

**GERALDA ALDINA DIAS RODRIGUES CRUZ**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E DIGESTIBILIDADE *in vivo* DA  
PROTEÍNA DE CULTIVARES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris L.*)**

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

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2000**

*Aos meus pais Antônio e Wanda,  
Ao meu marido e amigo Renatinho,  
Aos meus irmãos Mádia, Max, Mara, Dayse, e de forma especial  
à Marlene.*

## **AGRADECIMENTO**

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, não só pela dedicação e atenção durante todo o curso, mas também pelo grande carinho e amizade em todos os momentos.

Ao Professor Maurílio Alves Moreira, pela orientação no desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Neuza Maria Brunoro Costa, pelas sugestões e orientação durante o desenvolvimento dos experimentos.

Ao Professor Renato Cruz, pelas sugestões e boa vontade de sempre.

Ao Professor Cosme Damião Cruz, pelas análises estatísticas realizadas.

Aos secretários Solange e Eduardo pelo carinho e contínua disponibilidade de ajuda.

Aos técnicos D. Zezinha, Ricardo e Adão pela contribuição na realização do trabalho.

Ao Aloísio, por estar sempre disponível na concessão dos materiais utilizados nos experimentos.

Aos colegas Cristiano e Anderson pela ajuda na realização dos experimentos.

Aos amigos do Laboratório de Enzimologia Arlindo, Bárbara, Cristina, Giordane, Maria Regina e Márcia por todo o tempo de convívio e aprendizado.

Aos meus amigos de curso e à todas as pessoas que eu tive a oportunidade de conhecer e conviver.

Aos meus pais, pelo amor, carinho, força e por todas as oportunidades que me proporcionaram em todos esses anos.

Aos meus pais de Viçosa Renato e Lulude, e à minha cunhada Rachele, pelo grande carinho.

Ao meu esposo Renatinho, pelo amor, amizade, “paciência” e constante disponibilidade em ajudar sempre.

Aos meus irmãos, sobrinhos e cunhados pela grande família que somos, e de forma especial à minha irmã Mara pela presença, carinho e constante ajuda em todos esses anos.

À minha amiga Mara Iamim pela presença e ajuda em todos os momentos.

E a todos os meus amigos, por serem meus amigos.

## **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, concluindo-o em dezembro de 1997.

Ingressou no Programa de Mestrado em Agroquímica na UFV, em outubro de 1998, concluindo os requisitos necessários para obter o título de “Magister Scientiae”, em agosto de 2000, com a defesa de tese.

## CONTEÚDO

RESUMO .....	xiii
SUMMARY .....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1. Importância nutricional do feijão .....	6
2.2. Digestibilidade das proteínas do feijão .....	9
2.3. Fatores que interferem na digestibilidade das proteínas de feijão .....	13
2.3.1. Carboidratos .....	13
2.3.2. Pigmentos .....	14
2.3.3. Inibidores de proteases .....	16
2.3.4. Fibra alimentar.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
3.1. Material genético .....	22
3.2. Preparo da farinha de feijão.....	22
3.3. Determinação de proteína.....	23
3.4. Determinação de fibra alimentar .....	23
3.5. Determinação de inibidores de proteases .....	23
3.5.1. Preparo dos reagentes .....	23
3.5.2. Obtenção dos extratos .....	24

3.5.3. Determinação da atividade enzimática.....	24
3.6. Ensaio biológico .....	26
3.6.1. Preparo das dietas .....	26
3.6.2. Animais.....	28
3.6.3. Digestibilidade verdadeira.....	30
3.6.4. PER (Protein Efficiency Ratio ou Coeficiente de Eficácia Protéica).....	31
3.6.5. NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida).....	31
3.6.6. NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Líquida da Proteína).....	32
3.7. Análise Estatística.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
4.1. Conteúdo protéico .....	33
4.2. Digestibilidade <i>in vivo</i> .....	35
4.3. PER (Protein Efficiency Ratio) .....	39
4.4. NPR (Net Protein Ratio).....	41
4.5. NPU (Net Protein Utilization).....	43
4.6. Presença de inibidores de proteases .....	45
4.7. Fibra.....	48
4.8. Correlação entre digestibilidade verdadeira, atividade inibitória de tripsina e fibra alimentar.....	50
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Composição das dietas utilizadas no experimento com ratos (g/100g de mistura).....	27
Quadro 2 - Composição da mistura mineral (AIN-93G-MX) usada no preparo das dietas no experimento com ratos em g/kg da mistura .....	29
Quadro 3 - Composição da mistura vitamínica (AIN-93G-VX) usada no preparo das dietas no experimento com ratos em g/kg da mistura .....	30
Quadro 4 - Teor de proteínas em amostras de variedades brasileiras de feijão cru e cozido, com casca.....	34
Quadro 5 - Digestibilidade verdadeira (DV) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.....	36
Quadro 6 - PER e RPER (PER Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.....	40

