

GERALDA ALDINA DIAS RODRIGUES CRUZ

EFEITO DO ARMAZENAMENTO SOBRE A DIGESTIBILIDADE E  
QUALIDADE PROTÉICA DE CULTIVARES DE FEIJÃO  
(*Phaseolus vulgaris* L.)

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2003

GERALDA ALDINA DIAS RODRIGUES CRUZ

EFEITO DO ARMAZENAMENTO SOBRE A DIGESTIBILIDADE E  
QUALIDADE PROTÉICA DE CULTIVARES DE FEIJÃO  
(*Phaseolus vulgaris* L.)

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

APROVADA: 16 de outubro de 2003.

---

Prof. Maurílio Alves Moreira  
(Conselheiro)

---

Prof<sup>ª</sup> Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo  
(Conselheira)

---

Dra. Maria Helena Nasser Brumano

---

Prof<sup>ª</sup> Maria das Graças Cardoso

---

Prof<sup>ª</sup> Maria Goreti de Almeida Oliveira  
(Orientadora)

*À Dinha Geralda (in memoriam),  
com carinho...*

*"Tem beleza demais no universo,  
e Beleza não pode ser perdida.  
E Deus é esse Vazio sem fim,  
gamela infinita,  
que pelo universo vai colhendo  
e ajuntando toda a Beleza que há,  
garantindo que nada se perderá,  
dizendo que tudo  
o que se amou e se perdeu  
haverá de voltar,  
se repetirá de novo.  
Deus existe para tranquilizar a saudade..."*

Rubem Alves

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e saúde.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de realização do curso.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

À Professora Maria Goreti de Almeida Oliveira, pela orientação, dedicação, atenção, carinho e amizade em todos os momentos.

Ao Professor Maurílio Alves Moreira, pelas sugestões no desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Neuza Maria Brunoro Costa, pelas sugestões e orientação durante o desenvolvimento dos experimentos de digestibilidade *in vivo*.

À Professora Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo, pela amizade e atenção no decorrer deste trabalho.

Ao Professor Cosme Damião Cruz, pelas análises estatísticas realizadas.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola Eduardo Pereira Monteiro, pelo carinho e pela contínua disponibilidade de ajuda.

Ao Aloísio Cardoso, pela presteza em disponibilizar o material utilizado nos experimentos.

Aos meus amigos do Laboratório de Enzimologia Anderson, Christiano, Eduardo, Hatanne, Isabela e Rita, por todo o tempo de convívio e aprendizado.

Aos meus amigos de curso e a todas as pessoas que eu conheci e com quem tive a oportunidade de conviver.

Aos meus pais Tone e Vanda, pela bênção da minha vida.

Ao meu grande amor Renatinho, pela ajuda na realização deste trabalho.

Aos meus irmãos Ana (*in memoriam*), Mádia, Max, Mara e Dayse, aos meus sobrinhos Sabrina, Osvaldo, Léo, Débora, Mauricinho, Victória, Gabriel e Maria Eduarda, aos meus cunhados Zorobabel, Maurício e Andréia, pela grande família que somos.

Ao Sr. Renato, D. Lulude, Rachele e Alberto, pelo grande carinho.

À minha irmã Mara, pela força, incentivo e sabedoria em todos esses anos.

Às minhas amigas Mara Iamim e Handyara, pelo convívio, pelo carinho e pela amizade.

À Rose, pela ajuda no dia-a-dia.

Aos meus amigos e familiares ausentes, pela torcida.

A todos que estiveram comigo nesta caminhada.

## **BIOGRAFIA**

GERALDA ALDINA DIAS RODRIGUES CRUZ, filha de Antônio Geraldo Rodrigues e Maria Walderêz Dias Rodrigues, nasceu em Montes Claros, Minas Gerais, em 12 de janeiro de 1968.

Em fevereiro de 1993, iniciou o Curso de Graduação em Nutrição na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, concluindo-o em dezembro de 1997.

Em outubro de 1998, ingressou no Curso de Mestrado em Agroquímica da UFV, concluindo os requisitos necessários para obtenção do título de “Magister Scientiae” em agosto de 2000, com a defesa da tese.

Em setembro de 2000, iniciou o Curso de Doutorado em Bioquímica Agrícola na UFV, concluindo os requisitos necessários para obter o título de “Doctor Scientiae” em outubro de 2003, com a defesa da tese.

## CONTEÚDO

	Página
LISTA DE QUADROS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	xii
RESUMO .....	xiv
ABSTRACT .....	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. Importância nutricional do feijão .....	3
2.2. Armazenamento de feijões .....	5
2.3. Digestibilidade das proteínas do feijão .....	9
2.4. Fatores que interferem na digestibilidade das proteínas de feijão...	16
2.4.1. Inibidores de proteases .....	16
2.4.2. Pigmentos .....	17
2.4.3. Carboidratos .....	19
2.4.4. Fibra alimentar.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1. Material genético .....	22
3.2. Preparo da farinha de feijão.....	22

	Página
3.3. Determinação de proteína.....	23
3.4. Ensaio biológico .....	23
3.4.1. Preparo das dietas .....	23
3.4.2. Animais.....	26
3.4.3. Digestibilidade verdadeira.....	26
3.4.4. Digestibilidade aparente .....	27
3.4.5. PER (Protein Efficiency Ratio ou Coeficiente de Eficácia Protéica) .....	28
3.4.6. NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida) .....	28
3.4.7. NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Líquida da Proteína) .....	28
3.5. Determinação da digestibilidade <i>in vitro</i> .....	29
3.5.1. Método descrito por HSU et al. (1977), com modificações .....	29
3.5.2. Método descrito por SATERLEE et al. (1979), com modificações .....	30
3.5.3. Método descrito por PEDERSEN e EGGUM (1983) .....	31
3.5.4. Método desenvolvido neste trabalho .....	31
3.6. Determinação da correlação da digestibilidade <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> ....	34
3.7. Análise estatística.....	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
4.1. Conteúdo protéico .....	35
4.2. Digestibilidade <i>in vivo</i> .....	37
4.3. Digestibilidade <i>in vitro</i> .....	43
4.4. PER (Protein Efficiency Ratio) .....	66
4.5. NPR (Net Protein Ratio).....	69
4.6. NPU (Net Protein Utilization).....	72
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	78

## LISTA DE QUADROS

	Página
1. Composição das dietas utilizadas no experimento com ratos (g/100 g de mistura).....	24
2. Composição da mistura mineral (AIN-93G-MX) usada no preparo das dietas no experimento com ratos em g/kg da mistura.....	25
3. Composição, em g/kg, da mistura vitamínica (AIN-93G-VX) usada no preparo das dietas no experimento com ratos .....	26
4. Concentração de proteínas em amostras de variedades de feijão cozido, com casca, recém-colhido e armazenado durante 30 dias .....	36
5. Digestibilidade verdadeira (DV) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, recém-colhido e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais .....	37
6. Digestibilidade aparente (DA) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, recém-colhido e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais .....	38
7. Digestibilidades verdadeira (DV) e aparente (DA) da dieta de caseína e das variedades de feijão do grupo Carioca, cozido e com casca, armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais .....	39

8. Efeito do armazenamento na digestibilidade verdadeira (DV) e aparente (DA) das variedades de feijão cozido, com casca, recém-colhido e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais.....	40
9. Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos e a determinada <i>in vitro</i> , pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se todas as variedades analisadas.....	44
10. Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados e a determinada <i>in vitro</i> , pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se todas as variedades analisadas.....	45
11. Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos e a determinada <i>in vitro</i> , pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se todas as variedades analisadas.....	48
12. Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade aparente dos feijões armazenados e a determinada <i>in vitro</i> , pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se todas as variedades analisadas.....	48
13. Medidas <i>in vivo</i> da digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos e a determinada <i>in vitro</i> , utilizando-se a equação de regressão do Método 4 .....	52
14. Medidas <i>in vivo</i> da digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados durante 30 dias e a determinada <i>in vitro</i> , utilizando-se a equação de regressão do Método 4.....	53
15. Medidas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> da digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos, utilizando-se a equação de regressão do Método 4 ..	54
16. Medidas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> da digestibilidade aparente dos feijões armazenados durante 30 dias, utilizando-se a equação de regressão do Método 4 .....	55
17. Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade verdadeira e a determinada <i>in vitro</i> , pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se feijões do grupo Carioca recém-colhidos.....	56
18. Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade verdadeira e a determinada <i>in vitro</i> , pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se feijão do grupo Carioca com 30 dias de armazenamento .....	57

19. Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade aparente dos feijões do grupo Carioca recém-colhidos e a determinada <i>in vitro</i> , pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se feijões do grupo Carioca recém-colhidos .....	60
20. Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade aparente dos feijões do grupo Carioca armazenados e a determinada <i>in vitro</i> , pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se feijões do grupo Carioca com 30 dias de armazenamento.....	60
21. Medidas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> da digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos, utilizando-se a equação de regressão do Método 4, em que X = volume de NaOH.....	63
22. Medidas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> da digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados, utilizando-se a equação de regressão do Método 1, em que X = pH medido após 10 minutos.....	64
23. Medidas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> da digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos, utilizando-se a equação de regressão do Método 4, em que X = volume de NaOH.....	65
24. Medidas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> da digestibilidade aparente dos feijões, utilizando-se a equação de regressão do Método 2, em que X = pH medido após 20 minutos.....	66
25. PER e RPER (PER Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais .....	67
26. PER (Protein Efficiency Ratio ou Coeficiente de Eficácia Protéica) da dieta de caseína e das variedades de feijão do grupo Carioca, cozido e com casca, armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais .....	68
27. NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida) RNPR (NPR Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais.....	69
28. NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais.....	70

29. NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Protéica Líquida) e RNPU (NPU Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais .....	72
30. NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Protéica Líquida) da dieta de caseína e das variedades de feijão do grupo Carioca, cozido e com casca, armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais .....	73

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Diagrama representativo da digestão, absorção, retenção e utilização de proteínas pelo organismo.....	10
2. Diferença do pH acumulado, utilizando-se caseína como proteína-padrão .....	32
3. Diferença do pH acumulado, utilizando-se todas as variedades de feijão recém-colhido.....	33
4. Diferença do pH acumulado, utilizando-se todas as variedades de feijão armazenado durante 30 dias .....	33
5. Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões analisados recém-colhidos.....	46
6. Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões analisados recém-colhidos.....	46
7. Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões armazenados .....	47
8. Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões armazenados .....	47
9. Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões recém-colhidos.....	49

	Página
10. Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões recém-colhidos.....	49
11. Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões armazenados .....	50
12. Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões armazenados .....	50
13. Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões do grupo Carioca recém-colhidos .....	57
14. Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões do grupo Carioca recém-colhidos .....	58
15. Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões do grupo Carioca armazenados .	58
16. Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões do grupo Carioca armazenados .	59
17. Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões do grupo Carioca recém-colhidos.	61
18. Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões do grupo Carioca recém-colhidos.	61
19. Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões do grupo Carioca armazenados.....	62
20. Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões do grupo Carioca armazenados.....	62

## RESUMO

CRUZ, Geralda Aldina Dias Rodrigues, D. S., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2003. **Efeito do armazenamento sobre a digestibilidade e qualidade protéica de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)** . Orientadora: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Conselheiros: Maurílio Alves Moreira, Neuza Maria Brunoro Costa e Márcia Rogéria de Almeida Lâmega.

No Brasil, o feijão é considerado um dos cultivos de maior importância na produção de alimentos básicos para a população. Como o país tem grandes áreas que podem ser aproveitadas para o plantio dessa cultura, pesquisas tornam-se necessárias a fim de preservar a qualidade do grão após a colheita. A qualidade do feijão está relacionada com produção por unidade de área, características de aceitabilidade pelo consumidor e valor nutritivo. Dessa forma, a melhoria da qualidade do feijão será obtida pela interação entre melhoramento agrônômico, ciência e tecnologia de alimentos e nutrição. Assim, com o objetivo de avaliar a qualidade da proteína dos cultivares Aporé, Aruã, A774, Carioca, Diamante Negro, Ouro Branco, Ouro Negro, Pérola, RAO 33, Rudá e Vermelho Coimbra, armazenados por 30 dias e fornecidos pela EMBRAPA – Arroz e Feijão, localizada em Goiânia, GO, procedeu-se à avaliação biológica em ratos machos recém-desmamados e determinou-se a digestibilidade verdadeira e aparente,

Protein Efficiency Ratio (PER), Net Protein Ratio (NPR) e Net Protein Utilization (NPU). Foram também analisados quatro métodos para ensaio de digestibilidade *in vitro*, utilizando-se um sistema multienzimático com as enzimas tripsina, quimotripsina e pancreatina. A equação de regressão obtida dos valores *in vivo* e *in vitro* foi usada para correlacionar os estudos *in vitro* com os ensaios *in vivo* e, dessa forma, prever a digestibilidade. Utilizaram-se as digestibilidades verdadeira e aparente de todos os feijões de todos os grupos e separadamente do grupo Carioca, obtidos recém-colhidos e armazenados durante 30 dias, para estabelecer-se o melhor coeficiente de correlação das metodologias analisadas. Os resultados obtidos indicaram que as digestibilidades verdadeira e aparente variaram de 77,58 e 76,77% para a variedade Pérola a 87,46 e 86,65% para a variedade Ouro Branco, respectivamente, as quais, como todas as outras variedades, diferiram significativamente do padrão (caseína). Na análise de PER, a variedade Ouro Branco foi a que obteve melhor desempenho nutricional, apresentando valores de PER e RPER significativamente maiores (2,40 e 61,24%), enquanto a variedade Vermelho Coimbra foi a que exibiu menor valor (1,67 e 42,60%), diferindo significativamente das outras variedades analisadas e do valor obtido para caseína. Os valores de NPR e RNPR foram significativamente menores que os encontrados na caseína e situaram-se entre 2,54 e 57,33% na variedade Vermelho Coimbra e entre 3,55 e 80,13% na 'Ouro Branco'. Os resultados de NPU e RNPU ficaram entre 38,36 e 52,47 e 56,64 e 77,69%. Os valores encontrados nas variedades de feijões armazenadas foram, na sua totalidade, superiores aos da literatura, o que demonstra que, apesar do tempo de armazenamento, essas variedades tiveram aproveitamento nutricional melhor que outras. O método de avaliação da digestibilidade *in vitro* que obteve maior  $R^2$  e coeficiente de correlação com os ensaios *in vivo*, utilizando a combinação dos valores das digestibilidades aparente e verdadeira de todas as variedades armazenadas de feijões recém-colhidos, foi o desenvolvido neste trabalho, que apresentou valores que variaram de 0,75 a 0,83 para o  $R^2$  e de 0,87 a 0,91 para o coeficiente de correlação. A diferença entre os valores de digestibilidade *in vivo* e *in vitro*, calculados a partir desse método, foi menor nos feijões recém-

colhidos e variou de  $-2,95$  a  $+3,98$  e de  $-2,97$  a  $+2,61$ , com relação às digestibilidades verdadeira e aparente, respectivamente. Nos feijões armazenados, a diferença foi maior, variando de  $-9,65$  a  $+1,09$  para a digestibilidade verdadeira e de  $-7,75$  a  $+3,12$  para a aparente. Para a combinação dos valores de digestibilidades verdadeira e aparente das variedades do grupo Carioca, o melhor método também foi o desenvolvido neste trabalho para os feijões recém-colhidos. Os valores de  $R^2$  e coeficiente de correlação apresentados foram de  $0,90$  e  $0,95$ , tanto para a digestibilidade verdadeira quanto para a aparente. Nos caso dos feijões armazenados, os melhores foram os métodos descritos por HSU et al. (1977) para a digestibilidade verdadeira e por SATERLEE et al. (1979) para a digestibilidade aparente. Os valores de  $R^2$  e o coeficiente de correlação apresentados foram  $0,90$  e  $0,95$  para a digestibilidade verdadeira e  $0,83$  e  $0,91$  para a aparente, respectivamente. As diferenças entre os valores de digestibilidade *in vivo* e *in vitro*, calculados a partir desses métodos, para o grupo Carioca, também foram menores nos feijões recém-colhidos e variaram de  $-2,77$  a  $+4,15$  e de  $-2,78$  a  $+1,83$  para as digestibilidades verdadeira e aparente, respectivamente. Nos feijões armazenados, a diferença foi maior, variando de  $-6,68$  a  $+2,59$  para a digestibilidade verdadeira e de  $-6,30$  a  $+3,10$  para a aparente. Esses resultados evidenciam que o tempo de armazenamento interfere de forma negativa, aumentando a diferença entre os valores absolutos de digestibilidade *in vivo* e *in vitro* e diminuindo a correlação entre os estudos.

## ABSTRACT

CRUZ, Geralda Aldina Dias Rodrigues, D.S., Universidade Federal de Viçosa, october 2003. **Effect of the storage on the digestibility and quality of the protein of bean cultivate (*Phaseolus vulgaris L.*)**. Advisor: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Counselors: Maurílio Alves Moreira, Neuza Maria Brunoro Costa e Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo.

In Brazil, the bean is considered one of the cultivations of larger importance in the production of basic foods for the population. As Brazil has great areas that can be taken advantage of for the planting of that culture, researches become necessary in order to preserve the quality of the grain after the harvest. The quality of the bean is related with production for unit of area; acceptability characteristics for the consumer and nutritional value. In that way, the improvement of the quality of the bean will be obtained by the interaction of the agronomic improvement, science and technology of food and nutrition. This way, with the objective of evaluating the quality of the protein of the cultivate Aporé, Aruã, A774, Carioca, Diamante Negro, Ouro Branco, Ouro Negro, Pérola, RAO 33, Rudá and Vermelho Coimbra, stored by 30 days and supplied by EMBRAPA – Arroz e Feijão, located in Goiânia-GO. They were sent to be biologically evaluated in recently-weaned male mice determined was the true and

apparent digestibility, Protein Efficiency Ratio (PER), Net Protein Ratio (NPR) and Net Protein Utilization (NPU). Also analyzed were four methods of digestibility *in vitro*; being used a multienzymatic system with the enzymes trypsin, chymotrypsin and pancreatin. The obtained equation of regression of the values *in vivo* and *in vitro* were used to correlate the studies *in vitro* with the rehearsals *in vivo*, and in that way predict the digestibility. The true and apparent digestibility of all the beans from the groups but separated from the group Carioca were used. Beans that were recently harvested and stored for 30 days were obtained to establish the best correlation coefficient of the analyzed methodologies. The obtained results showed that the true and apparent digestibility varied from 77.58% and 76.77% to the variety Pérola to 87.46% and 86.65% for the variety Ouro Branco, respectively, that as all the other varieties, it differed significantly of the pattern (casein). In the analysis of PER, the variety Ouro Branco was the one that obtained better nutritional action, presenting values of PER and RPER significantly larger (2.40% and 61.24%), and the variety Vermelho Coimbra was the one that obtained smaller value (1,67 and 42,60%), differing significantly from the other analyzed varieties and from the value obtained for casein. The NPR and the RNPR were significantly smaller than that found for the casein and they located between 2.54% and 57.33% for the variety Vermelho Coimbra to 3,55 and 80,13% for the variety Ouro Branco. The results of NPU and RNPU, ranged between 38.36% to 52.47% and 56.64% to 77.69%. The values found for the varieties of beans stored, were completely superior to those found in the literature, which demonstrates that in spite of the time of storage, those varieties have a nutritional use better than others. The method of evaluation of the digestibility " *in vitro* " that obtained larger  $R^2$  and correlation coefficient with the trials *in vivo*, using the combination of the values for the apparent and true digestibility of all the varieties of recently-harvested and stored beans, was the method developed in this work, and it presented values that varied from 0.75 to 0.83 to  $R^2$  and from 0.87 to 0.91 for the correlation coefficient. The difference between the values of digestibility *in vivo* and the *in vitro*, calculated for this method, was smaller for the recently-harvested beans,

and it varied from  $-2.95$  to  $+3.98$  and from  $-2.97$  to  $+2.61$ , for the true and apparent digestibility, respectively. For the stored beans the difference was larger, varying from  $-9.65$  to  $+1.09$  for the true digestibility and from  $-7.75$  to  $+3.12$  for the apparent. For the combination of the values of true and apparent digestibility of the varieties of the group Carioca, the best method was also the one developed in this work for the recently-picked beans. The values of  $R^2$  and correlation coefficient presented,  $0.90$  and  $0.95$  were true for both digestibility and the apparent. For the stored beans, the best were the methods described by HSU *et al.* (1977), for the true digestibility and SATERLEE *et al.* (1979), for the apparent digestibility. The values of  $R^2$  and correlation coefficient presented were from  $0.90$  and  $0.95$  for the true digestibility and  $0.83$  and  $0.91$  for the apparent. The differences between the values of digestibility *in vivo* and *in vitro*, calculated from those methods, for the group Carioca, were also smaller for the recently-harvested beans, and it varied from  $-2.77$  to  $+4.15$  and from  $-2.78$  to  $+1.83$ , for the true and apparent digestibility, respectively. For the stored beans the difference was larger, varying from  $-6.68$  to  $+2.59$  for the true digestibility and from  $-6.30$  to  $+3.10$  for the apparent. These results show that storage interferes in a negative way increasing the difference between the absolute values of digestibility *in vivo* and *in vitro* and reduce the correlation among the studies.

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão é a leguminosa que tem sido objeto de muitos estudos na América Latina, por ser uma das principais fontes de proteínas e por fazer parte dos hábitos alimentares da população. A qualidade do feijão como alimento inclui características que têm impacto direto na nutrição humana e aquelas relacionadas ao preparo do feijão, como cozimento etc. Além disso, o armazenamento é um importante fator na qualidade do grão, visto que a aceitabilidade do produto de colheita mais recente é maior que do armazenado. Seu fator nutricional de maior importância é a proteína. Entretanto, um dos maiores problemas do feijão é representado pela baixa digestibilidade de suas proteínas e reduzida concentração de aminoácidos essenciais, sendo a digestibilidade o primeiro fator que afeta a eficiência da utilização protéica da dieta. Quando as ligações peptídicas não são hidrolisadas durante o processo digestivo, parte da proteína torna-se indisponível para absorção e uso pelo organismo.

A medida mais exata da qualidade de uma proteína é a que se realiza no corpo humano, porque a melhor proteína para uma espécie é a da própria espécie. Mas, como isso não é possível, por razões éticas, os ensaios com animais experimentais têm apresentado bons resultados, sobretudo com ratos, que possuem a capacidade de digerir proteínas de forma semelhante ao homem (SARWAR, 1986; BODWELL et al., 1980). Esses ensaios normalmente são

realizados num período de tempo longo e com custos bastante altos, uma vez que necessitam de laboratórios especializados e credenciados por Conselhos de Ética etc. Assim, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas alternativas *in vitro* mais rápidas, mais baratas e suficientemente sensíveis para estimar a digestibilidade *in vivo*.

O objetivo geral do presente trabalho foi, portanto, avaliar o efeito do armazenamento na qualidade protéica das variedades de feijão Aporé, Aruã, A 774, Carioca, Diamante Negro, Ouro Branco, Ouro Negro, Pérola, RAO 33, Rudá e Vermelho Coimbra, do ponto de vista nutricional, bem como avaliar diferentes técnicas de determinação da digestibilidade *in vitro* para estabelecer a melhor correlação com os ensaios *in vivo*. Para isso, os objetivos específicos foram:

- a) Determinar a digestibilidade *in vivo* da proteína de variedades de feijão armazenadas por 30 dias.
- b) Determinar o PER (Protein Efficiency Ratio), o NPR (Net Protein Ratio) e o NPU (Net Protein Utilization) para avaliar a qualidade da proteína das variedades de feijão analisadas.
- c) Avaliar diferentes técnicas de determinação da digestibilidade protéica *in vitro* e determinar sua correlação com a digestibilidade *in vivo*.
- d) Estabelecer uma metodologia que melhor correlacione digestibilidade *in vitro* com ensaios *in vivo*.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Importância nutricional do feijão**

O feijão tem especial importância no Brasil não somente pelo fato de o país ser o maior produtor e consumidor mundial, consumindo de 2,2 a 2,5 milhões de toneladas, com aproximadamente 5 milhões de hectares cultivados, mas também por ser um dos principais alimentos protéicos do povo brasileiro (ROSTON, 1990; GONÇALVES e SOUZA, 1998). A produção de grãos, segundo o IBGE (2003), referente ao ano de 2002, foi de cerca 3.000.000 de toneladas. O feijão é a principal leguminosa fornecedora de proteínas, fazendo parte da dieta diária das classes socioeconômicas de menor renda (ANTUNES et al., 1995); associado ao arroz, forma a base alimentar da população. Esses dois alimentos, quando misturados na proporção adequada, melhoram o valor biológico das proteínas consumidas (VIEIRA, 1992).

A literatura mostra que a porcentagem de proteínas no feijão varia entre 16 e 33%, em diversos tipos de feijões (OSBORN, 1988). MALDONADO e SAMMÁM (2000) verificaram uma variação protéica de 25,1 a 30,2% em cultivares de feijão. A variação da porcentagem de proteínas é dependente não apenas da expressão genética, que controla a síntese e acúmulo de frações

específicas de proteínas, mas também de outros fatores, como aquisição de nutrientes, vigor da planta, maturação e tamanho da semente (OSBORN, 1988).

As proteínas do feijão, assim como as de outras leguminosas, são limitadas quanto aos aminoácidos sulfurados, metionina e cisteína. BLANCO e BRESSANI (1991), ao compararem a composição de aminoácidos de algumas variedades de feijão com a do padrão FAO/OMS (1973), verificaram que, além dos aminoácidos sulfurados, existem outros limitantes, em ordem decrescente: valina, triptofano e treonina.

