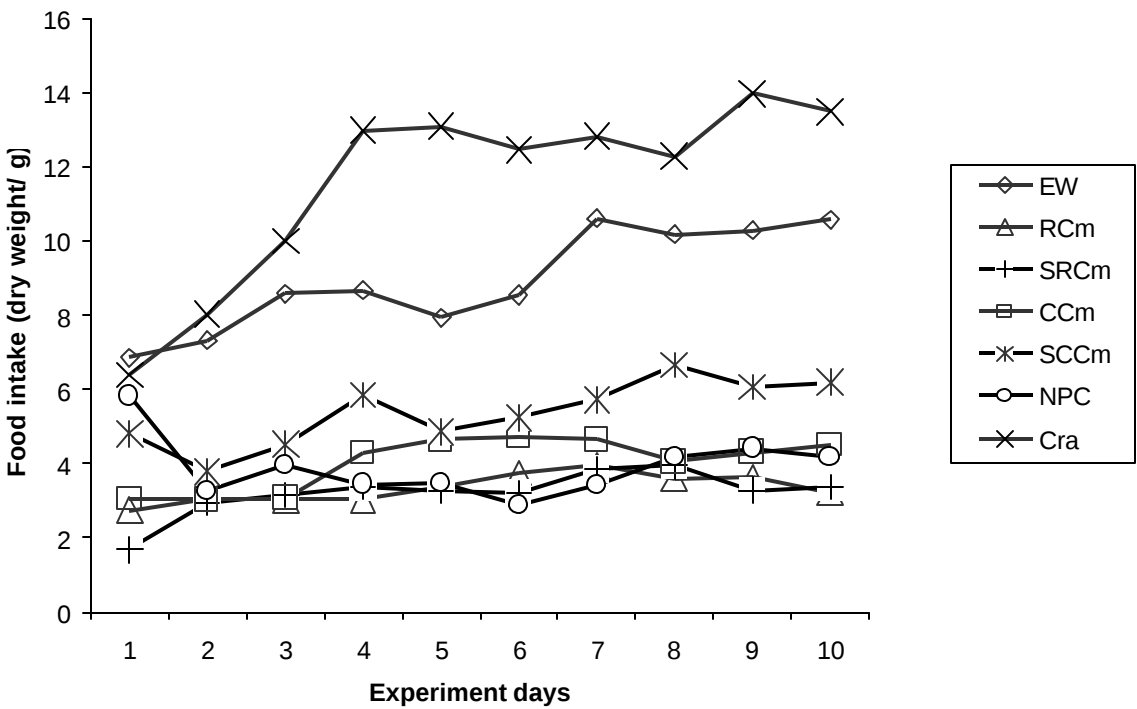
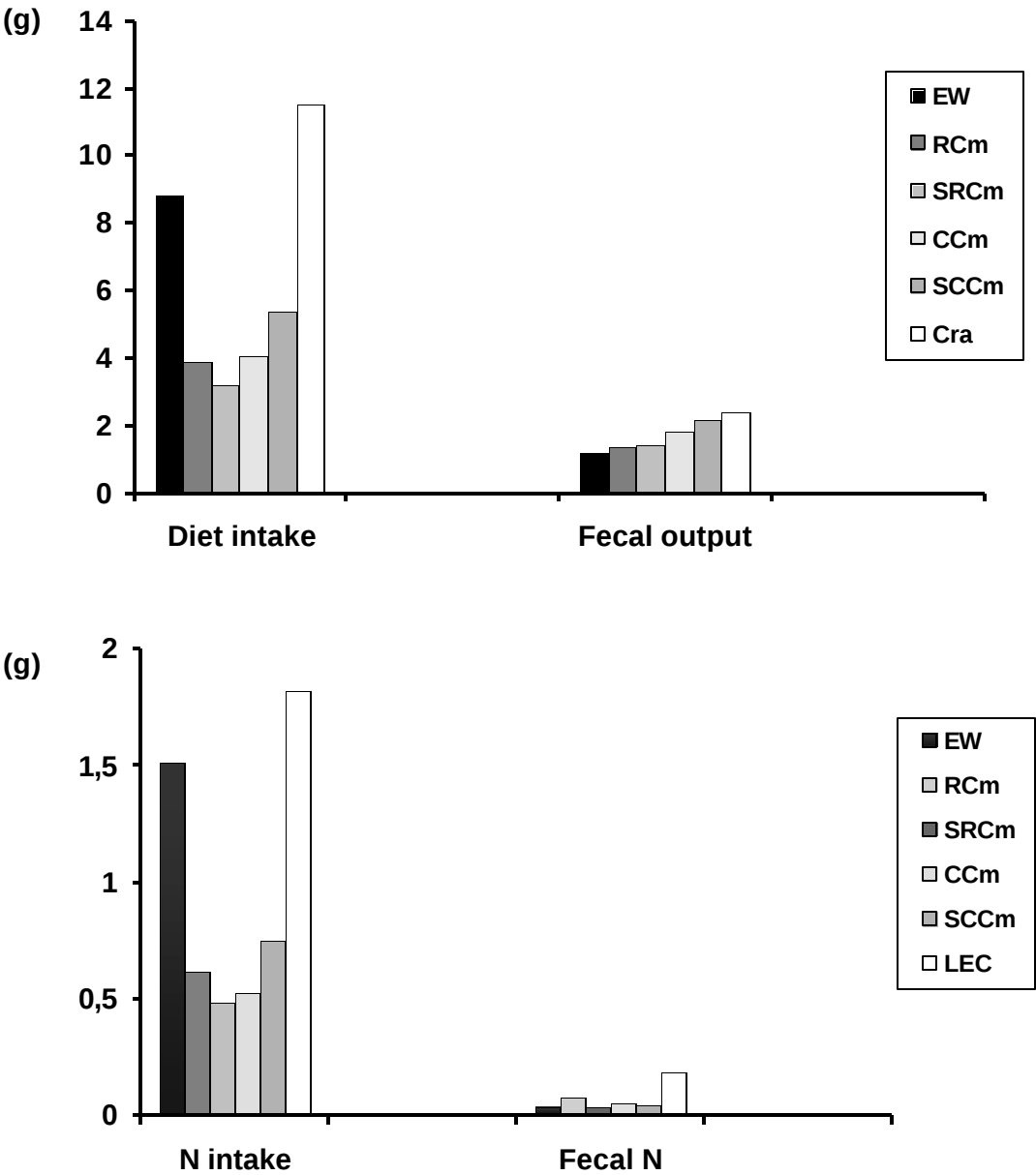


FIGURE 3



5. CONCLUSÕES

1. O grupo de animais alimentados com dieta incorporada com 2% de Cra, apresentou crescimento tão bom quanto ao grupo alimentado com a dieta padrão.

2. Os parâmetros nutricionais, como digestibilidade, NPU e valor biológico para a dieta com farinha de sementes de *C. mollis* crua foram negativos, o que caracteriza sua baixa digestibilidade; os demais grupos experimentais apresentaram valores positivos, embora inferiores ao da dieta controle.

3. As dietas contendo farinha de sementes cruas ou cozidas de *C. mollis* e sua lectina e NPC, induziram alterações de órgãos, caracterizadas por hipertrofia do intestino delgado e grosso, estômago, fígado, rins, pâncreas, coração e pulmão.