Quadro 7 - NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida) RNPR ( NPR Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais .....	42
Quadro 8 - NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Protéica Líquida) e RNPU (NPU Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.....	44
Quadro 9 - Determinação de inibidores de proteases nas amostras analisadas de feijão cozido, com casca .....	47
Quadro 10 - Conteúdo de fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) em amostras de feijão cozido, com casca.....	49
Quadro 11 - Correlação entre digestibilidade verdadeira (DV) e as características de atividade inibitória de tripsina e fibra alimentar total (FAT), insolúvel (FAI) e solúvel (FAS) nas amostras de feijão cozido, com casca.....	51

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo de retrocontrole no controle de secreção de tripsina pelo pâncreas.....	20
Figura 2 - Determinação da atividade de tripsina na presença ou ausência de inibidores.....	25
Figura 3 - Teor de proteínas em amostras de variedades brasileiras de feijão cru e cozido, com casca .....	34
Figura 4 - Digestibilidade verdadeira (DV) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.....	36
Figura 5 - PER e RPER (PER Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.....	40
Figura 6 - NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.....	42

Figura 7 - NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Protéica Líquida) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.....	44
Figura 8 - Determinação de inibidores de proteases nas amostras analisadas de feijão cozido, com casca. ....	47
Figura 9 - Conteúdo de fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) em amostras de feijão cozido, com casca. ....	48

## RESUMO

CRUZ, Geralda Aldina Dias Rodrigues, M.S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2000. **Avaliação da qualidade e digestibilidade *in vivo* da proteína de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris L.*)**. Orientadora: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Conselheiros: Maurílio Alves Moreira e Neuza Maria Brunoro Costa.

Vários trabalhos de melhoramento genético têm sido desenvolvidos, obtendo-se variedades com características agronômicas desejáveis. Dentre elas, algumas se destacam por possuírem algumas características desejáveis, merecendo, portanto, mais atenção e aprofundamento nos estudos bioquímicos e nutricionais. Assim, no intuito 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, fornecidos pelo Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA – CNPAF), localizada em Goiânia-GO, procedeu-se à avaliação biológica em ratos machos recém-desmamados e determinou-se a digestibilidade verdadeira, Protein Efficiency Ratio, Net Protein Ratio e Net Protein Utilization. Determinou-se o teor de proteína, de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel e

inibidores de tripsina nas amostras. Para caracterização do inibidor de protease utilizou-se o método enzimático, onde foi medido o decréscimo da atividade de tripsina bovina na presença do inibidor. Os resultados obtidos mostram que a digestibilidade verdadeira variou de 84,89 a 93,62%, sendo o maior valor para o cultivar Ouro Branco, não diferindo do padrão (caseína). Os valores obtidos para PER situaram-se entre 1,2 a 2,36, inferiores aos obtidos para a caseína. O cultivar Ouro Branco apresentou valor de PER significativamente superior ( $P < 0,05$ ) aos cultivares analisados. Quanto ao NPR, os valores obtidos foram significativamente menores que o encontrado para a caseína e situaram-se entre 2,53 a 3,49, sendo os cultivares Ouro Branco e Carioca os que apresentaram os maiores valores. Os valores de NPU encontrados variaram de 42,6 a 54,27%, e verificou-se que os cultivares Carioca e Ouro Branco não diferiram da caseína. A presença de inibidores de tripsina não afetaram a digestibilidade protéica e não houve correlação entre as duas características. Os teores de fibra alimentar total, insolúvel e solúvel variaram de 21,04 a 38,21%; 15,83 a 34,65% e 1,85 a 7,06%, respectivamente, constituindo-se boas fontes de fibras. Não houve correlação entre os teores de fibra e a redução da digestibilidade protéica. Verifica-se pelos resultados obtidos que a variedade Ouro Branco apresentou a melhor qualidade nutricional dentre os cultivares analisados e as variedades de maior coloração como a Diamante Negro e Vermelho Coimbra tiveram a sua qualidade protéica reduzida.