A metionina é considerada um aminoácido limitante do valor biológico das proteínas do feijão, por ser nutricionalmente essencial para o organismo humano. A cisteína, apesar de não constituir um aminoácido essencial, tem a metionina como um intermediário na sua biossíntese, tornando, assim, esse aminoácido ainda mais limitante (SGARBIERI e WHITAKER, 1982). A proteína do feijão é rica em leucina e lisina e contém grande quantidade de ácido glutâmico, glutamina, ácido aspártico e asparagina (CHANG e SATTERLEE, 1981).

A deficiência de aminoácidos sulfurados, isoladamente, não parece ser o único fator limitante do valor nutritivo de leguminosas cozidas, pois não se observa correlação entre o conteúdo de aminoácidos sulfurados e o valor nutritivo dessas leguminosas, em termos de PER. Isso pode ser atribuído à baixa digestibilidade das proteínas de leguminosas e à biodisponibilidade dos aminoácidos após o cozimento (LIENER, 1976). Para que esses aminoácidos sejam completamente utilizados por humanos, alguns fatores antinutricionais, potencialmente tóxicos, precisam ser removidos, ou destruídos, usualmente pelo calor (SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

O valor nutritivo da proteína de grãos de *Phaseolus vulgaris* L. é aumentado pelo processamento térmico, especialmente pelo calor úmido. Isso decorre, provavelmente, da desnaturação das proteínas e dos fatores antinutricionais de natureza protéica, já que para exercer os seus efeitos biológicos *in vivo* tais fatores precisam manter sua integridade estrutural. Além disso, o aumento do valor nutricional pode ser resultante de maior acessibilidade

das proteínas do feijão ao ataque enzimático, devido à desnaturação térmica. O processo térmico deve garantir suficiente inativação dos fatores antinutricionais, ao mesmo tempo que previne a degradação de aminoácidos essenciais (POEL et al., 1990).

O feijão cozido é considerado uma das melhores fontes vegetais de tiamina, piridoxina, niacina e ácido fólico, porém contém baixos níveis de vitaminas lipossolúveis e ácido ascórbico. Entretanto, pouco é conhecido a respeito da biodisponibilidade das vitaminas e de sua interação com outros componentes da dieta. Embora o feijão possua conteúdo elevado de muitos minerais essenciais, sua biodisponibilidade é menor que a de produtos de origem animal, em virtude da presença de fatores antinutricionais, como compostos fenólicos, oxalatos e fibras (SATHE et al., 1984b; GEIL e ANDERSON, 1994).

Os feijões possuem quantidades apreciáveis de fibras solúveis (pectinas, gomas e galactanas), que apresentam efeito hipocolesterolemizante e hipoglicemizante em humanos. As fibras de cereais não apresentam tal propriedade. As fibras do feijão, embora interfiram negativamente na absorção de alguns minerais, contribuem para o funcionamento gastrointestinal normal, graças à sua capacidade de hidratação e fermentabilidade, além de possuírem facilidade para hidratação e troca de cátions superior às fibras dos cereais (SATHE et al., 1984b; GEIL e ANDERSON, 1994).

O feijão é um alimento que preenche as principais recomendações dietéticas para a boa saúde: aumento do consumo de fibras, amido e outros carboidratos complexos e diminuição no consumo de lipídios e sódio. Assim, as importantes instituições internacionais de apoio e promoção da saúde indicam a ingestão diária de uma a duas porções (200 g) de feijão cozido (SATHE et al., 1984a; GEIL e ANDERSON, 1994).

## **2.2. Armazenamento de feijões**

Um fator importante na determinação da qualidade do grão é o prazo decorrido após a colheita do produto. O consumidor brasileiro prefere o feijão de

colheita mais recente, pois sua aceitabilidade é sensivelmente afetada à medida que aumentam os meses de armazenamento.

Em virtude do elevado consumo de feijão no Brasil, surge o problema de armazená-lo de modo a contrabalançar oferta e procura, a fim de estabilizar os preços e, ainda, reduzir as perdas por processamento inadequado.

A qualidade nutritiva do feijão armazenado por longos períodos é menor que a do recém-colhido. Além disso, aquele armazenado perde a qualidade sensorial, requer tempo prolongado para seu cozimento e não fornece um caldo espesso, sendo, assim, menos aceitável pelo consumidor (GARCIA e LAJOLO, 1994; JONES e BOULTER, 1983).

Condições controladas de armazenamento são essenciais para preservar a qualidade do grão, em que o conteúdo de umidade deste, a umidade relativa do ar e a temperatura de armazenamento do produto são os parâmetros mais críticos (ANTUNES e SGARBIERI, 1979). Assim, feijão armazenado em condições não-apropriadas torna-se endurecido e resistente ao cozimento em razão, principalmente, de dois fatores: o endurecimento da casca (“hard-shell”), em que esta se torna impermeável à água, e a dificuldade para cozinhar (“hard-to-cook” ou HTC), em que os grãos são capazes de absorver água, mas os cotilédones não se amaciam durante o cozimento, mesmo quando estão completamente hidratados (GARCIA e LAJOLO, 1994; BRESSANI, 1993; REYES-MORENO e PAREDE e LÓPEZ, 1993).

O fenômeno da casca endurecida é promovido por condições de armazenamento em temperatura elevada e baixa umidade, podendo ser revertido por tratamento hidrotérmico ou escarificação. Esse fenômeno pode estar relacionado com um alto conteúdo de lignina e sílica na casca, promovendo rigidez da casca e tornando o grão impermeável à água (RODRIGUEZ e MENDOZA, 1990).

A condição HTC é irreversível e acelerada por temperatura e umidade de armazenamento elevadas, assim como pela alta umidade do grão (LIU, 1995; SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

Grãos HTC cozidos são caracterizados por limitada separação das células e restrita gelatinização do amido. Tais aspectos defeituosos resultam de propriedades básicas das células do grão HTC que se manifestam durante o cozimento: resistência da pectina da parede celular à degradação e à solubilização e coagulação protéica, que prevalece sobre a gelatinização do amido, pois ambos competem pela água (LIU, 1995).

Para prevenir o desenvolvimento do defeito HTC em feijões, têm-se sugerido diversos procedimentos, como armazenamento em temperatura e umidade apropriadas, pré-tratamento com vapor e desenvolvimento de feijões menos propensos ao endurecimento (REYES-MORENO e PAREDES-LÓPEZ, 1993).

Algumas formas alternativas para utilização dos feijões endurecidos ou envelhecidos são descascamento, extrusão, fermentação no estado sólido e produção de isolados e concentrados protéicos (REYES-MORENO e PAREDES-LÓPEZ, 1993).

ANTUNES e SGARBIERI (1979) estudaram a influência das condições de armazenamento do feijão seco *Phaseolus vulgaris*, var. Rosinha G2, por seis meses. As condições de armazenamento foram as seguintes: A) 12 °C e 52% de umidade relativa (UR); B) 25 °C e 65% de UR; e C) 37 °C e 76% de UR. A capacidade de hidratação dos feijões permaneceu constante nas condições de A, aumentou um pouco nas condições de C e decresceu para menos de 50% da original nas condições de B. Mudanças nas percentagens de tegumento duro foram inversamente proporcionais à capacidade de hidratação.

O tempo de cozimento aumentou de 60 minutos para 95, 116 e 300 minutos, nas condições de A, B e C, respectivamente. O PER caiu de 1,01 para 0,66; 0,43; e 0,1, nas condições de A, B e C, respectivamente. A principal causa da queda do PER foi o decréscimo na disponibilidade de aminoácidos sulfurados. A disponibilidade da metionina caiu de 46,3 para 43,1% e de 38,2 para 27,6%, enquanto a disponibilidade da cistina decresceu de 51,6% para 45,8 e de 43,0 para 30,0%, nas condições de A, B e C, respectivamente. A digestibilidade das proteínas mudou de 62,4 para 58,9 e de 57,1 para 54,4%, nas condições de A, B e

C, respectivamente. A adição de 3% de metionina, em base protéica, aos feijões armazenados por seis meses nas condições de A, B e C aumentou o PER de 0,66%; 0,43; e 0,10% para os valores percentuais de 2,4; 2,46; e 2,40, respectivamente, sem afetar, com elevada significância, a digestibilidade das proteínas. Assim, ficou evidente que, além da perda de atributos comerciais, organolépticos e de cozimento, o armazenamento prolongado e impróprio do feijão pode também causar um decréscimo marcante no valor biológico da proteína em razão, principalmente, do decréscimo da disponibilidade biológica do aminoácido essencial mais limitante, a metionina (SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

A influência do armazenamento sobre alterações químicas e biológicas do feijão foi estudada por Durigan (1979), citado por SGARBIERI e WHITAKER (1982), para *Phaseolus vulgaris*, variedade mulatinho, o qual foi armazenado a 21 °C, com umidade relativa variando de 71 a 80%, durante um período de oito meses de armazenamento. A solubilidade e a digestibilidade da proteína não mudou apreciavelmente, mas a lisina disponível caiu de 8,17 para 4,87 e 4,18%, respectivamente, para os grãos armazenados de 71 e 80% de UR. A disponibilidade de metionina passou de 42,9 para 22,5 e 22,4% após quatro meses e para 19,1 e 18,9% após oito meses de armazenamento, a 71 e 80% de UR, respectivamente. O PER passou de 1,27 para 0,66 e 0,18 a 71% de UR após quatro e oito meses, respectivamente.

O decréscimo no valor biológico da proteína de feijão devido ao armazenamento está associado ao tratamento térmico necessário para cozinhar o feijão antes do consumo. O cozimento de feijões secos é necessário não somente para amaciar o tegumento da semente e os cotilédones, como também para desenvolver sabor e textura aceitáveis, eliminar fatores tóxicos e tornar a proteína do feijão mais digerível e nutricionalmente mais disponível (SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

### 2.3. Digestibilidade das proteínas do feijão

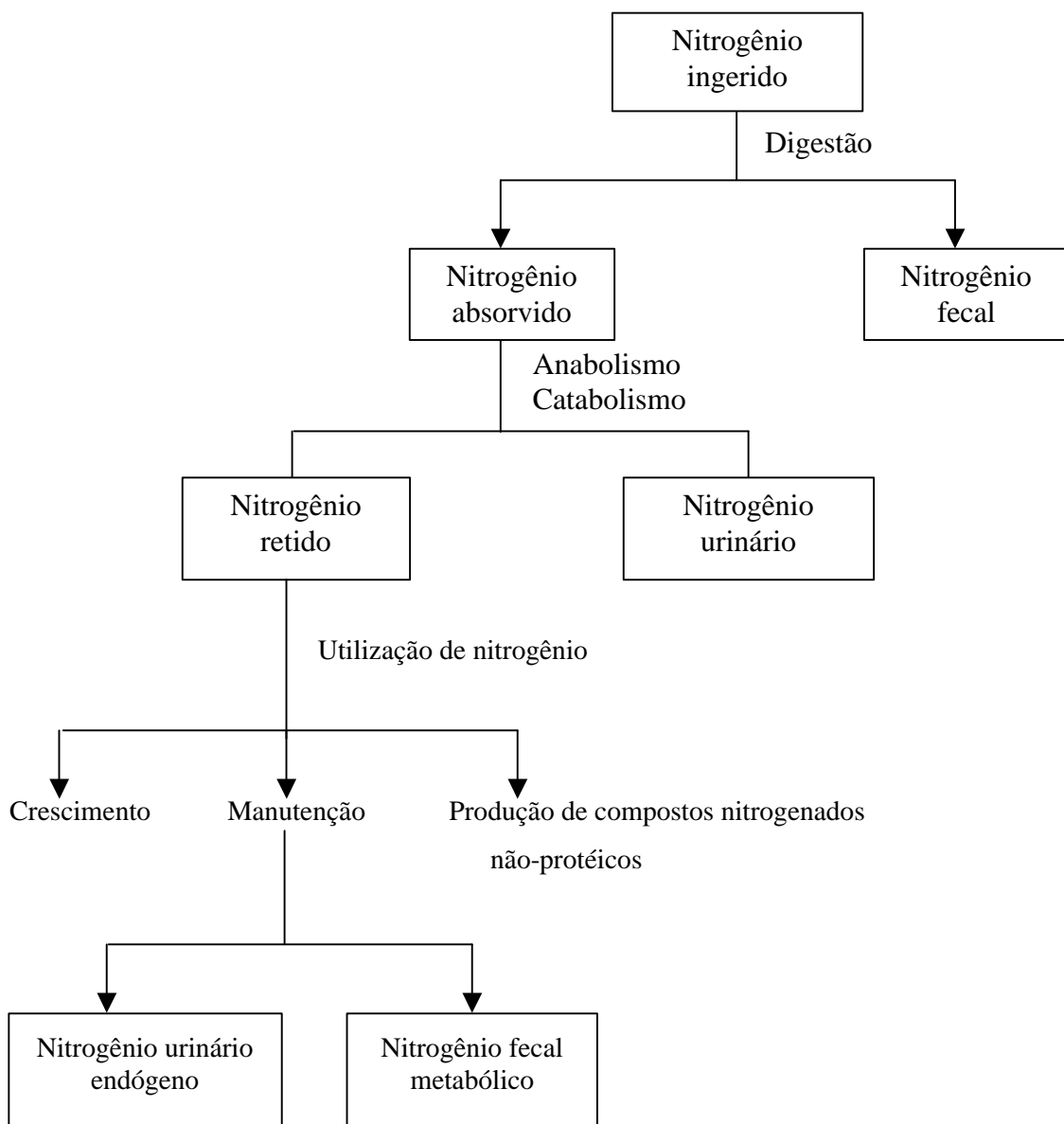
A principal função da proteína na dieta é suprir o organismo de aminoácidos essenciais em quantidades adequadas para a síntese e manutenção dos tecidos corporais (HERNÁNDEZ et al., 1996). Isso pode ser avaliado pela concentração de aminoácidos e pela digestibilidade da proteína (BLANCO e BRESSANI, 1991).

A digestão adequada de um nutriente não assegura a sua absorção, e sua absorção não garante que seja possível sua utilização em uma função fisiológica pelo organismo. Assim, a determinação da digestibilidade protéica de um alimento e de sua utilização pelo organismo é um fator importante para estimar a sua qualidade protéica (HERNÁNDEZ et al., 1996). Na Figura 1, mostra-se um diagrama representativo da digestão, absorção, retenção e utilização de proteínas pelo organismo.

A medida mais exata da qualidade de uma proteína é a que se realiza num organismo vivo, por isso o corpo humano é o melhor organismo-teste. Por razões éticas e práticas, isso não é possível, pois ensaios com animais experimentais evidenciaram bons resultados, sobretudo com ratos, que têm a capacidade de digerir proteínas de forma semelhante ao homem (SARWAR e PEACE, 1986; BODWELL et al., 1980). Uma alternativa seriam os diversos métodos *in vitro* que apresentam boa correlação com os valores encontrados nos animais de experimentação e no homem.

Ensaio para verificar o grau de digestibilidade protéica são realizados *in vivo* utilizando animais experimentais normalmente são demorados, trabalhosos e caros, pois necessitam de animais e de locais apropriados para a criação e realização dos experimentos, além de pessoal especializado.

Diante disso, é muito importante o desenvolvimento de técnicas alternativas *in vitro*, mais rápidas, mais baratas e suficientemente sensíveis para prever a digestibilidade *in vivo*.



Fonte: BRESSANI (1989)

Figura 1 – Diagrama representativo da digestão, absorção, retenção e utilização de proteínas pelo organismo.

Todas as técnicas de medidas de digestibilidade *in vitro* se baseiam em digerir a amostra com enzimas proteolíticas em condições padronizadas. A diferença básica entre os métodos são a quantidade e natureza das enzimas, a combinação de enzimas utilizadas e a medida final, que se realiza para quantificar a digestibilidade (HERNÁNDEZ et al., 1996).

Os primeiros métodos de determinação da digestibilidade *in vitro* eram caros, de longa duração, não tinham boa aplicação em controle de qualidade e não se correlacionavam bem com sistemas *in vivo*. Baseados nessa observação e em outros métodos, HSU et al. (1977) desenvolveram uma metodologia rápida e sensível para determinar a digestibilidade de proteínas, com base na medida de pH (durante 10 minutos), que correlaciona velocidade inicial de proteólise e digestibilidade. A equação de regressão obtida dos valores *in vivo* e *in vitro* permite prever a digestibilidade. A correlação desse método com ensaios *in vivo* é baixa. Objetivando a obtenção de melhor estimativa da digestibilidade, SATTERLEE et al. (1979), modificando o método realizando uma segunda incubação da amostra com enzimas proteolíticas, determinaram o pH 20 minutos depois de ter iniciado a incubação.

A atividade catalítica de uma enzima depende da integridade da sua conformação protéica nativa. Assim, as estruturas protéicas primárias, secundárias, terciárias e quaternárias das enzimas são essenciais para o exercício da atividade catalítica. Dentre outros fatores, o valor de pH afeta a atividade enzimática, e cada enzima tem um pH ótimo ou uma região de pH ótimo no qual sua atividade é máxima. Em valores de pH maiores ou menores, sua atividade diminui, porque as cadeias laterais de alguns aminoácidos agem como ácidos ou bases fracas e realizam funções críticas no sítio ativo das enzimas. A mudança no estado de ionização desses grupamentos é uma das razões para a variação na atividade da enzima (STRYER, 1996).

Devido ao fato de serem as enzimas pH dependentes, a queda do pH durante o tempo de medida da análise, ou seja, 10 minutos, poderia modificar sua atividade e, assim, a proteólise seria baixa não somente porque a amostra seria de difícil digestão, mas devido à queda da atividade da enzima proteolítica.

Baseados nisso, PEDERSEN e EGGUM (1983) desenvolveram um método para determinar a digestibilidade protéica, utilizando as mesmas condições experimentais que HSU et al. (1977), porém mediram o volume de NaOH 0,1 N consumido pela amostra para manter o pH constante durante os primeiros 10 minutos de digestão enzimática. A equação de regressão obtida dos valores *in vivo* e *in vitro* permite predizer uma melhor correlação com os ensaios *in vivo*.

A partir de análises dos três métodos anteriores, foi desenvolvido uma metodologia que utilizava as mesmas condições experimentais de PEDERSEN e EGGUM (1983), acrescidas de um fator de hidrólise da proteína-padrão, a caseína, de 0,03 unidade de pH/minuto, independentemente do tempo total de duração da análise. Esse fator possibilita a realização da análise durante o tempo em que a enzima se encontra ativa, que pode ser antes ou depois de 10 minutos. Assim, o titulante NaOH só será adicionado quando o pH baixar 0,03 unidade do pH inicial, durante um minuto. Dessa forma, a análise só é interrompida quando a enzima não apresentar mais atividade.

Basicamente, as proteínas estudadas pelos métodos da queda do pH durante 10 e 20 minutos e o volume de titulante consumido são, em geral, proteínas com boa digestibilidade, de forma que pouco se sabe sobre o funcionamento desses métodos para proteínas de baixa digestibilidade, a exemplo das proteínas de leguminosas como o feijão.

A digestibilidade das proteínas do feijão, quando comparada com a de origem animal, ou mesmo de vegetais, é geralmente baixa, afetando a utilização da sua proteína (RODRIGUES, 1995). A digestibilidade da proteína corresponde à fração do nitrogênio ingerido que o animal absorve. O nitrogênio absorvido é obtido pela diferença entre o nitrogênio ingerido e aquele que aparece nas fezes. A digestibilidade, assim calculada, é considerada aparente, por não se levar em conta o nitrogênio eliminado nas fezes como resultado da descamação do tubo digestivo, dos sucos e das secreções da flora intestinal, que se constituem em perdas inevitáveis de nitrogênio (TAGLE, 1981).

Para determinar a digestibilidade verdadeira, é necessário corrigir a quantidade de nitrogênio fecal excretado quando o indivíduo consome uma dieta livre de proteína (FAO/WHO, 1991).

Métodos biológicos (Protein Efficiency Ratio – PER, Net Protein Ratio – NPR, Net Protein Utilization – NPU e Digestibilidade) têm sido frequentemente usados para avaliar a qualidade protéica (TOBIN e CARPENTER, 1978; ROCKLAND e RADKE, 1981; SGARBIERI, 1989; MARQUEZ e LAJOLO, 1990; MARLETTA et al., 1992; WU WU et al., 1996) e baseiam-se na resposta de um organismo à ingestão da proteína em estudo.

As diversas fontes de proteínas alimentares apresentam diferente qualidade nutricional e diferem quanto à sua capacidade de suprir os requerimentos protéicos humanos, segundo as necessidades do organismo.

Grãos de leguminosas constituem uma importante fonte de proteína dietética para grandes segmentos da população mundial. Porém, seu valor nutritivo está limitado, devido à baixa digestibilidade da proteína (MENDEZ et al., 1993).

Os alimentos de origem animal apresentam maior digestibilidade do que os de origem vegetal. E o fato de os alimentos de origem animal não conterem fibra alimentar faz com que a velocidade de trânsito intestinal seja mais lenta e, em consequência, obtenha-se maior absorção dos nutrientes (HERNANDEZ et al., 1984).

BOONSIVUT e WHITAKER (1976) acrescentaram que a estrutura terciária da proteína afeta a digestibilidade e que essa estrutura pode não ser facilmente destruída pelo tratamento térmico. Os aminoácidos contidos na porção não-digerível das proteínas não estarão disponíveis para as reações do metabolismo celular.

VARGAS et al. (1984) citaram que as dietas de origem vegetal, especialmente quando contêm leguminosas, apresentam digestibilidade de nitrogênio muito baixa, da ordem de 50 a 70%. Acrescentaram, ainda, que a baixa digestibilidade do nitrogênio constitui um dos principais fatores que limitam a utilização da proteína de dietas de origem vegetal, em particular as que

incluem leguminosas, e que não se conhecem a fundo as causas dessa baixa absorção de nitrogênio. Esses mesmos autores mencionaram que algumas causas podem ser inerentes ao alimento, por exemplo a presença de fatores antinutricionais como inibidores de tripsina e de amilase, saponinas e compostos fenólicos ou fatores externos como processamento e armazenamento, entre os quais se destacam o tipo e a forma de tratamento térmico aplicado, assim como o tempo e o modo de armazenamento.

O teor protéico do feijão varia de 20 a 25%. As globulinas e as albuminas são as principais frações protéicas do feijão e variam com as espécies e o cultivar. As globulinas são de reserva nutricional, enquanto as albuminas são, principalmente, enzimas ligadas ao metabolismo celular (SGARBIERI, 1989).

As proteínas do tipo globulina constituem a maioria no feijão, ao passo que as albuminas estão aí presentes em menor quantidade; juntas, representam mais de 80% do nitrogênio total do grão. A proporção entre globulinas e albuminas varia com o tipo de feijão. Os dados relativos à proporção entre globulinas e albuminas, nos diversos tipos de feijão, evidenciam que as primeiras representam de 46 a 81% das proteínas, enquanto as albuminas correspondem entre 15 e 31% do total (COELHO, 1991).

A digestibilidade de proteínas de feijão varia de 50 a 80%, sendo tipicamente menor que a de cereais (70 a 90%) e de produtos de origem animal (80 a 95%) (NAVARRETE et al., 1981; BRESSANI et al., 1983). A sua baixa digestibilidade é considerada o principal fator responsável pelo baixo valor nutritivo de feijões (HUGHES, 1991).

Estudos *in vitro* indicaram que a digestibilidade do feijão-comum situou-se entre 76,8 e 84,1%, apresentando-se diminuída quando a pigmentação do grão aumentou. Os pigmentos são, em geral, compostos fenólicos que podem interagir com proteínas do feijão, diminuindo sua digestibilidade e utilização (AW e SWANSON, 1985).

As proteínas de feijão apresentam, normalmente, digestibilidade reduzida quando no estado nativo e, em geral, maior após o tratamento térmico (WU et al., 1984).

Estudos realizados com proteínas do feijão indicam, porém, que a digestibilidade é limitada, mesmo após o tratamento térmico, talvez pela presença de outros componentes da semente, como inibidores de proteases termoestáveis e polifenóis, que interagiriam com as proteínas do feijão, formando complexos e diminuindo, assim, a sua suscetibilidade à hidrólise (NIELSEN, 1991).

O feijão cozido tem valor nutricional baixo, como consequência de fatores antinutricionais remanescentes, que estariam afetando a digestibilidade da proteína e sua conhecida deficiência natural de aminoácidos sulfurados. Postula-se, ainda, que a digestibilidade aparente pode estar relacionada com a estrutura da proteína, visto que os fatores antinutricionais são termolábeis e, portanto, destruídos ou inativados parcial ou totalmente pela cocção (FUKUDA et al., 1982).

O conteúdo de proteína fecal de ratos alimentados com dieta livre de proteína e dieta à base de caseína foi de 7,1 e 7,9%, respectivamente; já o de ratos que se alimentaram com dieta à base de feijão cru foi de 43,8%, enquanto o de ratos alimentados com dieta composta de feijão termicamente processado foi intermediário, ou seja, 25,6 a 36% (WU et al., 1995).

MARQUEZ e LAJOLO (1981) constataram aumento significativo na digestibilidade *in vitro* após a cocção do feijão durante 30 minutos a 121 °C. Os valores de 17 a 40% de digestibilidade apresentados pelo feijão cru aumentaram para 69 e 72% após o cozimento.

BRESSANI (1993) apontou a reduzida digestibilidade das proteínas do feijão e de outras leguminosas como multicausal, havendo fatores ligados a casca, taninos, cotilédones, proteínas, fitatos, inibidores de proteases e processamento e armazenamento.

Pode-se, de qualquer forma, dizer que o problema está centrado na estrutura das moléculas protéicas, na maneira como elas interagem entre si e com outros componentes e no modo como essas interações ocorrem.

## **2.4. Fatores que interferem na digestibilidade das proteínas de feijão**

### **2.4.1. Inibidores de proteases**

O baixo valor nutritivo de certos grãos comestíveis crus, como feijão ou soja, é usualmente atribuído à presença de um número de fatores tóxicos não-estáveis ao calor, incluindo inibidores de tripsina e hemaglutininas.