## SUMMARY

CRUZ, Geralda Aldina Dias Rodrigues, M.S., Universidade Federal de Viçosa, August 2000. ***In vivo* Digestibility and Protein Quality of Bean Cultivars Evaluation (*Phaseolus vulgaris* L).** Advisor: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Counselors: Maurílio Alves Moreira e Neuza Maria Brunoro Costa.

Many genetic improvement studies have been developed obtaining varieties with the desirable agronomic characteristics among which some stand out by having some desirable characteristics, thus, deserving more attention and further nutritional and biochemical studies. With the purpose of evaluating the protein quality of Aporé, Aruã, A774, Diamante Negro, Ouro Branco, Ouro Negro, Pérola, RAO 33, Rudá and Vermelho Coimbra cultivars, all provide by The National Rice and Beans Research Center of the Brazilian Cattle and Agricultural Research Enterprise ( EMBRAPA- CNPAF ), situated in Goiania, state of Goias, the biological evaluation was proceeded in male rats just off breastfeeding and the true digestibility, Protein Efficiency Ratio, Net Protein Ratio and Net Protein Utilization were determined. The protein ratio, the total feeding fiber, soluble or insoluble, and, tripsin inhibitors of the sample were determined. To characterize the protease inhibitor the enzymatic method was used, where the decrease of the tripsin bovine activity in the presence of the inhibitor was measured. The obtained results show that the true digestibility

varied from 84,89 to 93,62%, the greatest value being for the *Ouro Branco* cultivar, not differing from the pattern (casein). The values obtained for PER were between 1,2 and 2,36, inferior to the ones obtained for casein. The *Ouro Branco* cultivar show a PER value significantly superior ( $P < 0,05$ ) to the other cultivars analyzed. As for NPR, the obtained values were significantly smaller than the ones found for casein and are situated between 2,53 and 3,49, with the *Ouro Branco* and *Carioca* cultivars being the ones which showed the greatest values. The NPU values found varied from 42,6% to 54,27%, and it was verified that the *Ouro Branco* and *Carioca* cultivars did not differ from casein. The presence of trypsin inhibitors did not affect the proteic digestibility and there was no correlation between the two characteristics. The total feeding fiber, the soluble and the insoluble ratios, varied from 21,04 to 38,21%; 15,83 to 34,65%; and 1,85 to 7,06%, respectively, constituting good fiber sources. There was no correlation between the fiber ratios and the proteic digestibility reduction. By the obtained results it can be verified that the *Ouro Branco* variety showed the best nutritional quality among the cultivars analyzed, and the varieties of greater coloring, as the *Diamante Negro* and *Vermelho Coimbra*, had their proteic quality reduced.

## 1 - INTRODUÇÃO

Constantes trabalhos de melhoramento genético têm sido conduzidos sempre buscando associar as características agronômicas desejáveis pelo produtor, como produtividade, resistência à pragas e doenças, facilidade de colheita, e pelo consumidor, como facilidade de cozimento, produção de caldo, coloração e valor nutricional, entre outros.

Em uma parceria desejável entre instituições que tenham objetivos comuns, a Universidade Federal de Viçosa, através do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), através do seu Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), têm desenvolvido trabalhos que visem complementar informações que permitirão orientar com mais eficiência e objetividade futuros trabalhos de melhoramento genético. Dentro desta parceria se destaca trabalhos com feijão, onde a EMBRAPA tem obtido algumas variedades com potencialidade agrícola, e o BIOAGRO tem fornecido informações bioquímicas e nutricionais sobre as mesmas, permitindo aprimorar os trabalhos. Dentre as inúmeras variedades obtidas, algumas se destacam por uma, duas ou mais características desejáveis, merecendo portanto, mais atenção e aprofundamento nos estudos bioquímicos e nutricionais sobre elas. Como exemplo pode-se citar Aporé, Aruã, A 774, Carioca, Diamante Negro, Ouro Branco, Ouro Negro, Pérola, RAO 33, Rudá e Vermelho Coimbra.

As sementes de leguminosas são amplamente consumidas em todo o mundo e, dependendo das condições climáticas de cada área, certos tipos tornaram-se predominantes em relação a outros. Na América Latina, o feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) é a leguminosa mais consumida, fornecendo quantidades

consideráveis de nutrientes nas dietas, e muitas vezes é o componente principal da dieta de populações onde geralmente predomina a desnutrição em graus variáveis (COELHO, 1991).

O gênero *Phaseolus* compreende todas as espécies conhecidas como feijão. A espécie *Phaseolus vulgaris* L. é a mais conhecida e possui inúmeras variedades como Carioca, Roxo, Mulatinho, Preto, dentre outras. Nos países orientais, o tipo Adzuki é muito usado e pertence à espécie *P. angularis*. Ainda na Ásia e na África, a variedade Lima, pertencente à espécie *P. limensis*, tem sido bem consumido (KANAMORI et al., 1982).

O feijão, como alimento, embora represente uma importante fonte de proteínas, amido, vitaminas, minerais e fibras, COELHO, 1991; GEIL e ANDERSON, 1994; BARAMPANA e SIMARD, 1994; MARTINEZ et al. 1998, apresenta limitações que impossibilitam a utilização de todo o seu potencial nutritivo pelo organismo (JAFFÉ, 1968; EVANS e BAUER, 1978; SARWAR e PEACE, 1986; RODRIGUES, 1995; CARBONARO, 1997).

Um dos maiores problemas do feijão é representado pelo baixo valor nutricional de suas proteínas, decorrente, por um lado, da sua baixa digestibilidade e, de outro, dos reduzidos teor e disponibilidade de aminoácidos sulfurados (BODWELL et al. 1980; NIELSON, 1991; BRESSANI, 1993; GENOVESE e LAJOLO, 1996 e 1998).

A metionina é considerada o aminoácido limitante do valor biológico das proteínas do feijão. Apesar da cisteína poder ser sintetizada pelos animais, esse aminoácido é sintetizado a partir da metionina tornando-a ainda mais limitante (SGARBIERI e WHITAKER, 1982). Assim, estudos da variação genética e composição aminoacídica têm sido centrados no conteúdo de metionina e cisteína (EVANS e BAUER, 1978).

A lisina é elevada nas sementes da maioria das leguminosas, sendo considerada de grande valor na complementação das proteínas dos cereais que, de modo geral, são pobres em lisina (SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

Amido e proteína são os principais componentes do feijão, sendo por isso, considerados uma boa fonte de energia e proteína, contribuindo com cerca de 28% de proteína e 12% de energia na dieta brasileira (DURIGAN et al., 1987).

BRESSANI et al. (1988) observaram que, além de aumentar o teor protéico da refeição, o feijão contribui para melhorar em 50 a 70% a qualidade das proteínas da dieta, quando constituída predominantemente de leguminosas e cereais. Isso acontece porque as proteínas do feijão são ricas em lisina, complementando as proteínas dos cereais, como arroz ou milho, sabidamente deficientes neste aminoácido. O fato confere ao feijão uma importância nutricional excepcional, principalmente quando se considera a baixa ingestão de alimentos de origem animal pela população de baixa renda, para quem a leguminosa constitui-se em alimento diário.

O consumo atual de feijão é de 15kg/hab/ano, chegando a 41g/dia. No entanto, o feijão vem perdendo um pouco da importância na dieta dos brasileiros. Por outro lado, não é errôneo afirmar que o feijão constitui e ainda constituirá importante alternativa de suprimentos de proteínas, principalmente para as classes de menor poder aquisitivo (MINAS GERAIS, 1995).

A qualidade protéica do feijão é em função do tipo e quantidade de aminoácidos presentes no alimento e da sua biodisponibilidade.

Dentre os fatores antinutricionais protéicos que reduzem a digestão, os que têm sido mais pesquisados são os inibidores de tripsina e de quimotripsina, e entre os fatores não protéicos, as fibras, polifenóis e fitatos.

As lectinas são glicoproteínas presentes no feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e em outros vegetais. Apresentam diversas propriedades biológicas, destacando-se a capacidade de estimular a mitose, em culturas de linfócitos, eritrócitos e células cancerosas, de precipitar polissacarídeos e outras glicoproteínas, além de terem efeito antinutricional quando digeridas. Todas essas propriedades parecem decorrentes da capacidade de lectinas reconhecerem e se ligarem a carboidratos presentes nas células e a outras glicoproteínas (SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

Numerosas revisões discutiram a importância, modo de ação, significado nutricional, toxicidade nutricional, efeitos do processamento e aspectos relacionados dos inibidores de tripsina, quimotripsina e fitohemaglutininas (lectinas) (STEIN, 1976; LIENER, 1995, 1979 a, b; PULZTAI et al., 1979; DESHPAND et al., 1982; CARVALHO et al., 1997; VIDAL-VALVERDE et al., 1997).