Os inibidores são substâncias antinutritivas que se encontram amplamente distribuídas em alimentos de consumo habitual. Esses inibidores estão amplamente distribuídos na natureza, encontrando-se tanto em alimentos de origem vegetal quanto de origem animal (BURNS, 1987). De forma geral, definem-se como aqueles compostos que estão presentes de forma natural em alguns alimentos e atuam provocando uma perda de nutrientes essenciais ou interferindo em sua utilização e função metabólicas. Os inibidores de proteases enquadram-se dentro dos fatores antinutricionais, que são inibidores enzimáticos. São substâncias de natureza protéica que interferem na atividade de sistemas enzimáticos do trato digestivo, inibindo proteases, que são enzimas que hidrolisam as ligações peptídicas como primeiro passo para a assimilação das proteínas. Essa inibição se traduz, *in vivo*, numa redução da digestão protéica e, conseqüentemente, da assimilação de proteínas (PARTEARROYO et al., 1995).

Os principais inibidores de proteases são o inibidor de tripsina e o inibidor de quimotripsina, apresentando, ambos, um modo de ação particular (ANNAPURNA e PRASAD, 1991).

O feijão, assim como as leguminosas em geral, contém inibidores das proteases digestivas humanas, tripsina e quimotripsina. Dessa forma, eles podem interferir na digestibilidade de proteínas da dieta, retardar o crescimento e produzir hipertrofia do pâncreas. Porém, o aquecimento destrói parcialmente esses inibidores e melhora o valor nutritivo das proteínas de leguminosas (WU e WHITAKER, 1991).

Os inibidores de tripsina e quimotripsina concentram-se no grão. Em geral, essas proteínas apresentam baixa qualidade nutricional em razão de sua composição aminoacídica peculiar: teores reduzidos de metionina, glicina,

valina, fenilalanina, tirosina e triptofano. São, particularmente, resistentes à desnaturação, com a ressalva de que alguns podem apresentar atividade mista, inibindo tanto a tripsina quanto a quimotripsina (SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

Os inibidores de tripsina e quimotripsina estão divididos em dois grupos: a) moléculas com massa molecular por volta de 20.000 Da e duas pontes de enxofre e possuindo especificidade para tripsina; b) moléculas com massa molecular de 8.000 Da com sete pontes de enxofre e possuindo capacidade de inibir tripsina e quimotripsina em sítios de ligação independentes. O primeiro é conhecido como inibidor de Kunitz (KTI) e, o segundo, como inibidor Bowman-Birk (BBI) (LIENER, 1994).

O cozimento elimina, em larga escala, a atividade antitripsina em extratos de cotilédones. O remanescente, ou atividade resistente ao calor, pode ser atribuída à presença de polifenóis, embora a destruição incompleta dos verdadeiros inibidores de tripsina deve ser considerada (FERNANDEZ et al., 1982).

#### **2.4.2. Pigmentos**

Os pigmentos são, geralmente, compostos fenólicos que podem interagir com as proteínas do feijão, decrescendo a sua digestibilidade e utilização. Os polifenóis encontram-se nas plantas como metabólitos secundários, raramente ativos. Sua habilidade de formar compostos complexos e de precipitar as proteínas faz com que sejam importantes do ponto de vista nutricional (BRESSANI et al., 1991). Em alimentos, os compostos fenólicos podem ocorrer de muitas formas, como ácidos fenólicos monoméricos e polifenóis polimerizados, ou seja, taninos (BRUNE et al., 1991).

As características e o efeito das ligações entre proteína e polifenóis dependem do tipo de interação, co-valente ou não-covalente. Ligações não-covalentes podem ocorrer em pH ácido ou neutro e são reversíveis. Os polifenóis que podem sofrer essas ligações são, principalmente, os polifenóis poliméricos

ou taninos, embora polifenóis monoméricos ou não-taninos também possam se ligar não-covalentemente às proteínas. As interações co-valentes entre polifenóis e proteínas, juntamente com uma série de transformações enzimáticas, contribuem para o fenômeno de escurecimento. Tais interações são irreversíveis e, caso aminoácidos essenciais estejam envolvidos nas ligações com polifenóis, haverá um decréscimo no valor nutricional do alimento, além de alterações nas qualidades sensoriais (HERNÁNDEZ et al., 1991).

Além da formação de complexos com proteínas, tornando-as indisponíveis, os polifenóis podem inibir enzimas digestivas (STANLEY e AGUILERA, 1985). Os polifenóis, dentre os fatores antinutricionais, são os que mais contribuem para a baixa digestibilidade do feijão em animais e humanos. Isso pode ser explicado pela formação de complexos entre os polifenóis e proteínas, os quais são insolúveis e de baixa digestibilidade, tornando a proteína parcialmente indisponível ou através da inibição das enzimas digestivas e, conseqüentemente, do aumento do nitrogênio fecal (BRESSANI e ELIAS, 1980).

De acordo com BRESSANI e ELIAS (1984), os feijões brancos são de melhor digestibilidade que os de cor escura. O feijão-preto apresentou a menor digestibilidade.

Segundo HERNÁNDEZ et al. (1984), os feijões secos sem a água de cocção apresentaram digestibilidade maior do que aqueles com a água de cocção, já que durante a cocção grande parte dos taninos são carregados para o líquido de cocção.

DUARTE (1995) verificou que o desempenho nutricional do feijão-preto melhorou com a retirada de sua casca, o que foi evidenciado pelos valores de NPU (Net Protein Utilization), NPR (Net Protein Ratio) e digestibilidade, e a cada aumento no teor de casca havia redução na sua qualidade protéica. Isso indica que os pigmentos presentes na casca do feijão-preto reduzem a qualidade das proteínas do feijão e da caseína.

Apesar dos efeitos negativos dos pigmentos sobre a digestibilidade das proteínas, verificou-se o seu efeito benéfico como agentes oxidativos. TSUDA et al. (1994) evidenciaram que os extratos preparados da casca de feijão-preto e

feijão-vermelho exibiam forte atividade antioxidativa. Assim, segundo eles, a casca pode ter papel de proteção química à oxidação, por possuírem antioxidantes endógenos, como compostos fenólicos. Dessa forma, os pigmentos poderiam ser usados tanto para colorir naturalmente alimentos quanto para aumentar a vida de prateleira destes.

### 2.4.3. Carboidratos

A composição total de carboidratos do feijão varia de 60 a 65% em relação à massa total. O amido é a principal forma de armazenamento de carboidratos em feijões com pequenas quantidades de monossacarídeos e dissacarídeos, como a sacarose. Oligossacarídeos estão presentes em leguminosas, incluindo rafinose, estaquiose e verbascose (GEIL e ANDERSON, 1994). Outros carboidratos comuns incluem substâncias pécticas, arabinogalactanos e xiloglucanos (REDDY et al., 1984; SATHE e SALUNKE, 1985).

Os açúcares rafinose e estaquiose requerem a enzima  $\alpha$ -galactosidase para hidrólise. Como o sistema digestivo humano não contém  $\alpha$ -galactosidase, esses compostos permanecem não digeridos e sujeitos à fermentação microbiana anaeróbica, resultando em produção de gás e flatulência (GEIL e ANDERSON, 1994).

Vale ressaltar também que o feijão contém uma quantidade substancial de carboidratos associados à fibra na forma de celulose e hemicelulose, o que varia de 3 a 7% da matéria seca em feijões cozidos (GEIL e ANDERSON, 1994). A fibra alimentar pode ser definida como resíduos das células vegetais resistentes à hidrólise pelas enzimas digestivas do homem. É composta de celulose, hemicelulose, oligossacarídeos, pectinas, gomas, mucilagens e lignina (TROWELL e BURKITT, 1986).

Tem-se dado mais ênfase à digestibilidade do amido de leguminosas tanto *in vivo* quanto *in vitro* (SHURPALEKAR et al., 1979a; SHURPALEKAR et

al.,1979b) e ao seu efeito fisiológico no metabolismo dos outros componentes de alimentos, como proteínas e lipídios (SHURPALEKAR et al., 1979b).

O carboidrato ligado à proteína do feijão tem efeito negativo na sua digestibilidade, pois o mesmo pode bloquear o acesso da quimotripsina e tripsina nas regiões específicas de digestão (CHANG e SATERLLE, 1981); assim, a deglicosilação facilita a hidrólise enzimática de proteínas em geral (SEMINO et al., 1985).

#### **2.4.4. Fibra alimentar**

A fibra alimentar é definida como o resíduo alimentar resistente à hidrólise por enzimas gastrointestinais. As fibras alimentares são classificadas em dois grupos: solúveis (pectinas, algumas hemiceluloses e outros polissacarídios) e insolúveis (lignina, celulose e algumas hemiceluloses). Com exceção da lignina, que é um polímero polifenólico, os demais constituintes das fibras são classificados como carboidratos (OLSON et al., 1987; HUGHES e SWANSON, 1989).

Segundo KRITCHEVSKY (1988), a fibra pode modificar e diminuir a digestibilidade das proteínas, por aumentar a excreção de nitrogênio.

No intestino, a fibra alimentar altera o metabolismo bacteriano e, como consequência, o metabolismo de nitrogênio é alterado (MASON, 1984). A fração insolúvel da fibra alimentar, por causa da sua baixa degradação pela microflora, aumenta o volume e a excreção do nitrogênio fecal, em virtude de uma excreção aumentada da proteína ligada à parede celular. Contrário a isso, nota-se que a fração solúvel da fibra alimentar aumenta o volume e o nitrogênio fecal, por causa de uma excreção elevada de nitrogênio microbial. O efeito total de ambos os mecanismos constitui-se na diminuição da digestibilidade aparente da proteína (EGGUM, 1992).

A fibra não é absorvida pelas células do intestino delgado e, portanto, não é fonte energética para o ser humano. Ela passa diretamente para o intestino grosso e atua na capacidade de hidratação e aumento do volume fecal e na

velocidade de trânsito do bolo alimentar. A fibra alimentar pode ser atacada pela microbiota intestinal, produzindo produtos metabólicos como ácidos acético, láctico, propiônico e butírico. Quando esses ácidos são produzidos em grandes quantidades, eles atuam como laxativos ou podem até provocar diarreias. Além das funções de atuarem na regulação das funções intestinais como trânsito do bolo intestinal e do volume fecal, as fibras alimentares agem na prevenção de doenças, como diverticulite, constipação, hiperlipidemia, hiperglicemia e câncer do intestino grosso (HUGHES e SWANSON, 1989; GEIL e ANDERSON, 1994).

As mudanças químicas básicas no conteúdo de fibra do alimento durante o cozimento continuam obscuras. A fração amilose do amido é inicialmente responsável pelo comportamento físico-químico do sistema amido-água. O conteúdo de amilose nos amidos de feijão-comum varia de 10,2 até cerca de 42% (REYES-MORENO e PAREDEZ-LOPEZ, 1993). A formação de amido resistente, complexo amilose-lipídio e produtos da reação de Maillard tem sido considerada como contribuinte para o aumento da fibra alimentar (Bjork et al., 1984, citados por REYES-MORENO e PAREDEZ-LOPEZ, 1993).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Enzimologia do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde (DNS), ambos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

#### **3.1. Material genético**

As amostras de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizadas foram dos seguintes grupos: Carioca (Carioca, Aporé, Aruã, Pérola e Rudá), Preto (Diamante Negro e Ouro Negro), Branco (Ouro Branco), Mulatinho (A774), Roxo (RAO 33) e Vermelho (Vermelho Coimbra), fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA – Arroz e Feijão), localizada em Goiânia, GO, e armazenados por 30 dias em temperatura ambiente.

#### **3.2. Preparo da farinha de feijão**

Para obtenção da farinha de feijão cozido, com casca, inicialmente foi realizada uma seleção manual dos grãos para eliminação de impurezas e sujidades. Posteriormente, os grãos foram limpos e coccionados em água, na

proporção de 1:1,5 (p/v), em panela de pressão doméstica, durante 40 minutos. Após o cozimento, foram secados em estufa de ar circulante (24 h/60 °C), sendo, em seguida, moídos em moinho de facas marca Elo's, utilizando-se peneiras de 20 *mesh*.

### **3.3. Determinação de proteína**

A determinação de proteínas foi efetuada segundo o método de semimicro Kjeldahl, para quantificação de nitrogênio total, descrito pela ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC (1984). No cálculo da conversão do nitrogênio em proteínas foi utilizado o fator 6,25.

### **3.4. Ensaio biológico**

#### **3.4.1. Preparo das dietas**

Foram preparadas uma dieta aprotéica e uma dieta de caseína (padrão) mais outras 11 dietas experimentais, cujas fontes protéicas foram os feijões Aporé, Aruã, A 774, Carioca, Diamante Negro, Ouro Branco, Ouro Negro, Pérola, RAO 33, Rudá e Vermelho Coimbra, armazenados por 30 dias, conforme apresentado no Quadro 1.

A composição das misturas mineral e vitamínica é mostrada nos Quadros 2 e 3, respectivamente.

O teor de nitrogênio da ração foi determinado pelo método semimicro Kjeldahl, sendo usado o fator 6,25 para obtenção do teor de proteína.

Planejou-se para as dietas um teor de 9 a 10% de proteína, 5% de lipídios, 1% de mistura vitamínica, 3,5% de mistura salina e 0,2% de cloreto de colina e amido para completar 100%; para homogeneização foi utilizada uma batedeira industrial da marca Lieme. Após o preparo das dietas, determinou-se o teor de proteína de cada uma, conforme item 3.3, as quais foram acondicionadas em sacos de polietileno devidamente rotulados e armazenados a 4 °C.

Quadro 1 – Composição das dietas utilizadas no experimento com ratos (g/100 g de mistura)

Ingredientes	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13
Farinha de feijão Aporé <sup>1</sup>	39,06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de feijão Aruã <sup>1</sup>	-	47,81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de feijão Rudá <sup>1</sup>	-	-	53,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de feijão Ouro Branco <sup>1</sup>	-	-	-	47,45	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de feijão Carioca <sup>1</sup>	-	-	-	-	52,37	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de feijão Pérola <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	47,66	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de feijão RAO 33 <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	49,63	-	-	-	-	-	-
Farinha de feijão A 774 <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-	49,29	-	-	-	-	-
Farinha de feijão Verm. Coimbra <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	44,20	-	-	-	-
Farinha de feijão Ouro Negro <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55,81	-	-	-
Farinha de feijão Diamante Negro <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43,43	-	-
Caseína <sup>2</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,98	-
Mistura salínica <sup>2,*</sup>	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica <sup>2,*</sup>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Óleo de soja <sup>3</sup>	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
Bitartarato de colina <sup>2</sup>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Amido de milho (q.s.p.) <sup>3</sup>	20,69	11,94	6,71	12,30	6,38	12,09	10,12	10,46	15,55	3,94	16,32	42,47	64,75
L-cistina <sup>2</sup>	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Fibra alimentar (celulose) <sup>2</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	5,0
Amido de milho dextrinizado <sup>2</sup>	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2
Sacarose <sup>3</sup>	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0

<sup>1</sup> Farinha produzida a partir das amostras de feijão analisadas.

<sup>2</sup> Obtido da RHOSTER – Indústria e Comércio Ltda.

\* Segundo REEVES et al. (1993).

<sup>3</sup> Obtido no comércio de Viçosa, MG.

Quadro 2 – Composição da mistura mineral (AIN-93G-MX) usada no preparo das dietas no experimento com ratos em g/kg da mistura

Ingredientes	Quantidade
<b>Elementos minerais essenciais</b>	
Carbonato de cálcio anidro (40,04% Ca)	357,00
Fosfato de potássio monobásico (22,76% P; 23,73% K)	196,00
Citrato de potássio, 3-potássio, monoidratado (36,16% K)	70,78
Cloreto de sódio (39,34% Na; 60,66% Cl)	74,00
Sulfato de potássio (44,87% K; 18,39% S)	46,60
Óxido de magnésio (60,32% Mg)	24,00
Citrato de ferro (16,5% Fe)	6,06
Carbonato de zinco (52,14% Zn)	1,65
Carbonato de manganês (47,79% Mn)	0,63
Carbonato de cobre (57,47% Cu)	0,30
Iodato de potássio (59,3% I)	0,01
Selenato de sódio anidro (41,79% Se)	0,01025
Paramolibdato de amônio tetraidratado (54,34% Mo)	0,00795
<b>Elementos minerais potencialmente benéficos</b>	
Metassilicato de sódio 9-hidrato (9,885 Si)	1,45
Sulfato de cromo e potássio 12-hidrato (10,42% Cr)	0,275
Cloreto de lítio (16,38% Li)	0,0174
Ácido bórico (17,5% de B)	0,0815
Fluoreto de sódio (45,24% F)	0,0635
Carbonato de níquel (45% Ni)	0,0318
Vanadato de amônio (43,55% V)	0,0066
Sacarose	221,026

Fonte: REEVES et al. (1993).

Quadro 3 – Composição, em g/kg, da mistura vitamínica (AIN-93G-VX) usada no preparo das dietas no experimento com ratos

Ingredientes	Quantidade
Ácido nicotínico	3,000
Pantotenato de cálcio	1,600
Piridoxina-HCl	0,700
Tiamina-HCl	0,600
Riboflavina	0,600
Ácido fólico	0,200
D-Biotina	0,020
Vitamina B12 (cianocobalamina: 0,1% em manitol)	2,500
Vitamina E (all-rac- $\alpha$ -acetato de tocoferila: 500 UI/g)	15,00
Vitamina A (all-trans-palmitato de retinil: 500.000 UI/g)	0,800
Vitamina D (colecalfiferol: 400.000 UI/g)	0,250
Vitamina K (filoquinona)	0,075
Sacarose	974,655

Fonte: REEVES et al. (1993).

### 3.4.2. Animais

Foram utilizados 78 ratos machos, raça Wistar, recém-desmamados, com média de 23 dias de idade, peso variando de 50 a 60 g, provenientes do biotério do Departamento de Nutrição e Saúde (DNS) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Os animais foram divididos em 13 grupos com seis animais cada, de modo que a média dos pesos entre os grupos não excedesse a 5 g. Os ratos foram colocados em gaiolas individuais, onde receberam água e suas dietas experimentais *ad libitum*, por 14 dias. Os animais foram mantidos em condições de temperatura de  $22 \pm 3$  °C, sendo o monitoramento do consumo alimentar realizado semanalmente.

### 3.4.3. Digestibilidade verdadeira

Para determinação da digestibilidade, as dietas foram marcadas com indigocarmin na proporção de 100 mg/100 g e oferecidas aos animais no 7<sup>o</sup> e 13<sup>o</sup>

dia. As fezes foram coletadas do 8<sup>o</sup> ao 14<sup>o</sup> dia, em recipientes individuais para cada animal, e mantidas sob refrigeração.

Ao término do experimento, as fezes foram secadas em estufa com circulação de ar, a 105 °C, por 24 h. Em seguida foram resfriadas, pesadas e trituradas em multiprocessador, para determinação da concentração de nitrogênio pelo método semimicro Kjeldahl, com amostras em triplicata (AOAC, 1984).

A digestibilidade verdadeira foi calculada medindo-se a quantidade de nitrogênio ingerido na dieta, a quantidade excretada nas fezes e a perda metabólica nas fezes, o que corresponde ao nitrogênio fecal do grupo com dieta aprotéica. Esta última foi estimada pela quantidade de nitrogênio excretada pelos ratos alimentados com a dieta livre de nitrogênio.

O cálculo da digestibilidade verdadeira (DV) foi feito de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Digestibilidade} = \frac{I - (F - FK) \times 100}{I}$$

em que:

I = nitrogênio ingerido pelo grupo-teste;

F = nitrogênio fecal do grupo-teste; e

FK = nitrogênio fecal do grupo com dieta aprotéica.

#### **3.4.4. Digestibilidade aparente**

A digestibilidade aparente foi calculada medindo-se a quantidade de nitrogênio ingerido na dieta e a quantidade excretada nas fezes pelo grupo-teste (AOAC, 1984).

O cálculo da digestibilidade aparente (DA) foi feito de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Digestibilidade} = \frac{I - F \times 100}{I}$$

em que:

I = nitrogênio ingerido pelo grupo-teste; e

F = nitrogênio fecal do grupo-teste.

### **3.4.5. PER (Protein Efficiency Ratio ou Coeficiente de Eficácia Protéica)**

O PER foi determinado através do método de Osborne, Mendel e Ferry, de acordo com a AOAC (1975). Este método relaciona o ganho de peso dos animais com o consumo de proteína.

O PER foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{PER} = \frac{\text{ganho de peso do grupo-teste (g)}}{\text{proteína consumida pelo grupo-teste (g)}}$$

Obs.: os valores obtidos foram corrigidos para o valor de referência da caseína.

### **3.4.6. NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida)**

O NPR foi determinado, de acordo com BENDER e DOELL (1957), no 14<sup>o</sup> dia do experimento, levando-se em consideração o ganho de peso do grupo-teste mais a perda de peso do grupo com dieta aprotéica, em relação ao consumo de proteína do grupo-teste.

O NPR foi calculado de acordo com a seguinte fórmula (HEGSTED, 1977):

$$\text{NPR} = \frac{\text{ganho de peso do grupo-teste (g)} - \text{perda de peso do grupo aprotéico (g)}}{\text{proteína consumida do grupo-teste}}$$

### **3.4.7. NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Líquida da Proteína)**

O NPU foi determinado, de acordo com MILLER e BENDER (1955), pelo método da carcaça. Ao final do experimento, os animais foram sacrificados por inalação de CO<sub>2</sub>. As carcaças foram seccionadas, colocadas em recipientes de alumínio e secadas em estufa com circulação de ar a 105 °C, por 24 h. Em seguida, foram resfriadas, pesadas e desengorduradas em aparelho de Soxhlet, durante 4 h, com éter de petróleo.

As carcaças foram, em seguida, moídas em multiprocessador. Procedeu-se à determinação do teor de nitrogênio da carcaça pelo método semimicro Kjeldahl, com amostras em triplicata.

O NPU foi calculado de acordo com a seguinte fórmula (HEGSTED, 1977):

$$\text{NPU} = \frac{\text{Nt} - \text{Na} \times 100}{\text{Ni}}$$

em que:

Nt = nitrogênio corporal dos animais do grupo-teste;

Na = nitrogênio corporal dos animais do grupo aprotéico; e

Ni = nitrogênio ingerido pelo grupo-teste.

### **3.5. Determinação da digestibilidade *in vitro***

Para determinação da digestibilidade *in vitro* foram utilizados os seguintes métodos:

**Método 1** – Aplica-se à queda do pH durante 10 minutos, como descrito por HSU et al. (1977), com modificações.

**Método 2** – Utiliza-se a queda do pH durante 20 minutos, como descrito por SATERLEE et al. (1979), com modificações.

**Método 3** – emprega-se o volume de titulante gasto para manter o valor do pH em 8 durante 10 minutos, conforme descrito por PEDERSEN e EGGUM (1983).

**Método 4** – Desenvolvido com base nas observações descritas por PEDERSEN e EGGUM (1983), utilizando-se um fator de hidrólise da caseína.

#### **3.5.1. Método descrito por HSU et al. (1977), com modificações**

Esta técnica baseia-se na correlação entre velocidade inicial de proteólise e digestibilidade, medida através do pH, empregando-se uma solução multienzimática para digerir a amostra.

Foram utilizadas, para a solução multienzimática, as enzimas tripsina, quimotripsina e pancreatina. Ajustou-se o pH de 50 mL da suspensão protéica em água destilada (contendo 6,25 mg de proteína/mL), para pH 8, sob agitação, em banho-maria a 37 °C.

A solução multienzimática, contendo 1,6 mg de tripsina, 3,1 mg de quimotripsina e 1,3 mg de pancreatina/mL, foi preparada antes de cada série de testes e mantida em banho de gelo; 5 mL da solução multienzimática foram, então, adicionados à suspensão protéica mantida em banho-maria a 37 °C. A queda do pH foi medida após a adição da solução enzimática, a partir de 15 segundos e posteriormente de um em um minuto, por um período de 10 minutos, usando-se um potenciômetro da marca Analion.

A digestão enzimática foi assim caracterizada (1) pela queda do pH após 15 segundos de adição da solução enzimática, (2) 10 minutos após a adição da solução enzimática e (3) pelo ajuste da equação que descreve a queda do pH *versus* tempo. A queda do pH após 15 segundos e 10 minutos e a equação dos parâmetros foram utilizados para descrever a correlação com a digestibilidade, aparente e verdadeira, *in vivo*.

### **3.5.2. Método descrito por SATERLEE et al. (1979), com modificações**

Foi utilizada a mesma metodologia descrita por HSU et al. (1977), procedendo-se à leitura do pH 20 minutos após uma segunda incubação enzimática.

Foram utilizadas na solução multienzimática as enzimas tripsina, quimotripsina e pancreatina. Ajustou-se o pH de 50 mL da suspensão protéica em água destilada (contendo 6,25 mg de proteína/mL), para pH 8, sob agitação, em banho-maria a 37 °C.

A solução multienzimática, contendo 1,6 mg de tripsina, 3,1 mg de quimotripsina e 1,3 mg de pancreatina/mL, foi preparada antes de cada série de testes e mantida em banho de gelo; 5 mL da solução multienzimática foram, então, adicionados à suspensão protéica mantida em banho-maria a 37 °C, e após

10 minutos foram adicionados mais 5 mL da solução multienzimática. A queda do pH foi medida após 20 minutos da primeira adição da solução enzimática, usando-se um potenciômetro da marca Analion.

A digestão enzimática foi assim caracterizada: (1) pela queda do pH após 20 minutos da primeira adição da solução enzimática e (2) pelo ajuste da equação que descreve a queda do pH *versus* tempo. A queda do pH após 20 minutos e a equação dos parâmetros foram utilizadas para descrever a correlação com a digestibilidade, aparente e verdadeira, *in vivo*.

### **3.5.3. Método descrito por PEDERSEN e EGGUM (1983)**

Foi utilizada a mesma metodologia descrita por HSU et al. (1977), porém, em vez de medir o pH após 10 minutos da adição da solução enzimática, mediu-se a quantidade de titulante (NaOH 0,1 N) necessário para manter o valor do pH em 8 durante exatamente os primeiros 10 minutos de incubação.

A digestão enzimática foi assim caracterizada: (1) pelo volume de NaOH 0,1 N necessário para manter o valor do pH em 8 durante os primeiros 10 minutos e (2) por ajuste de uma equação que descreve o volume de NaOH 0,1 N gasto. O volume de NaOH gasto durante o teste e a equação dos parâmetros foram utilizados para descrever a correlação com a digestibilidade aparente e verdadeira, *in vivo*.

### **3.5.4. Método desenvolvido neste trabalho**

Foram utilizadas na solução multienzimática as enzimas tripsina, quimotripsina e pancreatina. Ajustou-se o pH de 50 mL da suspensão protéica em água destilada (contendo 6,25 mg de proteína/mL), para pH 8, sob agitação, em banho-maria a 37 °C.

A solução multienzimática, contendo 1,6 mg de tripsina, 3,1 mg de quimotripsina e 1,3 mg de pancreatina/mL, foi preparada antes de cada série de testes e mantida em banho de gelo; 5 mL da solução multienzimática foram, então, adicionados à suspensão protéica mantida em banho-maria a 37 °C. Em

seguida foi adicionado NaOH 0,1 N, em quantidade suficiente para manter o valor do pH em 8, enquanto houve queda de pH de 0,03 unidade em um minuto, independentemente do tempo de 10 minutos, e posteriormente mediu-se o volume de NaOH gasto durante o teste.

A digestão enzimática foi assim caracterizada: (1) pelo volume de NaOH 0,1 N gasto durante o teste (2) e por uma equação que descreve o volume de NaOH requerido para manter o valor do pH em 8. O volume de NaOH gasto durante o teste e a equação dos parâmetros foram utilizados para descrever a correlação com a digestibilidade, aparente e verdadeira, *in vivo*.

O fator 0,03 foi obtido através da hidrólise da caseína, durante a queda do pH, no tempo entre 9 e 10 minutos, pois a partir desse ponto a diferença de pH é muito pequena, não sendo, portanto, significativa (Figuras 2, 3 e 4).

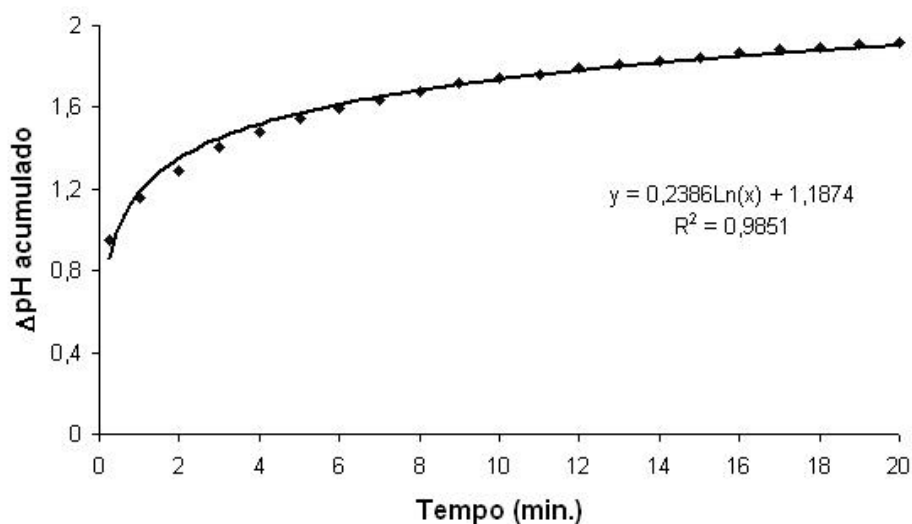


Figura 2 – Diferença do pH acumulado, utilizando-se caseína como proteína-padrão.

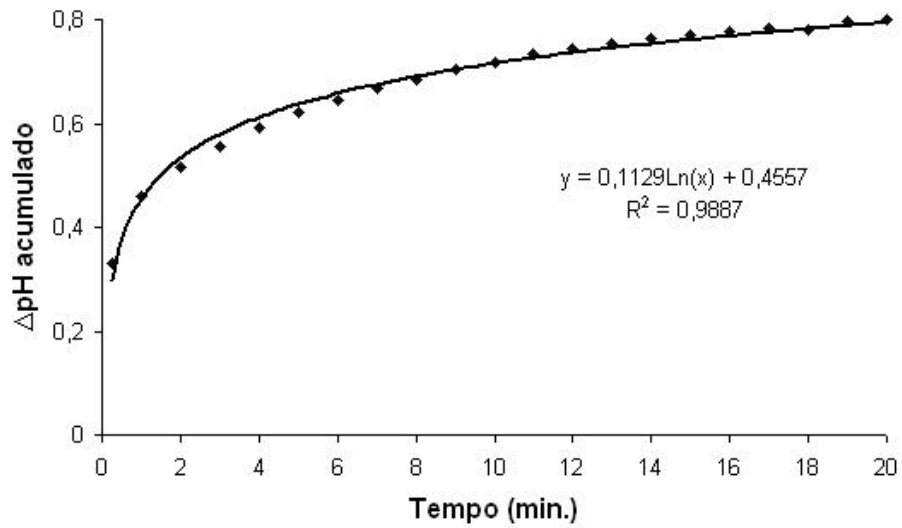


Figura 3 – Diferença do pH acumulado, utilizando-se todas as variedades de feijão recém-colhido.

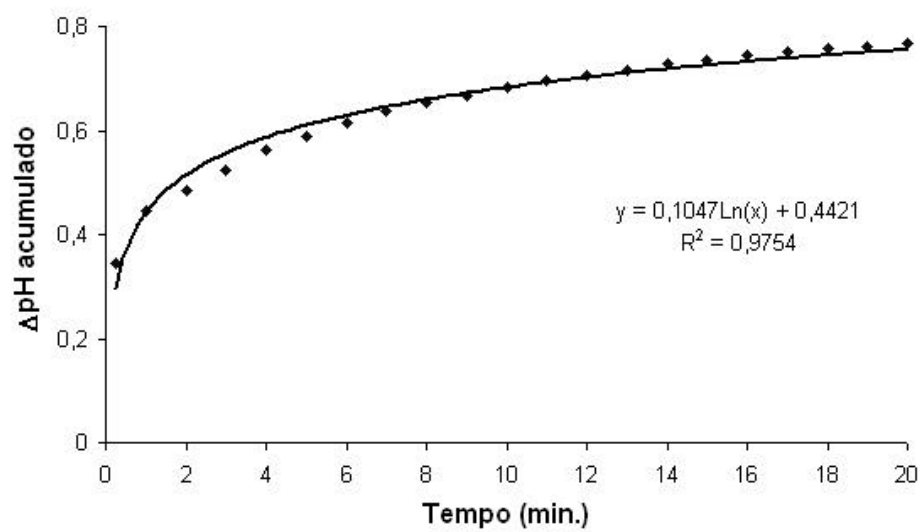


Figura 4 – Diferença do pH acumulado, utilizando-se todas as variedades de feijão armazenado durante 30 dias.

### **3.6. Determinação da correlação da digestibilidade *in vivo* e *in vitro***

A correlação foi determinada através de uma regressão linear, entre cada metodologia testada para digestibilidade *in vitro* e digestibilidade *in vivo* (verdadeira e aparente), para feijões recém-colhidos e armazenados por 30 dias. Para determinação das correlações, as variedades de feijão foram agrupadas da seguinte forma:

- 1 – Todas as variedades de todos os grupos de feijões; e
- 2 – Todas as variedades do grupo Carioca.

### **3.7. Análise estatística**

Os resultados das análises de PER, NPR, NPU e digestibilidade *in vivo* foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey e Scheffé no nível de erro de 5% de probabilidade.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Conteúdo protéico

No Quadro 4, apresenta-se a concentração de proteína nas amostras de variedades de feijão cozido, recém-colhidas e armazenadas durante 30 dias. A concentração de proteína variou, nos feijões recém-colhidos, de 15,94 para o feijão Ouro Negro a 23,28% para o feijão Aporé e, nos feijões armazenados, de 17,02 no feijão Rudá a 24,32% no feijão Aporé. Em geral, não houve variações significativas na concentração de proteína nas sementes de feijões armazenados. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por outros autores, que também trabalharam com sementes de feijão armazenadas (SAWAZAKI et al., 1985; MOLINA et al., 1975).

As sementes de leguminosas apresentam alto conteúdo protéico, ressaltando-se que a porcentagem de proteínas em feijão varia entre 16 e 33%, nos vários tipos de feijões analisados (OSBORN, 1988).

A concentração de proteína para o feijão Ouro Negro foi inferior à encontrada por SILVA e IACHAN (1975), nas variedades Preto de Uberabinha (19,9%), Preto BH 2449 (24,0%), Preto VP 147 (22,9%) e Preto 143 (21,4%). VARRIANO-MARSTON e OMANA (1979) encontraram 22%, HERNANDEZ et al. (1984) 22,9% e DURIGAN et al. (1987), nas variedades Rico 23 e Iguaçu, os teores 24,5 e 27,2%, respectivamente.

Quadro 4 – Concentração de proteínas em amostras de variedades de feijão cozido, com casca, recém-colhido e armazenado durante 30 dias

Amostras	Grupo	Proteína (%) <sup>1,2</sup>	Proteína(%) <sup>1,3</sup>
Aporé	Carioca	24,32	23,28
Aruã	Carioca	19,87	19,99
Rudá	Carioca	17,91	17,55
Pérola	Carioca	19,93	18,89
Carioca	Carioca	18,14	17,12
Ouro Branco	Branco	20,02	18,69
RAO 33	Roxo	19,14	18,22
A 774	Mulatinho	19,27	20,65
Vermelho Coimbra	Vermelho	21,49	21,84
Ouro Negro	Preto	17,02	15,94
Diamante Negro	Preto	21,87	22,46

<sup>1</sup> Valores são a média das análises em triplicata.

<sup>2</sup> Feijões armazenados durante 30 dias.

<sup>3</sup> Feijões obtidos recém-colhidos (CRUZ et al., 2003).

BRESSANI et al. (1981) determinaram concentrações que variaram de 19,2 a 25,9% nas cinco variedades de feijão-preto cru com casca e de 20,9 a 27,45% no feijão cozido. Esse resultado é similar ao obtido por SINGH e SOOD (1997), que encontraram percentuais de 20,65 a 22,75% de proteína, nas três variedades de feijão analisadas. Tais resultados são semelhantes também aos de GARCIA et al. (1997), que determinaram, nas duas variedades, 24,5 e 24,8%; e de DUARTE (1999), que encontrou, no feijão-preto cozido, 21% de proteína.

Na variedade Carioca, o valor encontrado (18,14 e 17,12%) diferiu daqueles obtidos por outros autores, como SILVA e IACHAN (1975), que conseguiram 24,2%; DURIGAN et al. (1987), 23,0%; e MARQUEZ et al. (1996), 18,8%, 20,8% e 21,8%, nas variedades Carioca Iapar, Carioca 80 e Carioca IAC, respectivamente.

Há evidências de que fatores ambientais, como localização geográfica e estação do ano, podem influenciar significativamente o conteúdo protéico de feijões (SATHE et al., 1984 – Part. 1).

A variação no teor de nitrogênio e, conseqüentemente, de proteínas totais ocorre tanto em diversas variedades de mesma procedência quanto numa mesma variedade de procedência diferente, indicando, portanto, a influência do meio sobre a formação da semente (SILVA e IACHAN, 1975).

#### 4.2. Digestibilidade *in vivo*

Feijões armazenados em temperatura e umidade relativa elevadas causam diminuição na qualidade protéica (BURR, 1975; MOLINA et al., 1975).

Os resultados, no experimento com ratos convencionais, de digestibilidades verdadeira e aparente de todas as variedades de feijão analisadas e do grupo Carioca encontram-se nos Quadros 5, 6 e 7.

Quadro 5 – Digestibilidade verdadeira (DV) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, recém-colhido e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Dieta	Grupo	DV(%) <sup>*,1</sup>	DV(%) <sup>*,2</sup>
Caseína	-	97,30 <sup>a</sup>	99,00 <sup>a</sup>
Ouro Branco	Branco	87,46 <sup>b</sup>	93,97 <sup>a,b</sup>
Aporé	Carioca	87,30 <sup>b</sup>	91,04 <sup>b,c,d</sup>
A774	Mulatinho	86,48 <sup>b</sup>	88,67 <sup>b,c,d,e</sup>
Aruã	Carioca	86,39 <sup>b</sup>	90,44 <sup>b,c,d</sup>
Vermelho Coimbra	Vermelho	86,38 <sup>b</sup>	88,61 <sup>b,c,d,e</sup>
Rudá	Carioca	82,95 <sup>b,c</sup>	85,31 <sup>e</sup>
Carioca	Carioca	81,37 <sup>b,c</sup>	91,50 <sup>b,c</sup>
Diamante Negro	Preto	81,36 <sup>b,c</sup>	88,05 <sup>c,d,e</sup>
Ouro Negro	Preto	81,29 <sup>b,c</sup>	87,56 <sup>c,d,e</sup>
RAO 33	Roxo	79,97 <sup>b,c</sup>	85,66 <sup>d,e</sup>
Pérola	Carioca	77,58 <sup>c</sup>	91,12 <sup>b,c,d</sup>

\*As médias dentro da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup>Feijões armazenados por 30 dias.

<sup>2</sup>Resultados obtidos por CRUZ et al. (2003).

Quadro 6 – Digestibilidade aparente (DA) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, recém-colhido e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Dieta	Grupo	DA(%)* <sup>1</sup>	DA(%)* <sup>2</sup>
Caseína	-	97,02 <sup>a</sup>	98,79 <sup>a</sup>
Ouro Branco	Branco	86,65 <sup>b</sup>	93,62 <sup>a,b</sup>
Aporé	Carioca	86,44 <sup>b</sup>	90,64 <sup>b,c,d</sup>
A774	Mulatinho	85,82 <sup>b</sup>	88,21 <sup>b,c,d,e</sup>
Vermelho Coimbra	Vermelho	85,57 <sup>b</sup>	90,02 <sup>b,c,d,e</sup>
Aruã	Carioca	85,30 <sup>b</sup>	88,21 <sup>b,c,d,e</sup>
Rudá	Carioca	82,10 <sup>b,c</sup>	84,89 <sup>e</sup>
Diamante Negro	Preto	80,61 <sup>b,c</sup>	91,01 <sup>b,c</sup>
Carioca	Carioca	80,57 <sup>b,c</sup>	87,64 <sup>c,d,e</sup>
Ouro Negro	Preto	80,49 <sup>b,c</sup>	87,11 <sup>b,c,d,e</sup>
RAO 33	Roxo	79,20 <sup>b,c</sup>	85,22 <sup>d,e</sup>
Pérola	Carioca	76,77 <sup>c</sup>	90,82 <sup>b,c,d</sup>

\*As médias dentro da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> Feijões armazenados por 30 dias.

<sup>2</sup> Resultados obtidos por CRUZ et al. (2003).

Quadro 7 – Digestibilidades verdadeira (DV) e aparente (DA) da dieta de caseína e das variedades de feijão do grupo Carioca, cozido e com casca, armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Variáveis	DMS
Digestibilidade verdadeira (DV)	8,7336*
Digestibilidade aparente (DA)	8,7425*

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Scheffé, para o contraste testado:

$$C = Y1 - Y2, Y1 = (T2 + T3 + T4 + T5 + T6)/5 \text{ e } Y2 = (T1)/1.$$

em que:

C= contraste;

T1= caseína;

T2= Aporé;

T3= Aruã;

T4= Rudá;

T5= Carioca; e

T6= Pérola.

Feijões crus são tóxicos, e sua digestibilidade geralmente se situa entre 25 e 60%, mas, quando cozido, esse valor aumenta para 65 a 85%, dependendo da variedade e do processo de cocção usado (REYES-MORENO e PAREDEZ-LÓPEZ,1993).

Observou-se que a digestibilidade verdadeira das amostras estudadas (Quadro 5) variou de 77,58% no feijão Pérola a 87,46% no feijão Ouro Branco, resultado inferior, portanto, aos encontrados por CRUZ et al. (2003), trabalhando com as mesmas variedades de feijão recém-colhidas. Ao comparar os resultados obtidos nas variedades analisadas com aqueles encontrados com relação à caseína, verificou-se que esta apresentou um valor de digestibilidade significativamente maior que o de todas as variedades analisadas.

O armazenamento diminuiu as digestibilidades verdadeira e aparente (Quadro 5 e 6) em todas as amostras analisadas. Em algumas, essa redução foi bastante drástica, a exemplo da variedade Pérola, que caiu de 91,12 para 77,68 quanto à digestibilidade verdadeira e de 90,82 para 76,77 no tocante à digestibilidade aparente. Analisando o efeito do armazenamento na mesma variedade (Quadro 8) e não entre as variedades, pôde-se perceber que a variedade Pérola e a Diamante Negro diferiram estatisticamente com relação à digestibilidade verdadeira; quanto à digestibilidade aparente, as variedades Ouro Branco, Ouro Negro, Diamante Negro, Carioca e Pérola apresentaram diferenças significativas.

Os resultados deste trabalho evidenciaram também que, com relação aos valores de digestibilidades verdadeira e aparente, todas as variedades (Quadros 5 e 6), inclusive as do grupo Carioca (Quadro 7), diferiram estatisticamente da dieta de caseína, ilustrando a superioridade desta dieta perante as demais.

CARIAS et al. (1995) argumentaram que a digestibilidade verdadeira é sempre maior que a digestibilidade aparente, porque esta digestibilidade não considera as perdas obrigatórias de nitrogênio nas fezes, o que está de acordo com os resultados encontrados, que variaram de 86,65% na variedade Ouro Branco a 76,77% na variedade Pérola. Com relação à digestibilidade aparente, o resultado de caseína também diferiu significativamente daqueles de todas as variedades analisadas (Quadros 5 e 6).

Quadro 8 – Efeito do armazenamento na digestibilidade verdadeira (DV) e aparente (DA) das variedades de feijão cozido, com casca, recém-colhido e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Amostra	Grupo	Armazenamento	DV(%)	DA(%)
Ouro Branco	Branco	Recém-colhido	a	a
		30 dias	a	b
Aporé	Carioca	Recém-colhido	a	a
		30 dias	a	a
A774	Mulatinho	Recém-colhido	a	a
		30 dias	a	a
Vermelho Coimbra	Vermelho	Recém-colhido	a	a
		30 dias	a	a
Aruã	Carioca	Recém-colhido	a	a
		30 dias	a	a
Rudá	Carioca	Recém-colhido	a	a
		30 dias	a	a
Diamante Negro	Preto	Recém-colhido	a	a
		30 dias	b	b
Carioca	Carioca	Recém-colhido	a	a
		30 dias	a	b
Ouro Negro	Preto	Recém-colhido	a	a
		30 dias	a	b
RAO 33	Roxo	Recém-colhido	a	a
		30 dias	a	a
Pérola	Carioca	Recém-colhido	a	a
		30 dias	b	b

\*Letras iguais dentro da mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

OLIVEIRA et al. (2001) encontraram valores de digestibilidades aparente e verdadeira de feijão-comum IAC Carioca, cozido sem maceração, de 72,1 e 74,3%; cozido sem água de maceração, de 65,3 e 67,4%; e cozido com água de maceração, de 65,0 e 67,2%, respectivamente. Valores menores, portanto, aos encontrados em todas as variedades do grupo Carioca armazenadas por 30 dias (Quadro 6).

CARIAS et al. (1995) determinaram valores para as digestibilidades aparente e verdadeira de feijão-preto de 75,85 e 79,08%, respectivamente. BRESSANI (1989), em revisão sobre o assunto, mostrou que feijões brancos cozidos, com casca, têm digestibilidade mais alta (59,8%), seguidos pelos negros e roxos (51,4 e 52,9%). QUINTANA et al. (2000), trabalhando com quatro variedades melhoradas de feijão, encontraram, com relação à digestibilidade aparente, valores variando de 54,90 a 69,82. DURIGAN et al. (1987) também determinaram a digestibilidade aparente de variedades de feijões cozidos, com casca, encontrando valores que se situaram entre 59,3 e 72,6%.

BRESSANI e ELIAS (1984) determinaram valores para a digestibilidade aparente de variedades de feijão branco cozido, com casca, de 71,4 a 83,4%. Já HUGHES et al. (1996) determinaram esses valores como 80,9%, ambos os resultados diferindo significativamente do estabelecido por CRUZ et al. (2003) para a variedade Ouro Branco (recém-colhida), que foi de 93,62%, estatisticamente igual ao valor determinado para o padrão (caseína).

FUKUDA et al. (1982) determinaram a digestibilidade aparente de feijão preto cozido, com casca, encontrando valores que variaram de 65,6 a 66,7%, já BRESSANI e ELIAS (1984) obtiveram 66,6 a 78,9% e HERNANDEZ et al. (1984), 62,8%.

HUGHES et al. (1996), também em experimentos com ratos, analisando uma variedade de feijão-preto, encontraram nas digestibilidades aparente e verdadeira os valores de 68,3 e 69,3%, respectivamente, diferindo também dos valores observados nas variedades Ouro Negro e Diamante Negro, armazenadas durante 30 dias, que foram de 80,49 e 80,61% (DA) e 81,29 e 81,36% (DV).

Observou-se que, mesmo com o armazenamento, os valores de digestibilidade encontrados ainda foram maiores que os obtidos por HUGHES et al. (1996).

BRESSANI e ELIAS (1984) também determinaram a digestibilidade aparente de variedades de feijão roxo, encontrando valores que variaram de 65,7 a 80,1%, portanto próximos ao valor verificado na variedade RAO 33, armazenada durante 30 dias, que foi de 79,20%.

ANTUNES et al. (1995) determinaram a digestibilidade aparente das variedades de feijão Rico 23, Rosinha-G2, Carioca e Pirata-1, encontrando valores de 50,0; 58,0; 64,5; e 69,5, respectivamente.

A avaliação do efeito do armazenamento nas digestibilidades protéica verdadeira e aparente tem sido pouco estudada em feijões. Assim, os valores apresentados sobre digestibilidades verdadeira e aparente são para os feijões que não foram armazenados. No entanto, os valores encontrados no presente trabalho, utilizando feijões armazenados, foram, na sua grande maioria, maiores que os obtidos na literatura para outras variedades estudadas. Esse fato pode ser resultante da ação de vários fatores, por exemplo as diferentes variedades analisadas, condições de plantio e tempo de armazenamento, entre outras, que, isoladas ou em conjunto, contribuíram para o aumento da digestibilidade (NIELSON, 1991).

A melhoria da digestibilidade não implica, necessariamente, aumento da qualidade protéica, de forma que os aminoácidos podem estar sendo hidrolisados e absorvidos, mas não participando da síntese protéica, em virtude da deficiência de alguns aminoácidos essenciais. A composição química de um alimento indica o seu valor nutritivo, porém não o caracteriza completamente, do ponto de vista nutricional. Raramente, os nutrientes contidos no alimento estão disponíveis em sua totalidade ao organismo, após sua ingestão (SGARBIERI, 1989). Para avaliar de forma mais completa a qualidade da proteína dos feijões, além da digestibilidade *in vivo*, procedeu-se às análises biológicas, como PER, NPR e NPU, que avaliam a qualidade protéica e se baseiam na resposta do organismo à ingestão de uma proteína em estudo.

Ensaio para verificar o grau de digestibilidade protéica *in vivo* utilizando animais experimentais são demorados, trabalhosos e caros. Diante disso, objetivou-se, no presente trabalho, testar metodologias *in vitro*, mais rápidas, baratas e suficientemente sensíveis para prever a digestibilidade *in vivo*.

#### 4.3. Digestibilidade *in vitro*

No presente trabalho foram analisados quatro métodos para ensaio de digestibilidade *in vitro*, utilizando-se um sistema multienzimático contendo as enzimas tripsina, quimotripsina e pancreatina. As equações de regressão obtida foram usadas para correlacionar os estudos *in vitro* com os ensaios *in vivo* e, dessa forma, prever a digestibilidade.

Para uma melhor avaliação dos métodos *in vitro* e predição de uma melhor equação de correlação, utilizaram-se nos testes várias combinações das amostras analisadas, verificando, dessa forma, a interferência do tipo de variedade e do tempo de armazenamento na digestibilidade da proteína. São elas:

- Digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos x Digestibilidade *in vitro* de todas as variedades recém-colhidas de todos os grupos.
- Digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados x Digestibilidade *in vitro* de todas as variedades armazenadas de todos os grupos.
- Digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos x Digestibilidade *in vitro* de todas as variedades recém-colhidas de todos os grupos.
- Digestibilidade aparente dos feijões armazenados x Digestibilidade *in vitro* de todas as variedades armazenadas de todos os grupos.
- Digestibilidade verdadeira dos feijões do grupo Carioca recém-colhidos x Digestibilidade *in vitro* de todas as variedades do grupo Carioca recém-colhidas.

- Digestibilidade verdadeira dos feijões do grupo Carioca armazenados x Digestibilidade *in vitro* de todas as variedades do grupo Carioca armazenadas.
- Digestibilidade aparente dos feijões do grupo Carioca recém-colhidos x Digestibilidade *in vitro* de todas as variedades do grupo Carioca recém-colhidas.
- Digestibilidade aparente dos feijões do grupo Carioca armazenados x Digestibilidade *in vitro* de todas as variedades do grupo Carioca armazenadas.

Os coeficientes de correlações ( $R^2$ ) e a correlação dos parâmetros para a digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos e armazenados e a determinada *in vitro* de todas as variedades de todos os grupos, recém-colhidas e armazenadas, encontram-se nos Quadros 9 e 10.