Os inibidores de tripsina e quimotripsina concentram-se nas sementes e são particularmente resistentes à desnaturação (SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

KAKADE et al. (1969) observaram que o inibidor de tripsina do tipo KTI é rico em cisteína. A resistência do inibidor de tripsina ao ataque de enzimas digestivas parece ser o maior fator envolvido na baixa disponibilidade de cisteína para o crescimento de pintos. Isso é importante porque o teor de cisteína no inibidor de tripsina chega a 15,5g/16g de N, enquanto a amostra integral é de apenas 1,0g/16g de N.

Os feijões possuem em torno de 15 a 25% de fibra alimentar e constituem uma boa fonte de fibra alimentar solúvel e insolúvel (HUGHES e SWANSON, 1989; HUGHES, 1991). A fibra alimentar pode modificar ou diminuir a digestibilidade das proteínas, por aumentar a excreção de nitrogênio (KRITCHEVSKY, 1988). No intestino a fibra alimentar altera o metabolismo bacteriano e, como consequência, o metabolismo de nitrogênio é mudado (MASON, 1984).

A associação de proteínas com as frações fibrosas, que foram tratadas termicamente, poderá estar relacionada à baixa digestibilidade das proteínas de feijão cozido e à tendência das proteínas de feijão de formarem complexos indigeríveis, o que explicaria a reduzida digestibilidade dessas proteínas (RAUP e SGARBIERI, 1996).

De acordo com FUKUDA et al. (1982), um melhor conhecimento das causas da baixa digestibilidade das proteínas das leguminosas, pode contribuir significativamente para a sua melhor utilização.

Numerosos trabalhos de melhoramento genético têm sido desenvolvidos, obtendo-se variedades com características agronômicas desejáveis, do ponto de vista fitotécnico, buscando sempre o aumento da produtividade, resistência à pragas e doenças, características de planta que permitem facilidade na colheita. Entretanto, muitas variedades que atendem às características agronômicas não são bem aceitas pelo consumidor. Assim sendo, torna-se importante o conhecimento do seu valor nutricional, para acrescentar informações que permitam dar mais subsídios aos trabalhos de melhoramento genético e orientar na produção de variedades que atendam tanto o produtor, quanto o consumidor, em suas exigências naturais.

Desta forma, o objetivo geral do presente trabalho foi obter informações que permitam orientar na condução de experimentos genéticos visando o melhoramento da leguminosa, sob o ponto de vista nutricional e para isto, buscou-se como objetivos específicos:

- a) determinar a digestibilidade *in vivo* da proteína de variedades de feijão, visando obter maiores esclarecimentos sobre a reduzida digestibilidade protéica;
- b) determinar o PER ( Protein Efficiency Ratio), NPR (Net Protein Ratio) e NPU (Net Protein Utilization), para avaliar a qualidade da proteína das variedades de feijão analisadas;
- c) verificar a correlação entre a digestibilidade protéica, atividade de inibidor de tripsina e fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) nos cultivares analisados.

## **2 - REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1- Importância nutricional do feijão**

Os grãos de leguminosas constituem a principal fonte de proteína na dieta humana em muitos países tropicais e subtropicais. Suas populações pobres, tanto rurais como urbanas, dependem dessa leguminosa para a ingestão de proteína, pois, as de origem animal, consideradas melhores do ponto de vista de equilíbrio de aminoácidos e digestibilidade, são de mais alto custo. Os grãos de leguminosas são considerados complementares aos de cereais que contêm baixo conteúdo de lisina e adequado teor de aminoácidos sulfurados. No Brasil, o arroz e o feijão são a base alimentar da população. Misturados na proporção adequada, melhora-se o valor biológico das proteínas consumidas (VIEIRA, 1992).

A literatura mostra que a porcentagem de proteínas no feijão varia entre 16 e 33%, para diversos tipos de feijões. 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, tais como aquisição de nutrientes, vigor da planta, maturação, tamanho da semente e síntese e acúmulo de amido na semente (OSBORN, 1988).