Quadro 9 – Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos e a determinada *in vitro*, pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se todas as variedades analisadas

Método	Correlação dos Parâmetros	$R^2$	Coefficiente de Correlação	Equação de Regressão*
1	- 0,81	0,66	0,81	
2	- 0,80	0,64	0,80	
3	0,80	0,73	0,86	
<b>4</b>	<b>0,91</b>	<b>0,82</b>	<b>0,91</b>	<b>Y=3,7596X + 83,276</b>

\*Equação obtida através da análise de regressão linear.

Método 1 – HSU et al. (1977).

Método 2 – SATERLEE et al. (1979).

Método 3 – PEDERSEN e EGGUM (1983).

Método 4 – Método desenvolvido neste trabalho.

Quadro 10 – Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados e a determinada *in vitro*, pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se todas as variedades analisadas

Método	Correlação dos Parâmetros	$R^2$	Coefficiente de Correlação	Equação de Regressão*
1	-0,90	0,81	0,90	
2	-0,90	0,82	0,91	
3	0,88	0,77	0,88	
<b>4</b>	<b>0,91</b>	<b>0,82</b>	<b>0,91</b>	<b>Y=4,413X + 78,082</b>

\* Equação obtida através da análise de regressão linear.

Método 1 – HSU et al. (1977).

Método 2 – SATERLEE et al. (1979).

Método 3 – PEDERSEN e EGGUM (1983).

Método 4 – Método desenvolvido neste trabalho.

A Figura 5 representa, graficamente, os Métodos 1 e 2 (HSU et al., 1977; SATERLEE et al., 1979) e a Figura 6, os Métodos 3 e 4 (PEDERSEN e EGGUM, 1983) e o método desenvolvido no presente trabalho, para digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos. A Figura 7 ilustra, graficamente, os Métodos 1 e 2 e a Figura 8, os Métodos 3 e 4, para digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados. De acordo com os resultados dos Quadros 9 e 10, observa-se que o melhor resultado foi o do Método 4, durante os dois tempos de armazenamento (recém-colhidos e 30 dias), que apresentou um coeficiente de correlação de 0,91 e  $R^2$  de 0,82. Observa-se também, nesses quadros, que o tempo de armazenamento não foi suficiente para afetar a correlação entre os estudos *in vitro* e os ensaios *in vivo*. O Método 2 para o feijão armazenado também apresentou esses mesmos valores, diferindo somente na correlação dos parâmetros, a qual foi de 0,90 para o Método 2 e 0,91 para o Método 4.

Nos resultados de digestibilidade aparente (Quadros 11 e 12), observou-se que o melhor resultado foi também o do Método 4, durante os dois tempos de armazenamento (recém-colhidos e 30 dias), que apresentou um coeficiente de correlação de 0,91 e 0,87 e  $R^2$  de 0,83 e 0,75, respectivamente. Quanto à

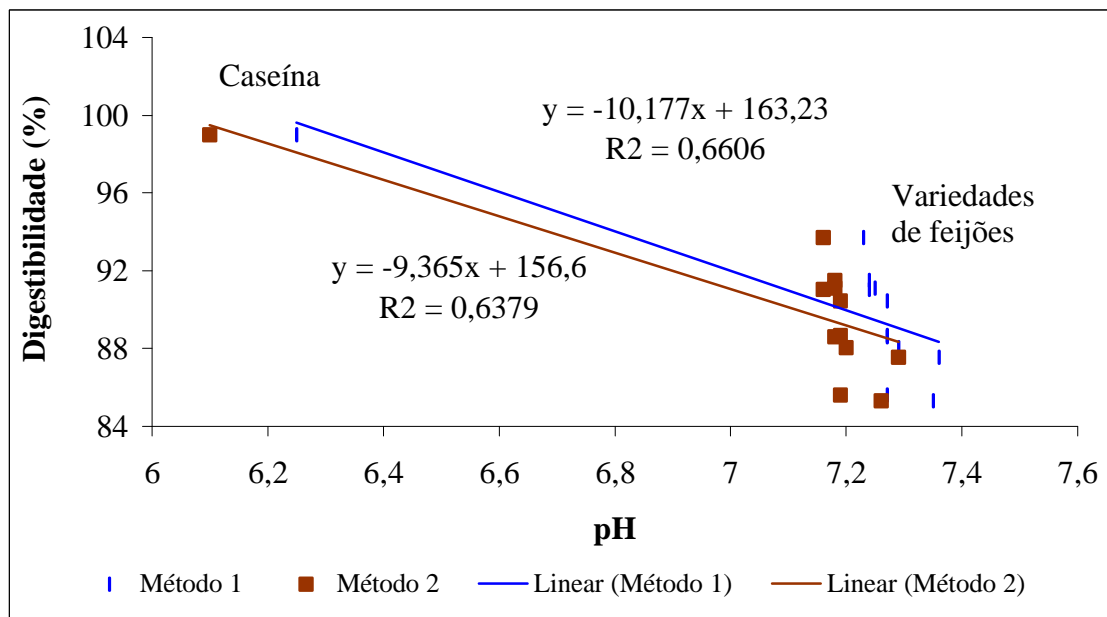


Figura 5 – Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões analisados recém-colhidos.

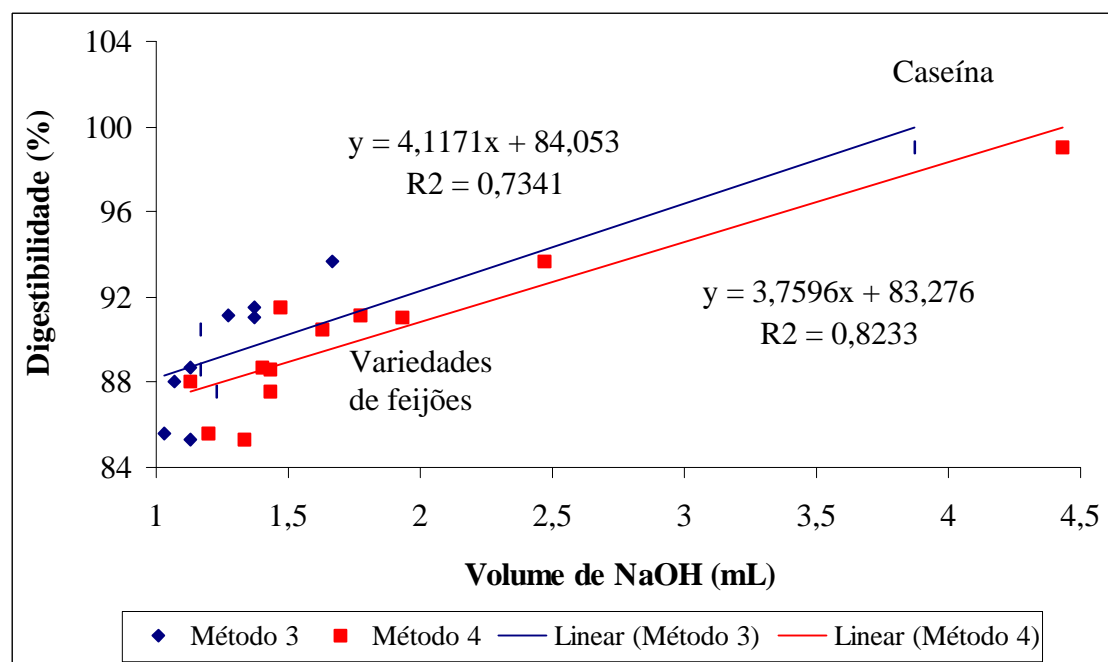


Figura 6 – Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões analisados recém-colhidos.

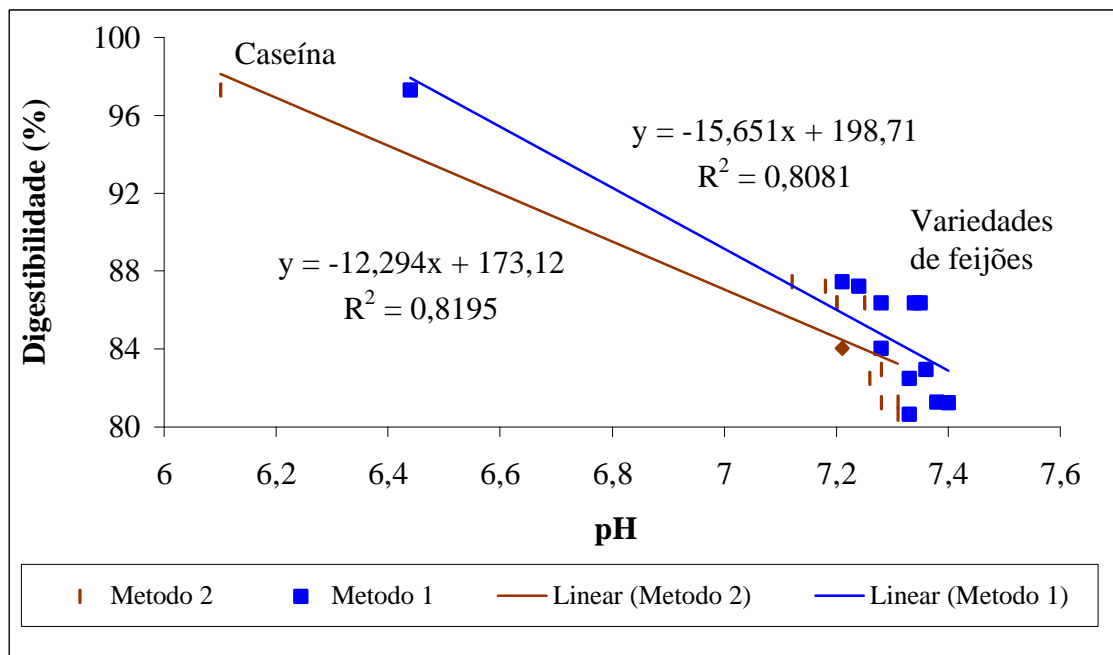


Figura 7 – Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões armazenados.

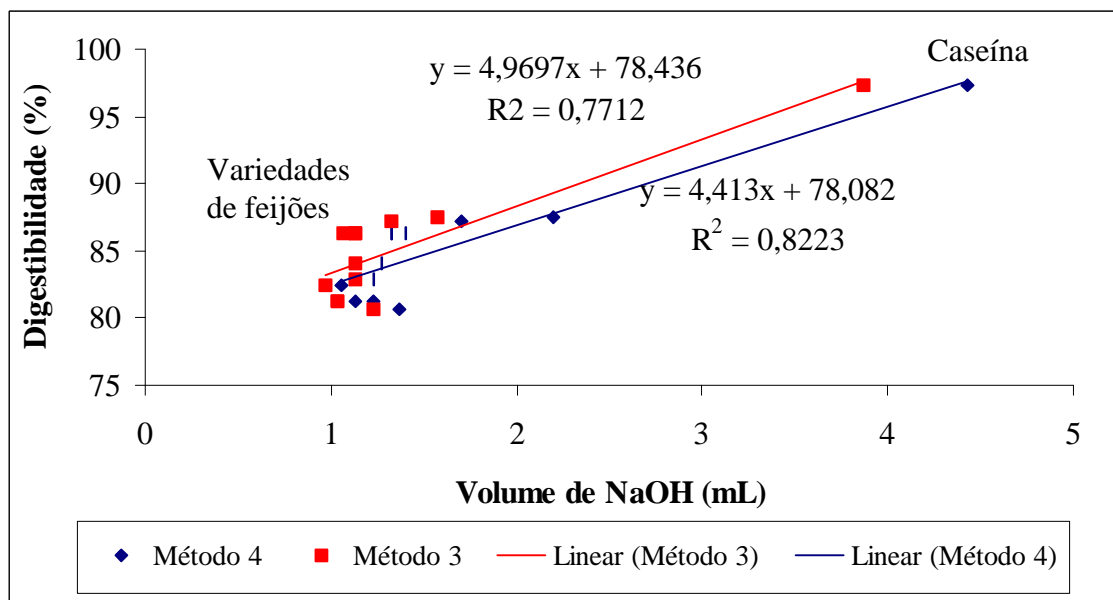


Figura 8 – Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões armazenados.

Quadro 11 – Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos e a determinada *in vitro*, pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se todas as variedades analisadas

Método	Correlação dos Parâmetros	$R^2$	Coefficiente de Correlação	Equação de Regressão*
1	- 0,81	0,66	0,81	
2	- 0,80	0,64	0,80	
3	0,86	0,74	0,86	
<b>4</b>	<b>0,91</b>	<b>0,83</b>	<b>0,91</b>	<b>Y=3,8456X + 82,748</b>

\*Equação obtida através da análise de regressão linear.

Método 1 – HSU et al. (1977).

Método 2 – SATERLEE et al. (1979).

Método 3 – PEDERSEN e EGGUM (1983).

Método 4 – Método desenvolvido neste trabalho.

Quadro 12 – Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade aparente dos feijões armazenados e a determinada *in vitro*, pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se todas as variedades analisadas

Método	Correlação dos Parâmetros	$R^2$	Coefficiente de Correlação	Equação de Regressão*
1	- 0,84	0,70	0,84	
2	- 0,84	0,73	0,86	
3	0,83	0,69	0,83	
<b>4</b>	<b>0,87</b>	<b>0,75</b>	<b>0,87</b>	<b>Y=4,9046X + 75,839</b>

\* Equação obtida através da análise de regressão linear.

Método 1 – HSU et al. (1977).

Método 2 – SATERLEE et al. (1979).

Método 3 – PEDERSEN e EGGUM (1983).

Método 4 – Método desenvolvido neste trabalho.

digestibilidade aparente, verificou-se que o tempo de armazenamento diminuiu a correlação encontrada entre os estudos *in vivo* e *in vitro*. As Figura 9 e 10 representam, graficamente, os Métodos 1, 2, 3 e 4 para digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos e as Figuras 11 e 12, esses mesmos métodos para a dos feijões armazenados.

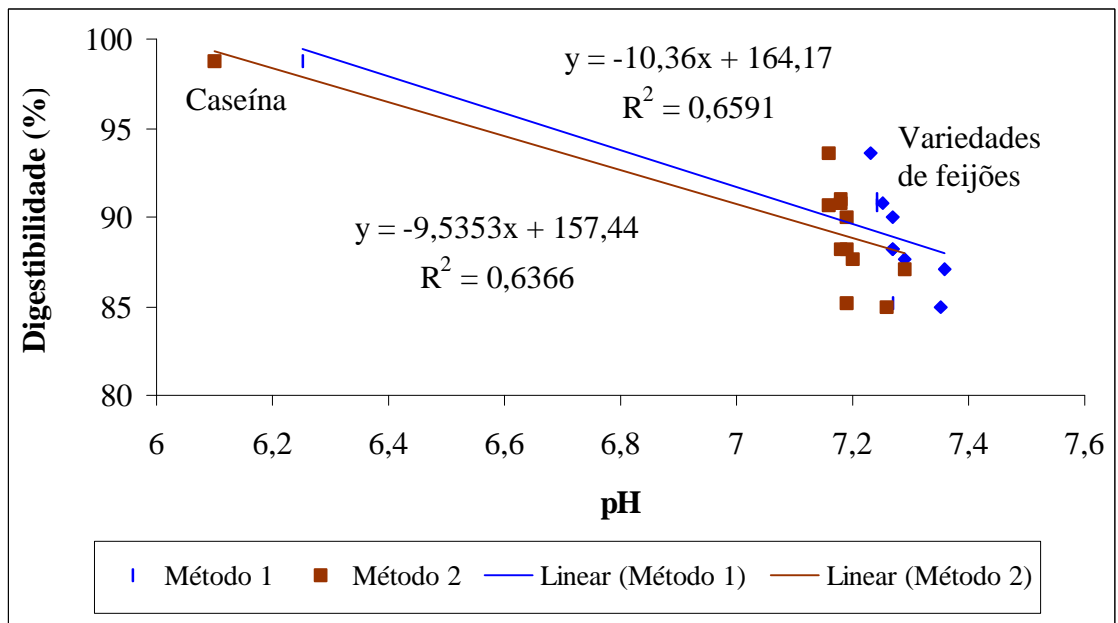


Figura 9 – Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões recém-colhidos.

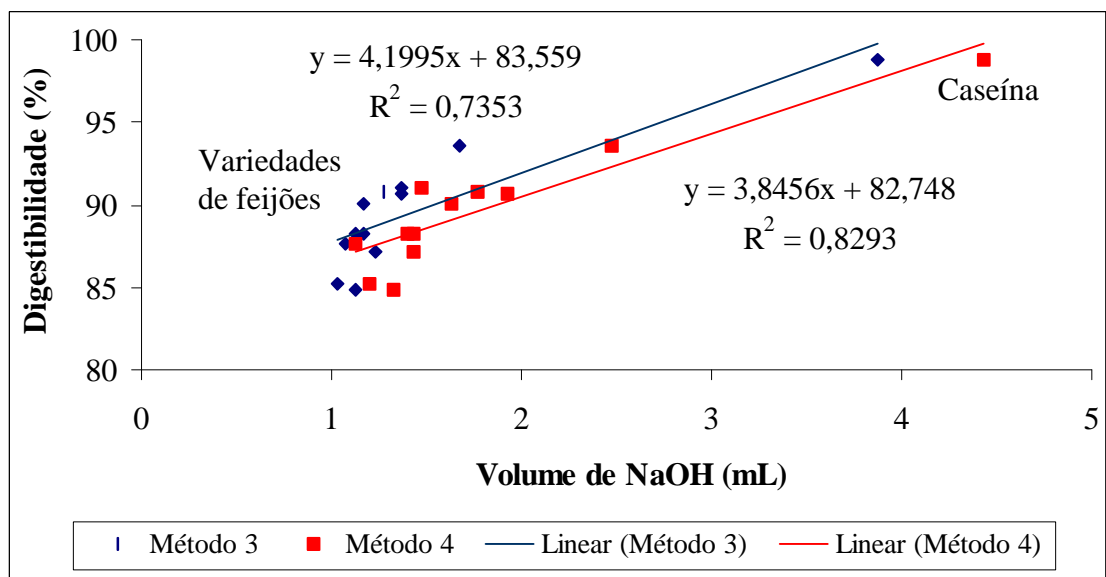


Figura 10 – Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões recém-colhidos.

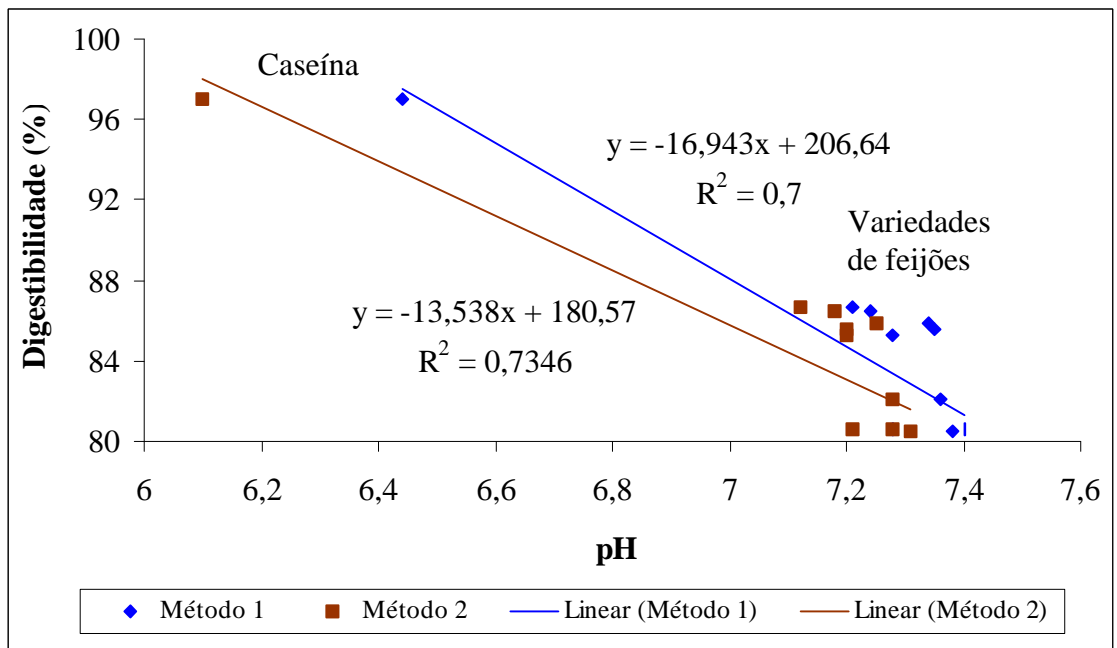


Figura 11 – Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões armazenados.

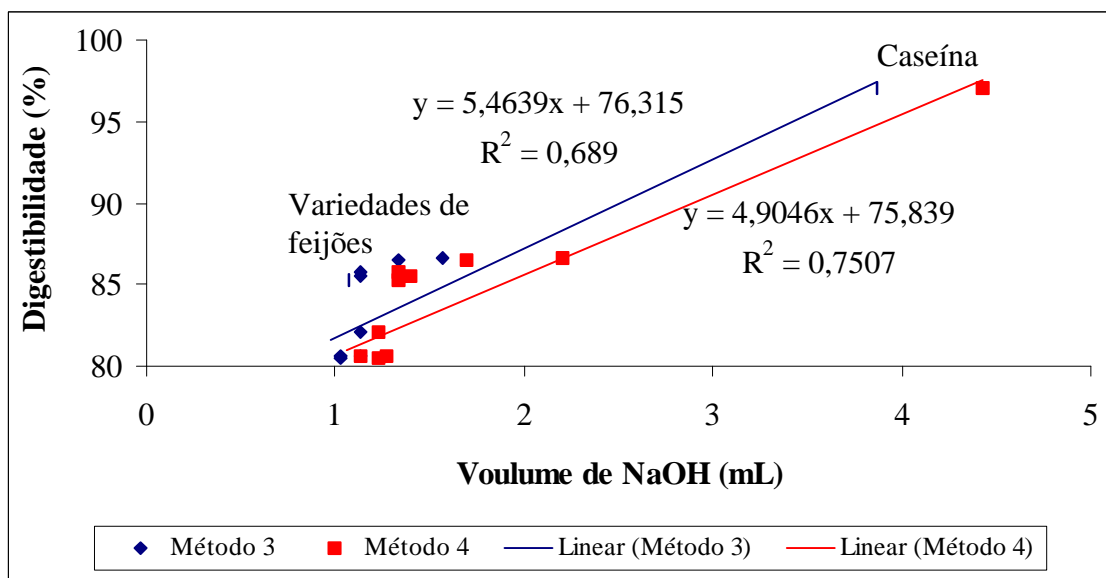


Figura 12 – Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões armazenados.

Pelos Métodos 1 e 3 foram encontrados valores de correlação com a digestibilidade verdadeira de 0,81 e 0,86 e 0,90 e 0,88 (Quadro 9) nos dois tempos de armazenamento (recém-colhidos e 30 dias), respectivamente, e de 0,81 e 0,86 e 0,84 e 0,83 (Quadro 10) de digestibilidade aparente. Esses valores diferem dos encontrados por HSU et al. (1977), que utilizaram o Método 1 em diferentes fontes protéicas animal e vegetal, encontrando um coeficiente de correlação de 0,90 de digestibilidade aparente, em todas as amostras analisadas.

CARIAS et al. (1995), utilizando também os Métodos 1 e 3 para determinar a digestibilidade *in vitro* de várias fontes protéicas animal e vegetal, inclusive de feijão-preto, encontraram coeficientes de correlação com a digestibilidade verdadeira e aparente de 0,938 e 0,935 pelo Método 1 e de 0,918 e 0,920 pelo Método 3, em todas as amostras analisadas. Esses resultados podem estar superestimando a digestibilidade de proteínas de feijão, visto que são utilizadas proteínas com alta digestibilidade, como as proteínas de origem animal, para estabelecer o coeficiente de correlação.

Vários autores (PIRES, 2001; PEREIRA, 1998; MELITO e TOVAR, 1995; RODRIGUES, 1995; ANTUNES et al., 1995), utilizando o sistema pepsina–pancreatina para determinação da digestibilidade *in vitro* de proteínas do feijão, não fizeram nenhuma referência de correlação com os ensaios *in vivo*. Os resultados foram apresentados em percentagem de hidrólise.

BODWELL et al. (1980) e SATTERLEE et al. (1979) utilizaram os mesmos métodos do presente trabalho, ou seja, os Métodos 1, 2 e 3, para determinação da digestibilidade protéica *in vitro* e sua correlação com os ensaios *in vivo*, em diferentes fontes protéicas, porém não verificaram a digestibilidade e a correlação de feijões através desses métodos.

Devido ao fato de o melhor coeficiente de correlação e  $R^2$  encontrado, entre os estudos *in vivo* e *in vitro*, ter sido obtido através do método desenvolvido no presente trabalho, utilizaram-se as equações obtidas através da análise de regressão linear do referido método (Quadros 9 e 10), para predizer a digestibilidade protéica *in vitro*.

Estudos *in vitro* evidenciaram que a digestibilidade de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) situou-se entre 76,8 e 84,1%, apresentando-se diminuída quando a pigmentação do grão aumenta. Os pigmentos são, em geral, compostos fenólicos que podem interagir com proteínas do feijão, diminuindo sua digestibilidade e utilização (AW e SWANSON, 1985).

Os dados referentes à digestibilidade *in vitro* dos feijões analisados, recém-colhidos e armazenados durante 30 dias, encontram-se nos Quadros 13 e 14, nos quais se observa que todas as variedades pigmentadas apresentaram menor digestibilidade que a variedade não-pigmentada (Ouro Branco), conforme literatura anteriormente descrita.

Quadro 13 – Medidas *in vivo* da digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos e a determinada *in vitro*, utilizando-se a equação de regressão do Método 4

Amostras	Digestibilidade <i>in vivo</i> *	Digestibilidade <i>in vitro</i>	Diferença
Caseína	99,00 <sup>a</sup>	99,93	-0,93
Ouro Branco	93,97 <sup>a, b</sup>	92,56	1,41
Carioca	91,50 <sup>b, c, d</sup>	87,52	3,98
Pérola	91,12 <sup>b, c, d</sup>	89,93	1,19
Aruã	90,44 <sup>b, c, d</sup>	88,65	1,79
Aporé	91,04 <sup>b, c, d</sup>	90,53	0,51
A774	88,67 <sup>b, c, d, e</sup>	88,53	0,14
Vermelho Coimbra	88,61 <sup>b, c, d, e</sup>	89,40	-0,79
Diamante Negro	88,05 <sup>c, d, e</sup>	88,80	-0,75
Ouro Negro	87,56 <sup>c, d, e</sup>	88,65	-1,09
RAO 33	85,66 <sup>d, e</sup>	87,78	-2,12
Rudá	85,31 <sup>e</sup>	88,27	-2,95

\*As médias dentro da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quadro 14 – Medidas *in vivo* da digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados durante 30 dias e a determinada *in vitro*, utilizando-se a equação de regressão do Método 4

Amostras	Digestibilidade <i>in vivo</i> *	Digestibilidade <i>in vitro</i>	Diferença
Caseína	97,30 <sup>a</sup>	100,45	-3,15
Ouro Branco	87,46 <sup>b</sup>	90,71	-3,25
Aporé	87,30 <sup>b</sup>	88,02	-0,72
A774	86,48 <sup>b</sup>	85,39	1,09
Aruã	86,39 <sup>b</sup>	85,54	0,85
Vermelho Coimbra	86,38 <sup>b</sup>	86,53	-0,15
Rudá	82,95 <sup>b,c</sup>	85,04	-2,09
Carioca	81,37 <sup>b,c</sup>	84,05	-2,68
Diamante Negro	81,36 <sup>b,c</sup>	85,74	-4,38
Ouro Negro	81,29 <sup>b,c</sup>	85,54	-4,25
RAO 33	79,97 <sup>b,c</sup>	84,39	-4,42
Pérola	77,58 <sup>c</sup>	87,23	-9,65

\* As médias dentro da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

A digestibilidade *in vitro* dos feijões recém-colhidos (Quadro 13) variou de 92,56% na variedade Ouro Branco a 87,52% na variedade Carioca.

Nos feijões armazenados (Quadro 14), a digestibilidade *in vitro* variou de 90,71% na variedade Ouro Branco a 84,39% na variedade RAO 33. Esses resultados diferem dos encontrados por BARAMPAMA e SIMARD (1994), que, trabalhando com quatro variedades de feijão obtido recém-colhido, utilizaram o Método 1 para determinação da digestibilidade *in vitro*. Os valores encontrados variaram de 67,47 a 71,99% nas variedades analisadas. Esses resultados indicam que a digestibilidade protéica desses feijões pode estar sendo influenciada pela variedade-localidade e também pela interação variedade-localidade (BARAMPAMA e SIMARD, 1993).

PUSZTAI et al. (1979) e SATHE et al. (1984a) obtiveram valores de digestibilidade *in vitro* de feijão variando de 43,5 a 74% e SALUNKHE e KADAM (1989), valores bem mais baixos, que variaram de 36,3 a 56%.

Pelos resultados apresentados no Quadro 13 (digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos), observa-se que os valores de digestibilidade *in vitro* estão muito próximos dos da digestibilidade verdadeira *in vivo*, apresentando uma diferença que variou de -2,95 a +3,98, nos feijões Rudá e Carioca.

Com relação à digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados durante 30 dias (Quadro 14), observou-se que a diferença entre os valores *in vivo* e *in vitro* foi maior, variando de -9,65 a +1,09 nos feijões Pérola e Carioca, respectivamente. Esses resultados indicam que, apesar de os ensaios *in vitro* e *in vivo* apresentarem o mesmo coeficiente de correlação (Quadros 9 e 10), a menor diferença encontrada nos valores absolutos de digestibilidade foi dos feijões recém-colhidos (Quadro 13) e que a equação que melhor reflete esses resultados é a obtida dos resultados usando todas as variedades de feijões recém-colhidos.

O mesmo acontece nos resultados de digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos (Quadro 15), apresentando uma diferença que varia de -2,97 a +2,61 nos feijões Rudá e Diamante Negro, respectivamente.

Quadro 15 – Medidas *in vivo* e *in vitro* da digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos, utilizando-se a equação de regressão do Método 4

Amostras	Digestibilidade <i>in vivo</i> *	Digestibilidade <i>in vitro</i>	Diferença
Caseína	98,79 <sup>a</sup>	99,78	-0,99
Ouro Branco	93,62 <sup>a,b</sup>	92,24	1,38
Aporé	90,64 <sup>b,c,d</sup>	90,17	0,47
Pérola	91,12 <sup>b,c,d</sup>	89,55	1,57
Diamante Negro	91,01 <sup>b,c,d</sup>	88,40	2,61
Vermelho Coimbra	90,02 <sup>b,c,d</sup>	89,01	1,01
A774	88,21 <sup>b,c,d,e</sup>	88,13	0,08
Aruã	88,21 <sup>b,c,d,e</sup>	88,24	-0,03
Ouro Negro	87,11 <sup>b,c,d,e</sup>	88,24	-1,13
Carioca	87,64 <sup>c,d,e</sup>	87,09	0,55
RAO 33	85,22 <sup>d,e</sup>	87,36	-2,14
Rudá	84,89 <sup>e</sup>	87,86	-2,97

\* As médias dentro da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

Na digestibilidade aparente dos feijões armazenados durante 30 dias (Quadro 16), observou-se, também, que a diferença entre os valores *in vivo* e *in vitro* foi maior, variando de -7,75 no feijão Pérola a +3,12 no feijão A774. Esses resultados indicam que a melhor correlação encontrada entre a digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos e a determinada *in vitro*, utilizando todas as variedades de feijões recém-colhidos (Quadro 11), também reflete a menor diferença entre os valores absolutos de digestibilidade *in vivo* e *in vitro* e que o tempo de armazenamento interfere de forma negativa, aumentando a diferença entre esses valores absolutos.

Quadro 16 – Medidas *in vivo* e *in vitro* da digestibilidade aparente dos feijões armazenados durante 30 dias, utilizando-se a equação de regressão do Método 4

Amostras	Digestibilidade <i>in vivo</i> *	Digestibilidade <i>in vitro</i>	Diferença
Caseína	97,02 <sup>a</sup>	97,56	-0,54
Ouro Branco	86,65 <sup>b</sup>	87,95	-1,30
Aporé	86,44 <sup>b</sup>	85,30	1,14
A774	85,82 <sup>b</sup>	82,70	3,12
Vermelho Coimbra	85,57 <sup>b</sup>	83,83	1,74
Aruã	85,30 <sup>b</sup>	82,85	2,45
Rudá	82,10 <sup>b,c</sup>	82,36	-0,26
Diamante Negro	80,61 <sup>b,c</sup>	81,38	-0,77
Carioca	80,57 <sup>b,c</sup>	81,38	-0,81
Ouro Negro	80,49 <sup>b,c</sup>	82,85	-2,36
RAO 33	79,20 <sup>b,c</sup>	81,75	-2,25
Pérola	76,77 <sup>c</sup>	84,52	-7,75

\*As médias dentro da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### Grupo Carioca

Além das análises feitas de todas as variedades de feijões recém-colhidos e armazenados durante 30 dias, foram realizadas as mesmas análises no grupo

Carioca. Isso porque esse grupo apresentava o maior número de variedades entre os grupos analisados e também objetivava verificar se o grupo isolado teria alguma influência no tipo de metodologia a ser usada.

Os coeficientes de correlações ( $R^2$ ) e a correlação dos parâmetros da digestibilidade verdadeira do grupo Carioca recém-colhidos e armazenados encontram-se nos Quadros 17 e 18. As Figuras 13 e 14 representam graficamente, os Métodos 1 e 2 e as Figuras 15 e 16, os Métodos 3 e 4, para análise da digestibilidade verdadeira dos feijões do grupo Carioca recém-colhidos e armazenados, respectivamente.

Quadro 17 – Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade verdadeira e a determinada *in vitro*, pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se feijões do grupo Carioca recém-colhidos

Método	Correlação dos Parâmetros	$R^2$	Coefficiente de Correlação	Equação de Regressão*
1	- 0,93	0,86	0,93	
2	- 0,92	0,84	0,92	
3	0,92	0,84	0,92	
<b>4</b>	<b>0,95</b>	<b>0,90</b>	<b>0,95</b>	<b>Y=3,6246X + 83,26</b>

\* Equação obtida através da análise de regressão linear.

Método 1 – HSU et al. (1977).

Método 2 – SATERLEE et al. (1979).

Método 3 – PEDERSEN e EGGUM (1983).

Método 4 – Método desenvolvido neste trabalho.

Quadro 18 – Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade verdadeira e a determinada *in vitro*, pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se feijão do grupo Carioca com 30 dias de armazenamento

Método	Correlação dos Parâmetros	$R^2$	Coefficiente de Correlação	Equação de Regressão*
<b>1</b>	<b>- 0,95</b>	<b>0,90</b>	<b>0,95</b>	<b><math>Y = -16,027X + 200,95</math></b>
2	- 0,94	0,89	0,94	
3	0,91	0,83	0,91	
4	0,94	0,88	0,94	

\* Equação obtida através da análise de regressão linear.

Método 1 – HSU et al. (1977).

Método 2 – SATERLEE et al. (1979).

Método 3 – PEDERSEN e EGGUM (1983).

Método 4 – Método desenvolvido neste trabalho.

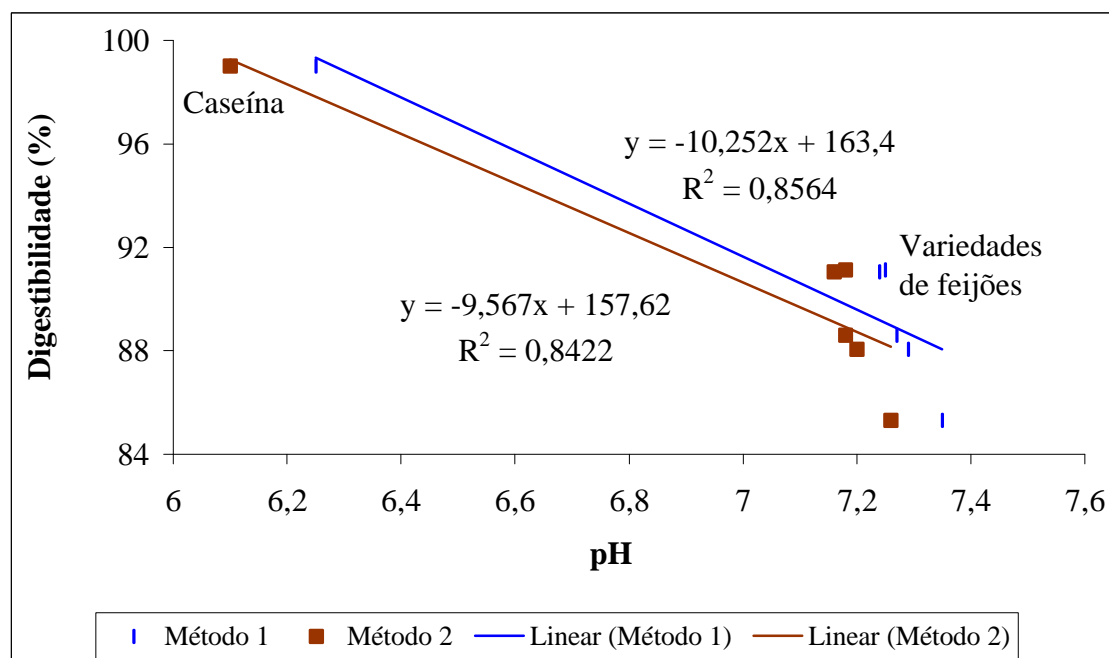


Figura 13 – Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões do grupo Carioca recém-colhidos.

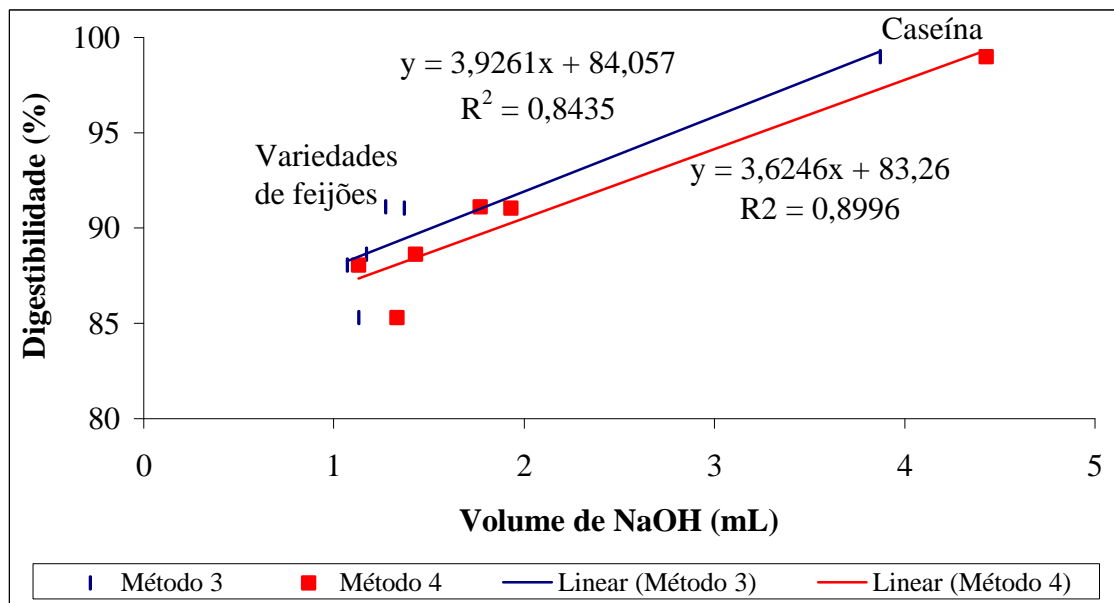


Figura 14 – Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões do grupo Carioca recém-colhidos.

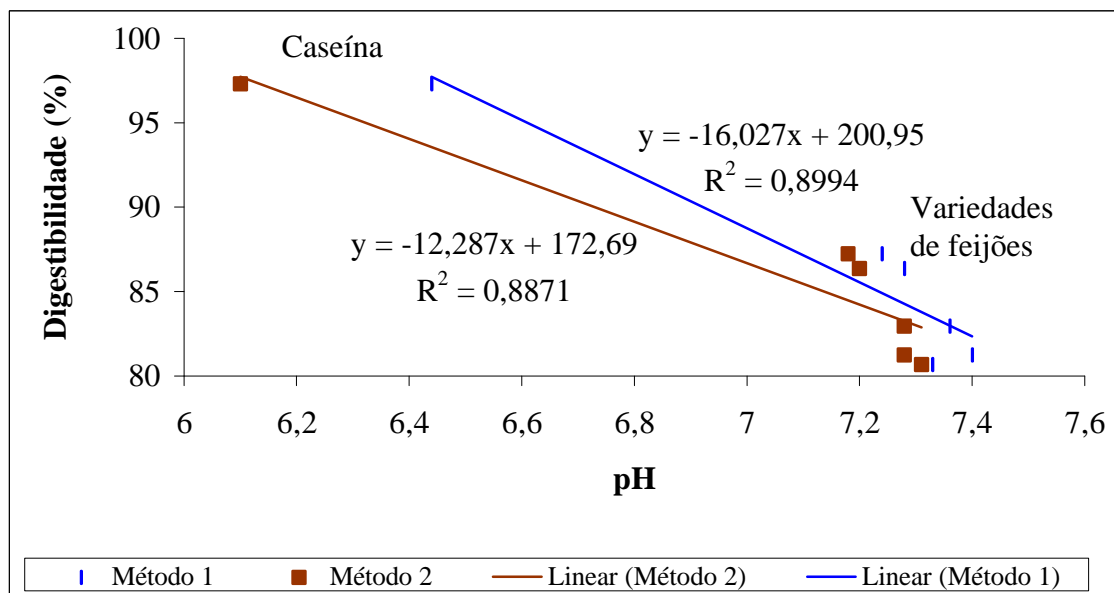


Figura 15 – Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões do grupo Carioca armazenados.

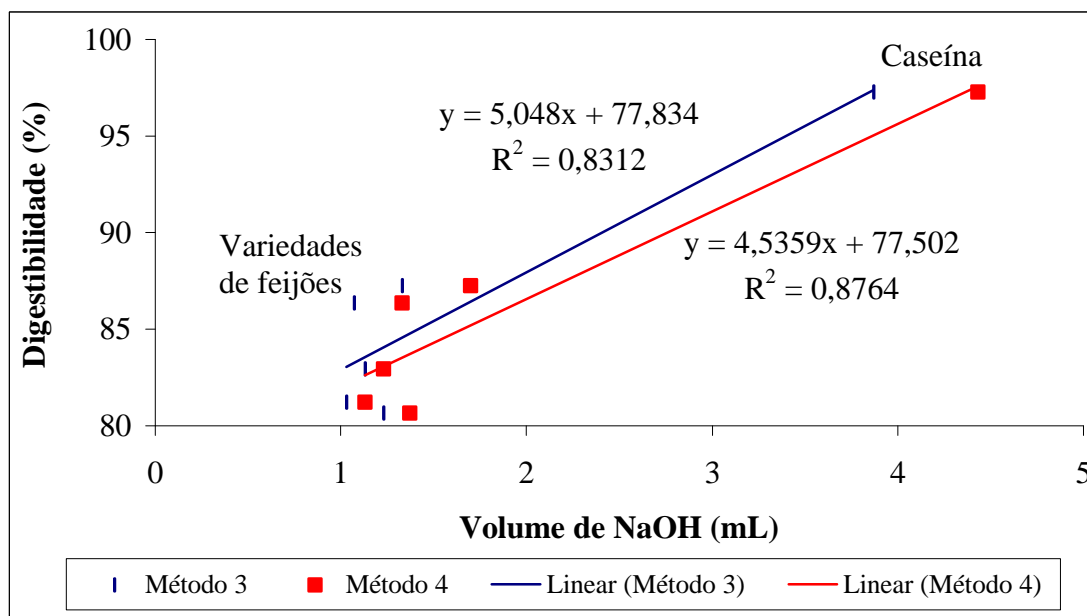


Figura 16 – Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade verdadeira de feijões do grupo Carioca armazenados.

De acordo com os valores obtidos para digestibilidade verdadeira de feijões recém-colhidos e armazenados, observou-se que os melhores resultados foram pelos Métodos 4 e 1, respectivamente, que apresentaram um coeficiente de correlação de 0,95 e  $R^2$  de 0,90 em feijões recém-colhidos e 0,95 e  $R^2$  de 0,90 em feijão armazenado. Observou-se também que, mesmo que a melhor correlação seja pelo Método 1, o método desenvolvido no presente trabalho, ou seja, o Método 4, apresentou valores muito semelhantes, indicando que esse método pode ser também utilizado nessa avaliação. Verifica-se, ainda, que o tempo de armazenamento não foi suficiente para afetar a correlação entre os estudos *in vitro* e os ensaios *in vivo*.

Pelos dados de digestibilidade aparente de feijões recém-colhidos (Quadro 19), observou-se que o melhor resultado foi do Método 4, que apresentou coeficiente de correlação de 0,95 e  $R^2$  de 0,90. Com relação ao feijão armazenado (Quadro 20), o melhor resultado foi pelo Método 2, que exibiu um coeficiente de correlação de 0,91 e  $R^2$  de 0,83. Quanto à digestibilidade aparente, verificou-se que o tempo de armazenamento reduziu a correlação encontrada

entre os estudos *in vitro* e *in vivo*. As Figuras 17 e 18 representam graficamente os Métodos 1, 2, 3 e 4 para digestibilidade aparente dos feijões do grupo Carioca recém-colhidos e as Figuras 19 e 20, esses mesmos métodos para a dos feijões armazenados.

Quadro 19 – Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade aparente dos feijões do grupo Carioca recém-colhidos e a determinada *in vitro*, pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se feijões do grupo Carioca recém-colhidos

Método	Correlação dos Parâmetros	$R^2$	Coefficiente de Correlação	Equação de Regressão*
1	- 0,93	0,86	0,93	
2	- 0,92	0,85	0,92	
3	0,92	0,85	0,92	
<b>4</b>	<b>0,95</b>	<b>0,90</b>	<b>0,95</b>	<b>Y=3,6862X + 82,772</b>

\* Equação obtida através da análise de regressão linear.

Método 1 – HSU et al. (1977).

Método 2 – SATERLEE et al. (1979).

Método 3 – PEDERSEN e EGGUM (1983).

Método 4 – Método desenvolvido neste trabalho.

Quadro 20 – Correlação ( $R^2$ ) entre a digestibilidade aparente dos feijões do grupo Carioca armazenados e a determinada *in vitro*, pelos Métodos 1, 2, 3 e 4, utilizando-se feijões do grupo Carioca com 30 dias de armazenamento

Método	Correlação dos Parâmetros	$R^2$	Coefficiente de Correlação	Equação de Regressão*
1	- 0,91	0,82	0,91	
<b>2</b>	<b>- 0,91</b>	<b>0,83</b>	<b>0,91</b>	<b>Y=-13,443X + 179,6</b>
3	0,87	0,76	0,87	
4	0,90	0,80	0,90	

\* Equação obtida através da análise de regressão linear.

Método 1 – HSU et al. (1977).

Método 2 – SATERLEE et al. (1979).

Método 3 – PEDERSEN e EGGUM (1983).

Método 4 – Método desenvolvido neste trabalho.

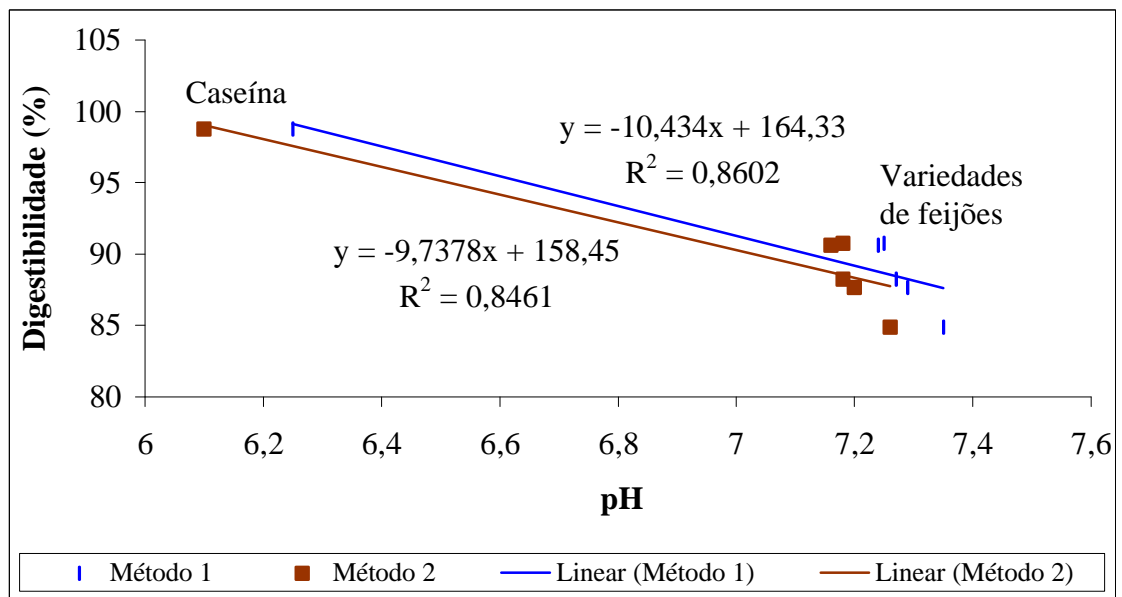


Figura 17 – Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões do grupo Carioca recém-colhidos.

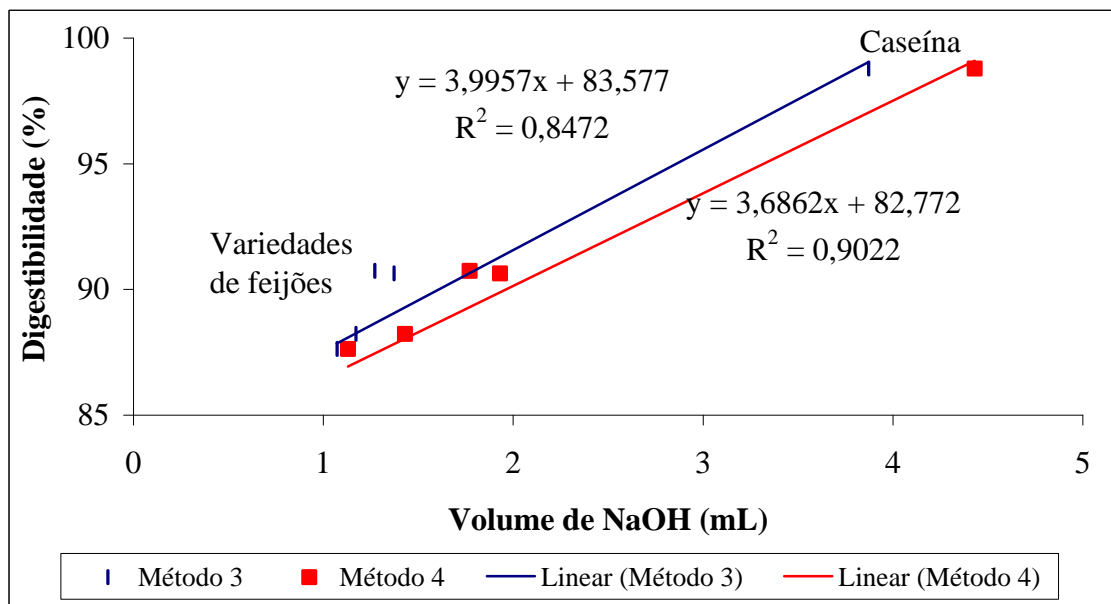


Figura 18 – Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões do grupo Carioca recém-colhidos.