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

As proteínas do feijão, assim como as de outras leguminosas, são limitadas nos aminoácidos sulfurados, metionina e cisteína. BLANCO e

BRESSANI (1991) ao compararem a composição de aminoácidos de algumas variedades de feijão com o do padrão FAO/OMS (1973), além dos aminoácidos sulfurados, encontraram 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 também 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 observou 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*, estes fatores precisam manter a 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 em 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., 1984; GEIL e ANDERSON, 1994).

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

Nos feijões maduros, a maior produção de lipídios está estocada em corpos lipídicos, esferossomas ou vesículas lipídicas no cotilédone. Os lipídios neutros constituem a classe predominante, principalmente na forma de triacilgliceróis, acompanhados por pequenas porções de ácidos graxos livres, esteróis e seus ésteres; fosfolipídios e glicolipídios, componentes essenciais do envoltório da semente, estão presentes na proporção de 24% a 35% e 10% respectivamente. Os ácidos palmítico, oléico, linoléico e linolênico são os principais ácidos graxos em leguminosas. Os lipídios do feijão são predominantemente insaturados, sendo mais ricos nos ácidos graxos essenciais linolênico (80%) e linoléico (SATHE et al., 1984; GEIL e ANDERSON, 1994).

Dada sua composição, o feijão proporciona vários benefícios à saúde, sendo indicado na manipulação dietética de várias doenças tais como: distúrbios cardíacos, diabetes mellitus, obesidade e câncer. Os feijões são alimentos que preenchem 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 principais instituições internacionais de apoio e promoção à saúde indicam a ingestão diária de uma ou mais porções de feijão (SATHE et al., 1984; GEIL e ANDERSON, 1994).

## **2.2 - Digestibilidade das proteínas do feijão**

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

Métodos biológicos (Protein Efficiency Ratio, Net Protein Ratio, Net Protein Utilization e Digestibilidade), têm sido freqüentemente usados para avaliar a qualidade protéica (TOBIN & CARPENTER 1978; ROCKLAND & RADKE 1981; SGARBIERI 1989; MARQUEZ & 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. A utilização biológica de uma proteína é normalmente aferida por meios de experimentos com animais, realizados por diversas técnicas (OLIVEIRA et al., 1982).

A qualidade da proteína refere-se à sua capacidade de satisfazer os requerimentos nutricionais do homem em termos de aminoácidos essenciais e nitrogênio não essencial. Isso pode ser avaliado pelo teor de aminoácidos e pela digestibilidade da proteína (BLANCO e BRESSANI, 1991). Assim, a determinação da digestibilidade protéica de um alimento é um fator importante para estimar a sua qualidade protéica.

Os alimentos de origem animal apresentam maior digestibilidade do que os de origem vegetal. A estrutura terciária das proteínas animais é menos complexa do que a dos vegetais, sendo, portanto, mais facilmente digerida pelas enzimas digestivas. Além disso, o fato dos 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) acrescentam 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.

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 se 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).

VARGAS et al. (1984) citam que as dietas de origem vegetal, especialmente quando contém leguminosas, apresentam uma digestibilidade de nitrogênio muito baixa, da ordem de 50 a 70%. Acrescentam 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 conhece a fundo as causas dessa baixa absorção de nitrogênio. Os mesmos autores sugerem que algumas causas podem ser inerentes ao alimento, por exemplo, a presença de fatores antinutricionais, tais como inibidores de tripsina e de amilase, saponinas e compostos fenólicos ou fatores externos, tais como processamento e armazenamento, entre os quais destacam-se o tipo e a forma de tratamento térmico aplicado, assim como o tempo e a forma 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 que 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 presentes em menor quantidade. Juntas, representam mais de 80% do nitrogênio total das sementes. 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, mostram que as primeiras representam, de 46% a 81% das proteínas, enquanto as albuminas correspondem entre 15% e 31% do total (COELHO, 1991).

De acordo com DESHPANDE e NIELSEN (1987), as globulinas correspondem de 33,5% a 81% e as albuminas de 12% a 52,4% da proteína total da semente. BATTHY (1982) verificou que o conteúdo de albuminas de oito espécies diferentes variou de 8,1% a 14,1% e que continha mais triptofano, lisina, treonina, valina e metionina; porém, menos arginina, leucina e fenilalanina e, dessa forma, possuem maior valor biológico que a globulina isolada das mesmas espécies. Segundo SATHE et al. (1981), albuminas foram caracterizadas por alto conteúdo de aminoácidos ácidos, enquanto as globulinas tinham alta proporção de aminoácidos hidrofóbicos, sendo que aminoácidos sulfurados e leucina foram o primeiro e o segundo limitantes nessas proteínas, respectivamente.