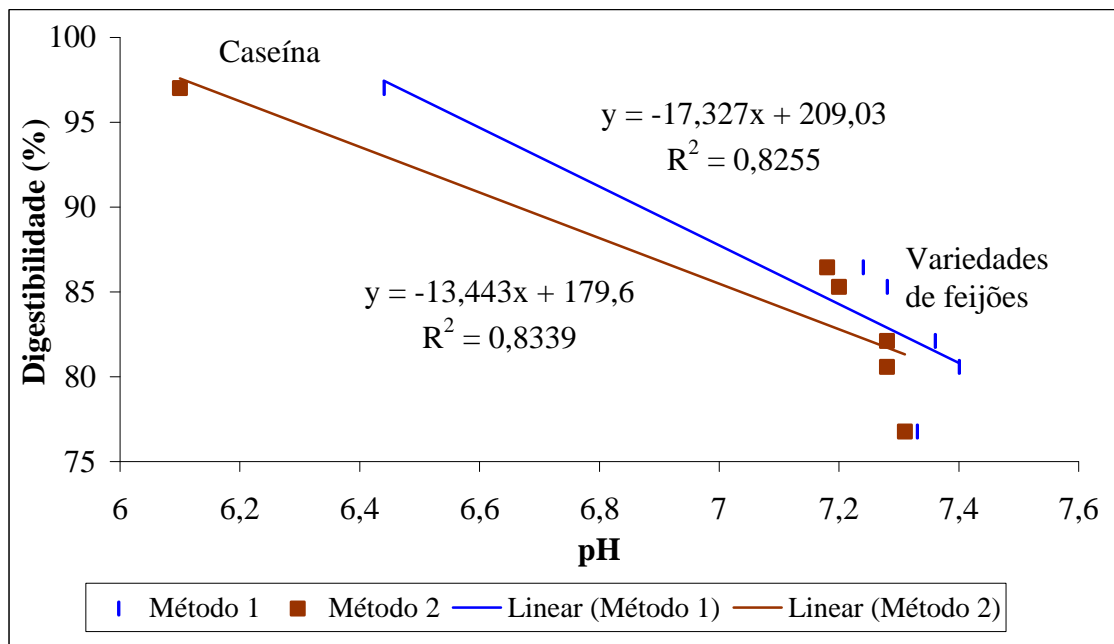


Figura 19 – Modelo representativo dos Métodos 1 e 2, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões do grupo Carioca armazenados.

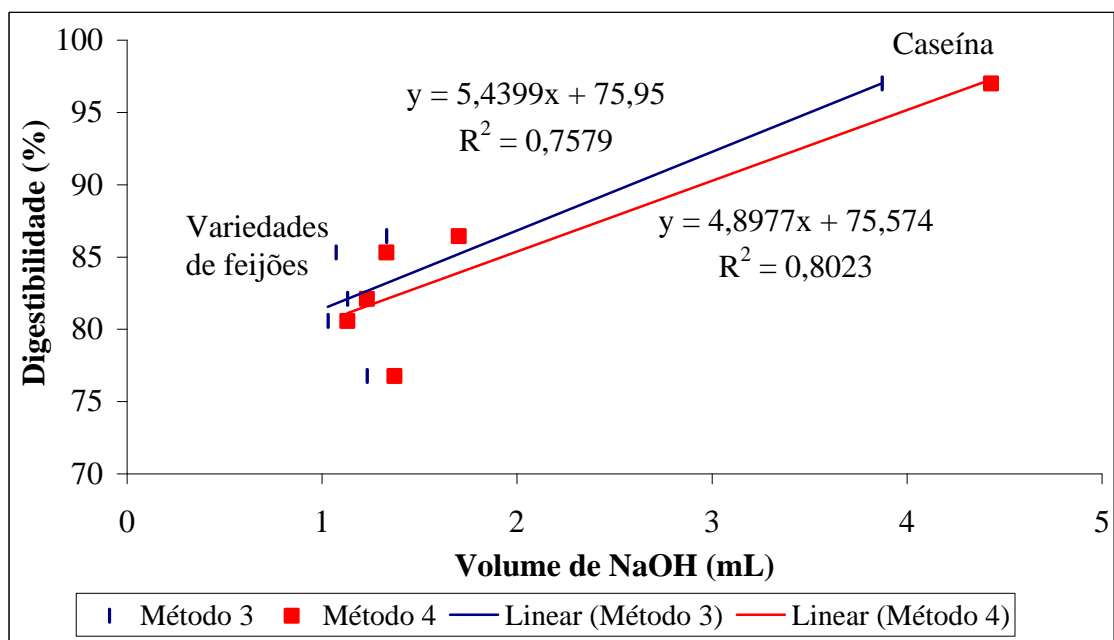


Figura 20 – Modelo representativo dos Métodos 3 e 4, utilizando-se a digestibilidade aparente de feijões do grupo Carioca armazenados.

Pelos valores apresentados no Quadro 21, observa-se que os valores de digestibilidade *in vitro* estão muito próximos dos resultados da digestibilidade verdadeira *in vivo*, exibindo uma diferença que varia de -2,77 no feijão Rudá a +4,15 no feijão Carioca.

Quadro 21 – Medidas *in vivo* e *in vitro* da digestibilidade verdadeira dos feijões recém-colhidos, utilizando-se a equação de regressão do Método 4, em que X = volume de NaOH

Amostras	Digestibilidade <i>in vivo</i> *	Digestibilidade <i>in vitro</i>	Diferença
Caseína (T1)	99,00	99,31	-0,31
Carioca (T2)	91,50	87,35	4,15
Aruã (T3)	90,44	88,44	2,00
Pérola (T4)	91,12	89,67	1,45
Aporé (T5)	91,04	90,25	0,79
Rudá (T6)	85,31	88,08	-2,77

\*Para esse parâmetro foi realizado o teste de Sheffé, sendo significativo a 5% de probabilidade para o contraste  $C = Y1 - Y2$ ,  $Y1 = (T2 + T3 + T4 + T5 + T6)/5$  e  $Y2 = (T1)/1$ .

em que:

C= contraste;

T1= caseína;

T2= Aporé;

T3= Aruã;

T4= Rudá;

T5= Carioca; e

T6= Pérola.

Para a digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados (Quadro 22), observou-se que a diferença entre os valores *in vivo* e *in vitro* foi maior, variando de -6,68 no feijão Pérola a +2,59 no feijão Carioca. Esses resultados indicam que, apesar de os ensaios *in vitro* e *in vivo* (Quadros 17 e 18) apresentarem o mesmo coeficiente de correlação e de os métodos serem diferentes, a menor diferença encontrada nos valores absolutos de digestibilidade foi nos feijões

Quadro 22 – Medidas *in vivo* e *in vitro* da digestibilidade verdadeira dos feijões armazenados, utilizando-se a equação de regressão do Método 1, em que X = pH medido após 10 minutos

Amostras	Digestibilidade <i>in vivo</i> *	Digestibilidade <i>in vitro</i>	Diferença
Caseína	97,30	97,73	-0,43
Aporé	87,30	84,71	2,59
Aruã	86,39	84,46	1,93
Rudá	82,95	83,48	-0,53
Carioca	81,37	84,22	-2,85
Pérola	77,58	84,46	-6,68

\*Para esse parâmetro foi realizado o teste de Sheffé, sendo significativo a 5% de probabilidade para o contraste  $C = Y1 - Y2$ ,  $Y1 = (T2 + T3 + T4 + T5 + T6)/5$  e  $Y2 = (T1)/1$ .

recém-colhidos (Quadro 21), e a equação que melhor reflete esses resultados é a obtida dos resultados recém-colhidos utilizando o método desenvolvido no presente trabalho, ou seja, o Método 4.

Pelos valores apresentados no Quadro 23, observa-se que os valores de digestibilidade *in vitro* estão muito próximos dos resultados da digestibilidade aparente *in vivo*, mostrando uma diferença que varia de -2,78 no feijão Rudá a +1,83 no feijão Pérola.

Com relação à digestibilidade aparente dos feijões armazenados (Quadro 24), observou-se também que a diferença entre os valores *in vivo* e *in vitro* foi maior que a digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos, variando de -6,30 no feijão Pérola a +3,10 no feijão Aporé. Esses resultados indicam que a melhor correlação para digestibilidade aparente foi aquela usando os feijões recém-colhidos (Quadro 19).

Pelos resultados apresentados, verificou-se que as equações que melhor correlacionam os dados *in vivo* e *in vitro* são, na sua grande maioria, as obtidas usando os feijões recém-colhidos, através do Método 4, tanto para a digestibilidade verdadeira quanto para a aparente. Verificou-se ainda que as condições e o tempo de armazenamento interferem de forma negativa, diminuindo a correlação entre os estudos.

Quadro 23 – Medidas *in vivo* e *in vitro* da digestibilidade aparente dos feijões recém-colhidos, utilizando-se a equação de regressão do Método 4, em que X = volume de NaOH

Amostras	Digestibilidade <i>in vivo</i> *	Digestibilidade <i>in vitro</i>	Diferença
Caseína	98,79	99,10	-0,31
Aporé	90,64	89,88	0,76
Aruã	88,21	88,04	0,17
Rudá	84,89	87,67	-2,78
Carioca	87,64	86,93	0,71
Pérola	91,12	89,29	1,83

\*Para esse parâmetro foi realizado o teste de Scheffé, sendo significativo a 5% de probabilidade para o contraste  $C = Y1 - Y2$ ,  $Y1 = (T2 + T3 + T4 + T5 + T6)/5$  e  $Y2 = (T1)/1$ .

em que:

C= contraste;

T1= caseína;

T2= Aporé;

T3= Aruã;

T4= Rudá;

T5= Carioca; e

T6= Pérola.

Quadro 24 – Medidas *in vivo* e *in vitro* da digestibilidade aparente dos feijões, utilizando-se a equação de regressão do Método 2, em que X = pH medido após 20 minutos

Amostras	Digestibilidade <i>in vivo</i> *	Digestibilidade <i>in vitro</i>	Diferença
Caseína	97,02	97,59	-0,57
Aporé	86,44	83,34	3,10
Aruã	85,30	83,07	2,23
Rudá	82,10	82,00	0,10
Carioca	80,57	82,81	-2,24
Pérola	76,77	83,07	-6,30

\*Para esse parâmetro foi realizado o teste de Sheffé, sendo significativo a 5% de probabilidade para o contraste  $C = Y1 - Y2$ ,  $Y1 = (T2 + T3 + T4 + T5 + T6)/5$  e  $Y2 = (T1)/1$ .

em que :

C= contraste;

T1= caseína;

T2= Aporé;

T3= Aruã;

T4= Rudá;

T5= Carioca; e

T6= Pérola.

#### 4.4. PER (Protein Efficiency Ratio)

A análise de PER (Protein Efficiency Ratio) é extremamente usada para estimar a qualidade protéica de um alimento. Essa análise não leva em consideração as exigências de proteína para manutenção e sim a capacidade da proteína em promover o ganho de peso (WU et al., 1996). RPER é PER Relativo, na qual o PER da dieta-teste é expresso em porcentagem da dieta de referência.

Os resultados do PER e RPER, no experimento com ratos convencionais, encontram-se no Quadro 25.

Os valores obtidos por meio de PER e RPER nos feijões armazenados situaram-se entre 1,67 e 42,60% na variedade Vermelho Coimbra a 2,40 e 61,24% na variedade Ouro Branco, diferindo ( $P < 0,05$ ) do valor obtido da caseína.

Quadro 25 – PER e RPER (PER Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Dietas	Grupo	PER <sub>14</sub> *	RPER <sub>14</sub> *(%)
Caseína	-	3,92 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Ouro Branco	Branco	2,40 <sup>b</sup>	61,24 <sup>b</sup>
Pérola	Carioca	2,38 <sup>b</sup>	60,71 <sup>b</sup>
Aporé	Carioca	2,04 <sup>b</sup>	52,04 <sup>b</sup>
A 774	Mulatinho	2,04 <sup>b</sup>	52,04 <sup>b</sup>
Aruã	Carioca	1,99 <sup>b</sup>	50,76 <sup>b</sup>
Ouro Negro	Preto	1,99 <sup>b</sup>	50,76 <sup>b</sup>
Carioca	Carioca	1,98 <sup>b</sup>	50,51 <sup>b</sup>
RAO 33	Roxo	1,96 <sup>b</sup>	50,00 <sup>b</sup>
Diamante Negro	Preto	1,95 <sup>b</sup>	49,74 <sup>b</sup>
Rudá	Carioca	1,88 <sup>b</sup>	47,95 <sup>b</sup>
Vermelho Coimbra	Vermelho	1,67 <sup>b</sup>	42,60 <sup>b</sup>

\* As médias dentro da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. PER<sub>14</sub> e RPER<sub>14</sub> foram determinados no 14<sup>o</sup> dia do experimento.

CRUZ et al. (2003), trabalhando com as mesmas variedades recém-colhidas, encontraram valores de 2,36 na variedade Ouro Branco e 1,32 na variedade Vermelho Coimbra. Esses resultados indicam que o tempo de armazenamento, medido pelo PER, não foi suficiente para afetar a qualidade da proteína.

Entre as amostras de feijão analisadas, a variedade Ouro Branco foi a que obteve um melhor desempenho nutricional, apresentando valores de PER e RPER maiores ( $P < 0,05$ ), e a variedade Vermelho Coimbra foi a que obteve menor valor, diferindo ( $P < 0,05$ ) das outras variedades analisadas. Tais resultados estão de acordo com os obtidos por BRESSANI e ELIAS (1984), em que os feijões brancos apresentaram melhor desempenho nutricional que o roxo, preto ou marrom.

ANTUNES et al. (1995), trabalhando com quatro variedades de feijão, encontraram valores de PER que variaram de 0,75 a 1,23; valores inferiores, portanto, aos obtidos no presente trabalho.

HUGHES et al. (1996), em um estudo com ratos convencionais, determinaram, para uma variedade de feijão-branco e uma de feijão-preto analisados, os valores de  $PER_{14}$  (PER determinado no 14º dia do experimento) de 3,20 e 2,68, respectivamente.

DURIGAN et al. (1987) encontraram, nas duas variedades de feijão-preto, valores de 0,83 e 1,05 para  $PER_{10}$  (PER determinado no 10º dia do experimento).

CHIARADIA (1997) determinou para  $PER_{28}$  (PER determinado no 28º dia do experimento) e RPER para feijão-preto com tegumento os valores de 1,21 e 37,25%.

Observa-se, pelos resultados apresentados no Quadro 25, que todas as variedades analisadas diferiram significativamente do padrão (caseína), e o mesmo ocorre com a análise do grupo Carioca, em que a caseína foi superior, estatisticamente, às variedades analisadas (Quadro 26).

Quadro 26 – PER (Protein Efficiency Ratio ou Coeficiente de Eficácia Protéica) da dieta de caseína e das variedades de feijão do grupo Carioca, cozido e com casca, armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Variável	DMS (Diferença Mínima Significativa)
PER	0.8807*

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Scheffé, para o contraste testado  $C = Y1 - Y2$ ,  $Y1 = (T2 + T3 + T4 + T5 + T6)/5$  e  $Y2 = (T1)/1$ .

em que:

C= contraste;

T1= caseína;

T2= Aporé;

T3= Aruã;

T4= Rudá

T5= Carioca; e

T6= Pérola.

No presente trabalho, observou-se que, em termos percentuais, os valores de RPER<sub>14</sub> não apresentaram diferenças entre as dietas à base de feijão, mas diferiram com relação à caseína.

#### 4.5. NPR (Net Protein Ratio)

A análise de NPR requer de 10 a 14 dias de duração e inclui um segundo grupo de animais, que são alimentados com uma dieta livre de proteína (D13), e assume que a perda de peso desse grupo seja uma medida da exigência de manutenção de peso do animal (WU et al., 1996). RNPR é NPR Relativo, na qual o NPR da dieta-teste é expresso em porcentagem da dieta de referência, como recomendado por HAPPICH et al. (1984).

Os resultados do NPR e RNPR, no experimento com ratos convencionais, encontram-se no Quadro 27.

Quadro 27 – NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida) RNPR (NPR Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Dietas	Grupo	NPR*	RNPR*(%)
Caseína	-	4,43 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Ouro Branco	Branco	3,55 <sup>b</sup>	80,13 <sup>b</sup>
Pérola	Carioca	3,47 <sup>b</sup>	78,32 <sup>b</sup>
Aruã	Carioca	3,28 <sup>b,c</sup>	74,04 <sup>b,c</sup>
A 774	Mulatinho	3,13 <sup>b,c</sup>	70,65 <sup>b,c</sup>
Ouro Negro	Preto	3,09 <sup>b,c</sup>	69,75 <sup>b,c</sup>
Carioca	Carioca	3,09 <sup>b,c</sup>	69,75 <sup>b,c</sup>
Rudá	Carioca	3,07 <sup>b,c</sup>	69,03 <sup>b,c</sup>
RAO 33	Roxo	3,03 <sup>b,c</sup>	68,39 <sup>b,c</sup>
Aporé	Carioca	3,01 <sup>b,c</sup>	67,94 <sup>b,c</sup>
Diamante Negro	Preto	2,98 <sup>b,c</sup>	67,26 <sup>b,c</sup>
Vermelho Coimbra	Vermelho	2,54 <sup>c</sup>	57,33 <sup>c</sup>

\* As médias dentro da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

Observa-se, pelos resultados apresentados no Quadro 27, que todas as variedades analisadas diferiram significativamente do padrão (caseína), e o mesmo ocorre com a análise do grupo Carioca, em que a caseína foi superior, estatisticamente, às variedades analisadas (Quadro 28).

Quadro 28 – NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Variável	DMS (Diferença Mínima Significativa)
NPR	0,8293*

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Scheffé, para o contraste testado  $C = Y1 - Y2$ ,  $Y1 = (T2 + T3 + T4 + T5 + T6)/5$  e  $Y2 = (T1)/1$ .

em que:

C= contraste;

T1= caseína;

T2= Aporé;

T3= Aruã;

T4= Rudá;

T5= Carioca; e

T6= Pérola.

O NPR e o RNPR das variedades de feijão armazenado foram menores ( $P < 0,05$ ) que os encontrados na caseína e situaram-se entre 2,54 e 57,33% na variedade Vermelho Coimbra a 3,55 e 80,13% na variedade Ouro Branco, diferindo dos resultados encontrados por CRUZ et al. (2003), que, trabalhando com as mesmas variedades de feijão recém-colhidas, obtiveram valores de NPR e RNPR de 2,57 e 56,35% no feijão Vermelho Coimbra a 3,49 e 76,53% no feijão Ouro Branco. Esses resultados não indicaram diferenças significativas nas variedades obtidas recém-colhidas e armazenadas, evidenciando que as condições e o tempo de armazenamento não afetaram significativamente a qualidade protéica.

SABARENSE (1993) determinou NPR de uma variedade de feijão-vermelho recém-colhido e armazenado por três e seis meses, em temperatura ambiente, encontrando os valores 1,35; 1,99; e 1,76, respectivamente, e também observou que o tempo e as condições de armazenamento não afetaram significativamente a qualidade protéica, determinada pelo NPR.

Entre as variedades analisadas, Ouro Branco apresentou maior valor de NPR, enquanto Vermelho Coimbra obteve o menor valor (Quadro 27).

OLIVEIRA et al. (2001), trabalhando com feijão da variedade IAC Carioca, submetido a vários tipos de processamento doméstico, encontraram valores de NPR de 2,9 no feijão cozido sem maceração, 2,9 no feijão cozido sem água de maceração e 2,8 no feijão cozido com água de maceração.

QUINTANA et al. (2000), trabalhando com quatro variedades melhoradas de feijão, encontraram para NPR valores que variaram de 2,63 a 2,37.

BRESSANI e ELIAS (1984) encontraram, nos feijões-preto, roxo e branco, valores de NPR de 1,79; 1,80; e 1,94, respectivamente. Esses valores são inferiores, portanto, aos encontrados no presente trabalho, que foram de 3,09 e 2,98 nas duas variedades (Ouro Negro e Diamante Negro), 3,03 na variedade roxa (RAO 33) e 3,55 na variedade branca (Ouro Branco).

DUARTE (1995) determinou valores de 2,97 e 2,22 no feijão-preto com caldo e sem caldo, diferindo, portanto, da variedade Ouro Negro, que foi de 3,09.

CHIARADIA et al. (1999) determinaram o NPR de feijão-preto com tegumento e com a retirada parcial do tegumento após a cocção, encontrando valores de 2,07 e 2,04.

WU et al. (1996), em estudo para verificar o efeito térmico na qualidade da proteína de uma variedade de feijão-vermelho, encontraram valores de NPR e RNPR que variaram de 0,86 a 1,32 e 28,8 a 41,2%, respectivamente, diferindo dos valores encontrados na variedade Vermelho Coimbra, que foram de 2,57 e 56,35%.

DURIGAN et al. (1987), em experimentos com ratos convencionais, determinaram NPR nas variedades de feijão-preto Iguacú e Rico 23 e encontraram valores de 2,24 e 2,35, respectivamente.

Observa-se, pelos resultados apresentados no Quadro 27, que os valores obtidos pelo NPR e RNPR foram altos em relação aos citados na literatura, e o tempo de armazenamento não foi suficiente para reduzir a qualidade protéica. Nesse mesmo quadro, pode-se perceber que a dieta de caseína foi estatisticamente superior, diante de todas as variedades analisadas e também daquelas do grupo Carioca.

#### 4.6. NPU (Net Protein Utilization)

Os valores de NPU da caseína e das variedades de feijão analisadas encontram-se no Quadro 29. Verifica-se que as variedades Ouro Branco, Ouro Negro e Aruã apresentaram valores de NPU estatisticamente iguais aos da caseína e que essa diferença não existe entre as outras variedades de feijão analisadas, incluindo as variedades do grupo Carioca (Quadro 30).

Quadro 29 – NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Protéica Líquida) e RNPU (NPU Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, e armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Amostras	Grupo	NPU *	RNPU%
Caseína	-	67,53 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Ouro Branco	Branco	52,47 <sup>a,b</sup>	77,69 <sup>a,b</sup>
Ouro Negro	Preto	51,94 <sup>a,b</sup>	76,91 <sup>a,b</sup>
Aruã	Carioca	51,14 <sup>a,b</sup>	75,72 <sup>a,b</sup>
Diamante Negro	Preto	49,38 <sup>b</sup>	73,12 <sup>b</sup>
Pérola	Carioca	49,25 <sup>b</sup>	72,93 <sup>b</sup>
Carioca	Carioca	47,47 <sup>b</sup>	70,29 <sup>b</sup>
Rudá	Carioca	46,88 <sup>b</sup>	69,42 <sup>b</sup>
A 774	Mulatinho	45,43 <sup>b</sup>	67,27 <sup>b</sup>
RAO 33	Roxo	43,98 <sup>b</sup>	65,12 <sup>b</sup>
Aporé	Carioca	42,61 <sup>b</sup>	63,09 <sup>b</sup>
Vermelho Coimbra	Vermelho	38,35 <sup>b</sup>	56,64 <sup>b</sup>

\* As médias dentro da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

Quadro 30 – NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Protéica Líquida) da dieta de caseína e das variedades de feijão do grupo Carioca, cozido e com casca, armazenado por 30 dias, no experimento com ratos convencionais

Variável	DMS (Diferença Mínima Significativa)
NPU	19,0776*

\*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Scheffé, para o contraste testado  $C = Y1 - Y2$ ,  $Y1 = (T2 + T3 + T4 + T5 + T6)/5$  e  $Y2 = (T1)/1$ .

em que:

C= contraste;

T1= caseína;

T2= Aporé;

T3= Aruã;

T4= Rudá;

T5= Carioca; e

T6= Pérola.

Os resultados de NPU e RNPU, obtidos nas variedades analisadas, situaram-se entre 38,36 a 52,47 e 56,64 a 77,69%, sendo, portanto, superiores aos valores encontrados por DUARTE (1995) de 34,7 e 33,91% no feijão-preto com e sem caldo, respectivamente. CHIARADIA (1999) obteve no feijão-preto 34,74% e no feijão-preto submetido à extração de polifenóis, 35,58% de NPU.

CRUZ et al. (2003), trabalhando com as mesmas variedades recém-colhidas, encontraram valores que variaram de 42,61 a 54,27% superiores, portanto aos resultados obtidos no presente trabalho. Isso indica que o tempo de armazenamento afetou a qualidade da proteína, apesar de não ter sido evidenciado pelas análises de PER e NPR. Como a análise de NPU representa o percentual de proteína ingerida que foi retida no organismo do animal, a redução dos seus valores indicam que as condições e o tempo de armazenamento foram suficientes para interferir na utilização da proteína pelo organismo.

PEREIRA (1998), determinando o NPU da variedade de feijão-preto sem casca, encontrou 38,44%. CHIARADIA (1997) determinou o NPU de uma

variedade de feijão-carioquinha com e sem caldo, conseguindo os valores de 34,54 e 41,41%. Esse resultado foi atribuído a uma menor quantidade de polifenóis presentes na casca de feijão-carioquinha, em comparação com o feijão-preto.

Os valores de NPU encontrados nas variedades de feijão armazenadas durante 30 dias foram, na sua totalidade, superiores aos apresentados na literatura, o que demonstra que, apesar do tempo de armazenamento, essas variedades têm um aproveitamento nutricional melhor do que outras variedades.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a qualidade da proteína das variedades dos feijões Aporé, Aruã, A 774, Carioca, Diamante Negro, Ouro Branco, Ouro Negro, Pérola, RAO 33, Rudá e Vermelho Coimbra, armazenados, por 30 dias, em temperatura ambiente.

Para obtenção da farinha de feijão cozido com casca, os grãos de cada variedade foram limpos e coccionados, em panela de pressão doméstica, durante 40 minutos. Após o cozimento, foram secados e moídos.

Todas as variedades foram submetidas à avaliação da qualidade protéica, por meio de ensaios biológicos em ratos recém-desmamados, em que foram analisados digestibilidades verdadeira e aparente, Protein Efficiency Ratio (PER), Net Protein Ratio (NPR) e Net Protein Utilization (NPU). Foram também analisados quatro sistemas (Métodos 1, 2, 3 e 4) para ensaio de digestibilidade *in vitro*, utilizando-se um sistema multienzimático, e, assim, correlacionar os estudos *in vitro* com os ensaios *in vivo*. Para predizer uma melhor equação de correlação, empregaram-se nos testes duas combinações das amostras analisadas, verificando, dessa forma, a interferência da variedade e do tempo de armazenamento sobre a digestibilidade da proteína.

Os resultados encontrados nas análises realizadas foram:

- A concentração de proteína variou, nos feijões recém-colhidos, de 15,94 no feijão Ouro Negro a 23,28% no feijão Aporé, já nos feijões armazenados essa concentração oscilou de 17,02 no feijão Rudá a 24,32% no feijão Aporé.
- Os resultados evidenciaram que as digestibilidades verdadeira e aparente das amostras estudadas variaram de 77,58 e 76,77% no feijão Pérola a 87,46 e 86,65% no feijão Ouro Branco, respectivamente.
- Na análise de PER, a variedade Ouro Branco foi a que obteve melhor desempenho nutricional, apresentando valores de PER e RPER de 2,40 e 61,24%, e a variedade Vermelho Coimbra foi a que exibiu menor valor de 1,67 para PER e 42,60% para NPR, diferindo ( $P < 0,05$ ) das outras variedades analisadas e do valor obtido na caseína.
- O NPR e o RNPR das variedades de feijão armazenado foram menores ( $P < 0,05$ ) que os da caseína e situaram-se entre 2,54 e 57,33% na variedade Vermelho Coimbra a 3,55 e 80,13% na variedade Ouro Branco.
- Os resultados de NPU e RNPU, obtidos nas variedades analisadas, situaram-se entre 38,36 a 52,47 na variedade Vermelho Coimbra e 56,64 a 77,69% na variedade Ouro Branco.
- O método que obteve maior  $R^2$  e coeficiente de correlação com os ensaios *in vivo*, utilizando a combinação dos valores das digestibilidades aparente e verdadeira de todas as variedades de feijões recém-colhidos e armazenados, foi o desenvolvido neste trabalho, que apresentou valores variando de 0,75 a 0,83 para o  $R^2$  e de 0,87 a 0,91 para o coeficiente de correlação. A diferença entre os valores de digestibilidade *in vivo* e *in vitro*, calculados a partir desse método, foi menor nos feijões recém-colhidos e variou de - 2,95 a + 3,98 e de - 2,97 a + 2,61, com relação digestibilidades verdadeira e aparente, respectivamente. Nos feijões armazenados,

essa diferença foi maior, variando de  $-9,65$  a  $+1,09$  para a digestibilidade verdadeira e de  $-7,75$  a  $+3,12$  para a aparente.

- Na combinação dos valores de digestibilidades verdadeira e aparente das variedades do grupo Carioca, o melhor método também foi o desenvolvido neste trabalho para os feijões recém-colhidos. Os valores de  $R^2$  e coeficiente de correlação apresentados foram de  $0,90$  e  $0,95$ , tanto para a digestibilidade verdadeira quanto para a aparente. Com relação aos feijões armazenados, os melhores foram os métodos descritos por HSU et al. (1977) para a digestibilidade verdadeira e SATERLEE et al. (1979) para a digestibilidade aparente. Os valores de  $R^2$  e coeficiente de correlação apresentados foram de  $0,90$  e  $0,95$  para a digestibilidade verdadeira e  $0,83$  e  $0,91$  para a aparente.
- As diferenças entre os valores de digestibilidade *in vivo* e *in vitro*, calculados a partir desses métodos, no grupo Carioca também foram menores nos feijões recém-colhidos e variaram de  $-2,77$  a  $+4,15$  e de  $-2,78$  a  $+1,83$ , para as digestibilidades verdadeira e aparente, respectivamente. Nos feijões armazenados, a diferença foi maior, variando de  $-6,68$  a  $+2,59$  para a digestibilidade verdadeira e de  $-6,30$  a  $+3,10$  para a aparente.

Os valores de PER, NPR e NPU encontrados nas variedades de feijão armazenado durante 30 dias foram, na sua totalidade, superiores aos relatados na literatura. A variedade Ouro Branco também apresentou qualidade nutricional superior à das outras variedades.

Pelos resultados da digestibilidade *in vitro*, utilizando todas as variedades de todos os grupos e do grupo Carioca, verificou-se que as equações que melhor correlacionam os resultados *in vivo* e *in vitro* foram as obtidas usando os feijões recém-colhidos e o método desenvolvido neste trabalho (Método 4), tanto para a digestibilidade verdadeira quanto para a aparente, e que o tempo de armazenamento diminuiu a correlação entre os estudos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANNAPURNA, S. S.; PRASAD, D. S. Purification of trypsin/chymotrypsin inhibitor from jack fruit seeds. **J. Sci. Food Agric.**, v. 54, p. 399-411, 1991.

ANTUNES, P. L.; SGARBIERI, V. C. Influence of time and conditions of storage on technological and nutritional properties of a dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) variety Rosinha G2. **J. Food Sci.**, v. 44, p. 1703, 1979.

ANTUNES, P.L.; BILHALVA, A. B.; ELIAS, M.C.; SOARES, G.J.D. Valor Nutricional de Feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) Cultivares Rico 23, Carioca, Pirata-1 e Rosinha – G2. **Rev. Brás. Agroc.**, v. 1, n. 1, p. 12-18, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 14. ed. Arlington: AOAC, 1984. 1141 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** Washington: AOAC, 1975. 1094 p.

AW, T. L.; SWANSON, B. G. Influence of tannin on *Phaseolus vulgaris* protein digestibility and quality. **J. Food Sci.**, v. 50, n. 1, p. 67-71, 1985.

BARAMPANA, Z.; SIMARD, R. E. Oligosaccharides, antinutritional factors and protein digestibility of dry beans as affected by processing. **J. Food Sci.**, v. 59, n. 4, p. 833-838, 1994.

BENDER, A. E.; DOELL, B. H. Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. **Brit. J. Nutr.**, v. 11, p. 138-143, 1957.

BLANCO, A.; BRESSANI, R. Biodisponibilidad de aminoácidos en el frijol (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 41, n. 1, p. 38-51, 1991.

BODWELL, C. E.; SATTERLEE, L. D.; HACKLER, L. R. Protein digestibility of the same protein preparations by human and rat assays and by in vitro enzimic digestion methods. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 33, p. 677-686, 1980.

BOONVISUT, S.; WHITAKER, J. R. Effect of heat, amylase, and disulfide bond cleavage on the in vitro digestibility of soybean protein. **J. Agric. Food Chem.**, v. 24, n. 6, p. 1130-1135, 1976.

BRESSANI, R. Grain quality of common beans. **Food Rev. Int.**, v. 9, p. 237-297, 1993.

BRESSANI, R. Research needs to up-grade the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*). **Qual. Plant Foods Hum. Nutr.**, v. 32, p. 101-110, 1983.

BRESSANI, R. Revision sobre la calidad del grano de frijol. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 39, n. 3, p. 419-443, 1989.

BRESSANI, R.; ELIAS, L. G. Relación entre la digestibilidad y el valor proteínico del frijol común (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 34, n. 1, p. 189-197, 1984.

BRESSANI, R.; ELIAS, L. G. The nutritional role of polyphenols in beans. In: HULSE, J. H. **Polyphenols in cereals and legumes**. Canadá: Ottawa, 1980. p. 61-72.

BRESSANI, R.; MORA, D. R.; FLORES, R. Evaluación de dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido, y efecto que estos provocan en la digestibilidad de la proteína. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 41, n. 4, p. 569-583, 1991.

BRESSANI, R.; NAVARRETE, D. A.; GARCIA-SOTO, A. et alii. Culinary practices and consumption characteristics of common beans at the rural home level. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 31, n. 3, p. 550-570, 1981.

BRUNE, M.; HALLBERG, L.; SKANBERG, A. B. Determination of iron-binding phenolic groups in foods. **J. Food Sci.**, v. 56, n. 1, p. 128-131, 1991.

BURNS, R. A. Protease inhibitors in processed plant foods. **J. Food Prot.**, v. 50, p. 161-166, 1987.

BURR, H. K. Pulse proteins. In: FRIEDMAN, M. (Ed.). "Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds. Part 2. Quality Factors – Plant Breeding, Composition, Processing and Anti-nutrients". New York: March Dekker, Inc. 1975.

CARIAS, D.; CIOCCIA, A. M.; HEVIA, P. Grado de concordancia entre la digestibilidad de proteínas animales y vegetales medidas in vivo e in vitro y su efecto sobre el cómputo químico. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 45, n. 2, p. 111-116, 1995.

CHANG, K. C.; SATTERLEE, L. D. Isolation and charecterization of the major protein from Great Northern beans (*Phaseolus vulgaris*). **J. Food Sci.**, v. 46, n. 4, p. 1368-1373, 1981.

CHIARADIA, A. C. N.; COSTA, N. M. B.; GOMES, J. C. Retirada do tegumento e da extração dos pigmentos na qualidade protéica do feijão-preto. **R. Nutr.**, v. 12, n. 2, p. 131-136, 1999.

CHIARADIA, A. C. N. **Determinação da estrutura de pigmentos de feijão e estudo da sua ação na qualidade protéica.** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1997. 107 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

COELHO, R. C. Considerações sobre as proteínas do feijão. **R. Nutr.**, v. 4, n. 1, p. 122-145, 1991.

CRUZ, G. A. D. R.; OLIVEIRA, M. G. A.; PIRES, C. V.; GOMES, M. R. A.; COSTA, N. M. B.; MOREIRA, M. A. Protein quality and in vivo digestibility of different varieties of beans (*phaseolus vulgaris* l.). **Braz. J. Food Tech.** Pré-print 125, 2003. Aceito para publicação.

DUARTE, M. S. L. **Efeito do tegumento e do caldo de cocção do feijão na qualidade protéica.** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1999. 63 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DUARTE, M. S. L. **Digestibilidade in vivo e in vitro de proteínas de feijão preto.** Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1995. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DURIGAN, J. F.; SGARBIERI, V.C.; BULISANI, E. A. Protein value of dry bean cultivars: factors interfering with biological utilization. **J. Agric. Food Chem.**, v. 2, n. 35, p. 694-698, 1987.

EGGUM, B. O. The influence of dietary fibre on protein digestion and utilization. In: SCHWEIZER, T. F.; EDDWARDS, C. A. **Dietary fibre – A component of food.** Londres: Springer-Verlag, 1992. p. 153-156.

FERNANDEZ R.; ELIAS, L.G.; BRAHAM, J. E. Trypsin inhibitors and hemagglutinins in beans (*Phaseolus vulgaris*) and their relationship with the content of tanins and associated polyphenols. **J. Agric. Food Chem.**, v. 30, n. 4, p. 127-131, 1982.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **Protein quality evaluation.** Rome: FAO, 1991. 66 f. (FAO Food and Nutrition, Paper 51).

FUKUDA, G.; ELIAS, L. G.; BRESSANI, R. Significado de algunos factores antifisiologicos y nutricionales en la evaluacion biologica de diferentes cultivares de frijol comum ( *phaseolus* sp.). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 32, n. 4, p. 945-960, 1982.

GARCIA, O. E.; INFANTE, R. B.; RIVERA, C. J. Determination of total, soluble, insoluble dietary fibre in two new varieties of *Phaseolus vulgaris* L. using chemical and enzymatic gravimetric methods. **Food Chem.**, v. 59, n. 1, p. 171-174, 1997.

GARCIA, O. E.; LAJOLO, F. M. Starch alterations in hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, p. 612, 1994.

GEIL, P. B.; ANDERSON, J. W. Nutrition and health implications of dry beans: a review. **J. American C. Nutrition**, v. 13, n. 6, p. 549-558, 1994.

GONÇALVES, J.S.; SOUZA, S.A.M. Gangorra de pregas: a produção e o abastecimento de feijão na safra 1997/98 no Estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v. 28, n. 6, p. 60-65, 1998.

HAPPICH, M. L.; BODWELL, L. R.; HACKLER, C. E. et al. Net protein ratio data. AACC-ASTM collaborative study. **J. AOAC Int.**, v. 67, p. 255-262, 1984.

HEGSTED, D. M. Protein quality and its determination. In: WHITAKER, J. R.; TANNENBAUM, S. R. **Food proteins.** Westport, Connecticut: AVI, 1977. p. 347-362.

HERNÁNDEZ, M.; LA VEJA, A.; SOTELO, A. Determination de la digestibilidad proteinica *in vitro* e *in vivo* en cereais y leguminosas, crudos e cocidos. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 34, n. 3, p. 513-522, 1984.

HERNÁNDEZ, T.; HERNÁNDEZ, A.; MARTINEZ, C. Polyphenols in alfalfa leaf concentrates. **J. Agric. Food Chem.**, v. 39, n. 6, p. 1120-1122, 1991.

HERNÁNDEZ, T.; HERNANDEZ, A.; MARTINEZ, C. Calidad de proteínas. Conceptos y evaluación. **Alimentaria**, p. 27-37, 1996.

HSU, H.W.; VAVAK, D.L.; SATERLEE, L.D.; MILLER, G.A. Multienzyme technique for estimating protein digestibility. **J. Food Sci.**, v. 42, n. 5, p. 1269-1273, 1977.

HUGHES, J. S. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. **Food Tech.**, v. 45, n. 9, p. 122-126, 1991.

HUGHES, J. S.; ACEVEDO, E.; BRESSANI, R.; SWANSON, B. G. Effects of dietary fiber and tannins on protein utilization in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Res. Int.**, v. 29, n. 3-4, p. 331-338, 1996.

HUGHES, J. S.; SWANSON, B. G. Soluble and insoluble dietary fiber in cooked common bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Food Microstruc.**, v. 8, p. 15-21, 1989.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático e produção agrícola**, 2003. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: set. 2003.

JONES, P.M.B.; BOULTER, D. The cause of reduced cooking rate in *Phaseolus vulgaris* following adverse storage conditions. **J. Food Sci.**, v. 48, p. 623, 1983.

KRITCHEVSKI, D. Dietary fiber. **Ann. Rew. Nutr.**, v. 8, p. 301-328, 1988.

LIENER, I. E. From soybeans to lectins: a trail of research revisited. **Carbohydr. Res.**, v. 203, n. 4, p. 1-5, 1991.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 1, n. 34, p. 31-67, 1994.

LIENER, I. E. Phytohemagglutinins (phytolectins). **Ann. Rew. Plant Physiol.**, v. 27, p. 291-319, 1976.

LIU, K. Cellular biological and physicochemical basis for the hard-to-cook defect in legumes seeds. **CRC. Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, p. 263, 1995.

MALDONADO, S.; SAMMÁM, N. Composición química e contenido de minerales de leguminosas y cereales producidos en el noroeste argentino. **Arch. Latinoam. de Nutr.**, v. 50, n. 2, p. 195-199, 2000.

MARQUEZ, M. L.; LAJOLO, F.M. Composition and digestibility of albumins, globulins and glutelins from *Phaseolus vulgaris*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 29, n. 8, p. 1068-1074, 1981.

MARQUEZ, U. M. L.; BARROS, R. M. C.; LAJOLO, F. M. Chemically determined total and available methionine in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and isolated protein fractions. **Food Chem.**, v. 55, n. 2, p. 179-184, 1996.

MARQUEZ, U. M. L.; LAJOLO, F. M. Nutritional value of cooked beans (*Phaseolus vulgaris*) and their isolated major protein fractions. **J. Sci. Food Agric.**, v. 53, p. 235-242, 1990.

MASON, V. C. Metabolism of nitrogenous compounds in the large gut. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 43, p. 45-53, 1984.

MELITO, C.; TOVAR, J. Cell walls limit in vitro protein digestibility in processed legume seed. **Food Chem.**, v. 53, p. 305-307, 1995.

MENDÉZ, M. H. M.; DERIVI, S. C. N.; FERNANDES, M. L.; OLIVIERA, A. M. G. Insoluble dietary fiber of grain food legumes and protein digestibility. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 43, n. 1, p. 66-72, 1993.

MILLER, D. S.; BENDER, A. E. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. **Brit. J. Nutr.**, v. 9, p. 382-388, 1955.

MOLINA, M. R.; De la FUENTE, G.; BRESSANI, R. Interrelationships between storage, soaking time, cooking time, nutritive value and other characteristics of the black bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.**, v. 40, p. 587, 1975.

NAVARRETE, D. A.; BRESSANI, R. Protein digestibility and protein quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*) fed alone and with maize, in adult humans using a short-term nitrogen balance assay. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 34, p. 1893-1898, 1981.

NIELSEN, S. S. Digestibility of legume proteins. **Food Tech.**, v. 45, n. 6, p. 112-114, 1991.

OLIVEIRA, A. C.; QUEIROZ, K. da S.; HEIBIG, E.; REIS, S. M. P. M.; CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiase e verbascose. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 5, n. 3, 2001.

OLSON, A.; GRAY, G. M.; CHIU, M. C. Chemistry and analysis of dietary fiber. **Food Tech.**, v. 41, p. 71, 1987.

OSBORN, T. C. Genetic control of bean seed protein. **CRC Crit. Rev. Plant Sci.**, v. 7, p. 93-116, 1988.

PARTEARROYO, M. A.; FERNÁNDEZ-QUINTELA, A.; CID, C. Sustancias antinutritivas en alimentos de origen vegetal. Su significado en la alimentación humana. **Alimentaria**, v. 267, p. 115-120, 1995.

PEARSON, A. M. Soy protein. In: HUDSON, B. J. F. (Ed.). **Developments in food proteins – 2**. London: Applied Science Publishers, 1983. p. 430.

PEDERSEN, B.; EGGUM, B. O. Prediction of protein digestibility by an in vitro enzymatic pH-stat procedure. **Zeitschrift fuer Tierphysiologie Tierernaehrung und Futtermittelkunde**, v. 49, p. 265-277, 1983.

PEREIRA, C. A. S. **Digestibilidade in vitro e in vivo de proteínas do feijão preto sem casca**. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 1998. 72 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PIRES, C. V. **Caracterização bromatológica e digestibilidade in vitro de proteínas de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Viçosa, MG: UFV, Impr. Univ., 2001. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

POEL, T. F. B.; BLONK, J.; ZUILICHEM, D. J.; OORT, M. G. Thermal inactivation of lectins and trypsin inhibitor activity during steam processing of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and effects on protein quality. **J. Sci. Food Agric.**, v. 53, n. 2, p. 215-228, 1990.

PULSTAI, A.; CLARKE, E. M. W.; KING, T. M. The nutritional toxicity of *Phaseolus vulgaris* lectins. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 38, p. 115, 1979.

QUINTANA, H. C.; BRAVO, C. G.; NOVOA, J. D.; MAYTA, F. C. Evaluación de la calidad de la proteína de 4 variedades mejoradas de frijol. **Rev. Aliment. Nutr.**, v. 14, n. 1, p. 22-27, 2000.

REDDY, N. R.; PIERSON, M. D.; SATHE, S. K. Chemical, nutritional and physiological aspects of dry bean carbohydrates – A review. **Food Chem.**, v. 13, n. 3, p. 25, 1984.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JUNIOR, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN- 76 A rodent diet. **J. Nutr.**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

REYES-MORENO, C.; PAREDEZ-LÓPEZ, O . Hard-to-cook phenomenon in common beans – A review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 33, n. 33, p. 227-286, 1993.

ROCKLAND, L. B.; RADKE, T. M. Legume protein quality. **Food Tech.**, v. 35, p. 79-82, 1981.

RODRIGUES, F. M.; MENDOZA, E. M. Physico-chemical basis for hardseedness in mung bean (*Vigna radiata* (L.) wilkzek). **J. Agric. Food Chem.**, v. 38, p. 29, 1990.

RODRIGUES, M. L. G. **Digestibilidade e biodisponibilidade de metionina de frações protéicas do feijão (*Phaseolus vulgaris*): estudo *in vitro***. São Paulo: USP, 1995. 121 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

ROSTON, A.J. **Feijão**. Campinas, SP: CATI, 1990. 18 p. (Boletim Técnico).

SABARENSE, C. M. **Armazenamento de feijões (*Phaseolus vulgaris* L.)** – Relação entre o endurecimento do grão e a fração fibra da dieta. Rio de Janeiro: UFRJ, 1993. 79 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SALUNKHE, D. K.; KADAM, S. S. **CRC** – Handbook of world food legumes: nutritional chemistry processing technology and utilization, Boca Raton: F.L: CRC Press, 1989. v.1.

SARWAR, G.; PEACE, R. W. Comparison between true digestibility of total nitrogen and limiting amino acids in vegetable proteins fed to rats. **J. Nutr.**, v. 116, p. 1172-1184, 1986.

SATERLEE, L.D.; MARSHALL, H.F.; TENNYSON, J.M. Measuring protein quality. **J. Amer. Oil Chem. Soc.**, v. 56, p. 103-109, 1979.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*: a review I. Chemical composition. Proteins. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 20, n. 5, p. 31-39, 1984a.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*. A review. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 21, n. 1, p. 41-93, 1984b.

SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Thecnology of removal of unwanted components of dry beans. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 21, n. 7, p. 262, 1985.

SAWAZAKI, H. E.; TEIXEIRA, J.P.F.; MORAES, R. M.; BULISANI, E. A. Modificações bioquímicas e físicas em grãos de feijão durante o armazenamento. **Bragantia**, v. 44, n. 1, p. 375-390, 1985.

SEMINO, G. A.; RESTANI, P.; CERLETTI, P. Effect of bound carbohydrate on the action of trypsin on Lupin seed glycoproteins. **J. Agric. Food Chem.**, v. 33, n. 9, p. 196-199, 1985.

SGARBIERI, V. C. Composition and nutritive value of beans. **World Rev. Nutr. Diet.**, v. 60, n. 1, p. 132-198, 1989.

SGARBIERI, V. C.; ANTUNES, P. L.; ALMEIDA, L.D. Nutritional evaluation of four varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **J. Food. Sci.**, v. 44, p. 1306-1308, 1979.

SGARBIERI, V. C.; WHITAKER, J. R. Physical, chemical and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. **Adv. Food Res.**, v. 28, n. 3, p. 93-166, 1982.

SHURPALECKAR, K. S.; SINDARAVALLI, O. E.; RAO, M. N. *In vitro* and *in vivo* digestibility of legume carbohydrates. **Nutr. Rep. Int.**, v. 19, p. 111, 1979b.

SHURPALECKAR, K. S.; SINDARAVALLI, O. E.; RAO, M. N. Effect of legume carbohydrate on protein utilization and lipid levels in rats. **Nutr. Rep. Int.**, v. 19, p. 119, 1979a.

SILVA, V. R.; IACHAN, A. Proteínas de variedades brasileiras de feijão (*Phaseolus vulgaris*). I – Quantificação e fracionamento das proteínas. **Rev. Bras. de Tecnol.**, v. 6, p. 133-141, 1975.

SING, J.; SOOD, D.R. Nutritional evaluation of rabi french beans. **J. Food Sci. Tech.**, v. 34, n. 4, p. 354-356, 1997.

STANLEY, D. W.; AGUILLERA, J. M. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes – The influence of structure and composition. **J. Food Biochem.**, v. 9, p. 277-323, 1985.

STRYER, L. **Bioquímica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 1000 p.

TAGHE, M. A . **Nutrição**. São Paulo: Artes Médicas, 1981. 234 p.

TOBIN, G.; CARPENTER, K. J. The nutritional value of dry beans (*Phaseolus vulgaris*): a literature review. **Nutr. Abstr. Rew.**, v. 48, p. 939, 1978.

TROWELL, H.; BURKITT, D. Physiological role of dietary fiber: a ten-year review. **J. Dent. Child.**, v. 6, n. 9, p. 444-447, 1986.

TSUDA, T.; OHSIMA, K.; KAWAKISHI, S. Antioxidative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris* L. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, n. 9, p. 248-251, 1994.

VALLE-VEGA, P. Effects del anvejecimiento acelerado sobre factores antinutricionais en fíjol (*Phaseolus vulgaris*). **Ciênc. e Tec. de Alim.**, v. 10, p. 1, 1990.

VARGAS, E.; BRASSANI, R.; NAVARRETE, D. Digestibilidad de la proteína y energía de dietas elaboradas a base de arroz y frijoles en humanos adultos. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 34, n. 1, p. 109-129, 1984.

VARRIANO-MARSTON, E.; OMANA, E. Effects of sodium salt solutions on the chemical composition and morphology of black beans (*Phaseolus vulgaris*). **J. Food Sci.**, v. 44, n. 2, p. 531-536, 1979.

VIEIRA, C. Leguminosas de grãos: importância na agricultura e na alimentação humana. **Inf. Agropecu.**, v. 16, n. 174, p. 5-11, 1992.

WU, C.; WHITAKER, J. R. Homology among trypsin/chymotrypsin inhibitors from red kidney bean, brazilian pink bean, lima bean and soybean. **J. Agric. Food Chem.**, v. 39, p. 1583-1589, 1991.

WU, W.; WILLIAMS, W. P.; KUNKEL, M. E.; ACTON, J. C.; HUANG, Y.; WARDLAW, F. B.; GRIMES, L. W. Thermal effects on net protein ratio of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Sci. Food Agric.**, v. 71, p. 491-495, 1996.

WU, W.; WILLIAMS, W.P.; KUNKEL, M.E. True digestibility and digestibility-corrected amino acid score of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). **J. Food Chem.**, v. 43, n. 15, p. 1295-1298, 1995.

WU, W.; WILLIAMS, W.P.; KUNKEL, M.E.; ACTION, J.C.; WARDLAW, F. B.; HUANG, Y.; GRIMES, L.W. Thermal effects on in vitro protein quality of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.**, v. 59, n. 6, p. 1187-1191, 1984.