Em um estudo clássico sobre as características de sedimentação de globulinas extraídas de sementes de leguminosas, Danielson (1949), citado por SUN et al. (1974), encontrou duas principais frações de globulinas, com valores de coeficiente de sedimentação de aproximadamente 7S e 12S. A fração mais pesada (12S) requer maiores concentrações de sal para solubilidade, e corresponde ao material anteriormente denominado legumina; a fração mais leve (7S) é solúvel em quantidades relativamente baixas de sal, e corresponde à vicilina.

Para evitar confusão por uso de nomes triviais ou de valores de sedimentação, a fração que requer quantidade relativamente alta de sal (NaCl 0,06 M) para solubilidade, e que coagula a 100 °C é chamada de fração G<sub>1</sub>; a fração G<sub>2</sub> foi solúvel em concentrações mais baixas de sal (NaCl 0,04 M) e coagulou entre 85 e 90 °C (SUN et al., 1974).

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 como a principal responsável pelo baixo valor nutritivo de feijões (HUGHES, 1991).

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

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

O feijão cozido, tem um 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, são destruídos ou inativados parcial ou totalmente com a cocção (FUKUDA et al., 1982).

Estudos da digestibilidade *in vitro* da proteína da soja, mostram que esta pode ser melhorada pelo tratamento térmico, por tratamento com amilase e por clivagem das pontes dissulfídicas. O efeito do tratamento térmico é, em parte, decorrente da inativação dos inibidores de tripsina e, em parte, da desnaturação das proteínas, permitindo uma proteólise mais eficaz. A melhoria na digestibilidade após tratamento com amilase é proveniente da remoção de açúcar associado com a proteína, o qual impede o ataque de enzimas. Após clivagem das pontes dissulfídicas, há um rompimento da estrutura terciária da proteína, facilitando a digestão pelas hidrolases (BOONVISUT e WHITAKER, 1976).

O conteúdo de proteína fecal de ratos alimentados com dieta livre de proteína e com dieta à base de caseína foi de 7,1 e 7,9%, respectivamente; e de ratos alimentados com dieta à base de feijão cru foi de 43,8%, enquanto que o de ratos alimentados com dieta composta de feijão termicamente processado foi intermediário, 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 min a 121 °C. Os valores de 17 a 40% de digestibilidade, apresentada 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 sendo multicausal, havendo fatores ligados à casca (taninos), aos cotilédones (proteínas, taninos, fitatos, inibidores de proteases) e ao processamento e armazenamento.

Pode-se, de qualquer forma, dizer que o problema está centrado na estrutura das moléculas protéicas, de como elas interagem entre si e com outros componentes, e como essas interações ocorrem.

## **2.3 - Fatores que interferem na digestibilidade das proteínas de feijão**

### **2.3.1 - 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 tais como a sacarose. Oligossacarídeos estão presentes em várias quantidades em leguminosas, incluindo rafinose, estaquiase e verbascose (GEIL e ANDERSON, 1994). Outros carboidratos comuns incluem substâncias pécicas, arabinogalactanos e xiloglucanos (REDDY et al., 1984; SATHE e SALUNKE, 1985).

Os açúcares rafinose e estaquiase, 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

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

A presença da cadeia oligossacarídica pode ser um dos fatores responsáveis pela baixa digestibilidade da fração albumina. O mesmo pode ser dito da faseolina, também uma glicoproteína, com cerca de 5% de açúcar (CHANG e SATERLLE, 1981).

O carboidrato ligado à proteína do feijão tem um 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).

### **2.3.2 - Pigmentos**

A digestibilidade das proteínas decresce com o aumento da pigmentação do tegumento da semente. 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 sob o ponto de vista nutricional (BRESSANI et al., 1991). Em alimentos, os compostos fenólicos podem ocorrer de muitas formas, tais como ácidos fenólicos monoméricos e polifenóis polimerizados (taninos) (BRUNE et al., 1991).

As características e efeito das ligações entre proteína e polifenóis dependem do tipo de interação, covalente ou não-covalente. Ligações não-covalentes podem ocorrer em pH ácido ou neutro e são reversíveis. Os polifenóis que podem sofrer estas ligações são principalmente os polifenóis poliméricos ou taninos, embora polifenóis monoméricos ou não-taninos também possam se ligar não-covalentemente às proteínas. As interações covalentes entre polifenóis e proteínas, juntamente com uma série de transformações enzimáticas, contribuem para o fenômeno de escurecimento. Estas interações são irreversíveis e, caso aminoácidos essenciais estejam envolvidos nas ligações com polifenóis, haverá um decréscimo do valor nutricional do alimento, além de interações nas qualidades organolépticas (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. Isto 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 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 uma digestibilidade maior do que aqueles com a água de cocção, já que durante a cocção grande parte dos taninos são carreados 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 que a cada aumento no teor de casca em dietas de caseína, havia uma redução na qualidade protéica das mesmas. Isso sugere que os pigmentos presentes na casca do feijão preto reduzem a qualidade das proteínas do feijão e da caseína.

A retirada do tegumento do feijão após a cocção, resulta em prejuízo para a qualidade protéica desse alimento. A explicação recai sobre a possibilidade da presença de alguma fração protéica no tegumento do feijão, a qual contribui para elevar a qualidade do mesmo, sobrepondo-se a possível influência negativa provocada pelo tegumento em si ou por outros fatores antinutricionais porventura presentes no mesmo. Outro fator que explicaria esses resultados é a migração de polifenóis, durante o cozimento, para os cotilédones. A complexação desses polifenóis com proteínas as tornariam indisponíveis (CHIARADIA, 1997).

Apesar dos efeitos negativos dos pigmentos sobre a digestibilidade das proteínas, verifica-se o efeito benéfico dos mesmos como agentes oxidativos. TSUDA et al. (1994), evidenciaram que os extratos preparados da casca de feijão preto e vermelho exibiam forte atividade antioxidativa. Assim, sugeriram que a casca da semente pode ter um papel de proteção química à oxidação por possuírem antioxidantes endógenos tais como compostos fenólicos. Dessa forma, os pigmentos poderiam ser usados tanto para colorir naturalmente alimentos, como para aumentar a vida de prateleira dos mesmos.

### **2.3.3 - Inibidores de proteases**

São substâncias antinutritivas que se encontram amplamente distribuídos em alimentos de consumo habitual. Estes inibidores estão amplamente distribuídos na natureza, encontrando-se tanto em alimentos de origem vegetal como de origem animal (BURNS, 1987). De forma geral, se definem 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 metabólica. Os inibidores de proteases se enquadram dentro dos fatores antinutricionais que são inibidores enzimáticos. São substâncias de natureza protéica que interferem na atividade de sistemas enzimáticos do trato digestivo, inibindo especialmente proteases, que são enzimas que hidrolizam as ligações peptídicas como primeiro passo para a assimilação das proteínas. Esta 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 baixo valor nutritivo de certos grãos comestíveis crus, como feijão ou soja, é usualmente atribuído à presença de fatores tóxicos não estáveis ao calor, incluindo inibidores de tripsina e hemaglutininas.

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

Os inibidores de tripsina e quimotripsina concentram-se nas sementes. Em geral, essas proteínas apresentam baixa qualidade nutricional em função de sua composição aminoacídica peculiar: teores reduzidos de metionina, glicina, valina, fenilalanina, tirosina e triptofano. São particularmente resistentes à desnaturação, sendo que alguns podem apresentar atividade mista, inibindo tanto a tripsina como 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, com duas pontes de enxofre e possuindo especificidade contra tripsina; b) moléculas com massa molecular de 8.000 Da, com sete pontes de enxofre, 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).

A molécula do inibidor Kunitz combina com a tripsina na forma estequiométrica 1:1, ou seja, uma molécula de inibidor inativa uma molécula de tripsina. O complexo enzima-inibidor não se dissocia facilmente em virtude da forte ligação do inibidor com enzima (RACKIS et al., 1985).

Com relação à estabilidade térmica dos inibidores, o BBI no estado puro é mais estável que o KTI. Por isso, acreditava-se que a atividade residual de inibição encontrada nos produtos de soja, fosse proveniente do BBI. Atualmente com o uso de técnicas analíticas que permitem identificar cada um dos inibidores, verificou-se que o BBI é mais inativado que o KTI. A explicação para a maior inativação do BBI talvez seja a formação de pontes de enxofre entre resíduos de cisteína do BBI com a cisteína da matriz protéica (LIENER, 1995).

Quanto aos efeitos antinutricionais causados por esses inibidores, é sabido que esses diminuem, quando o feijão é submetido a tratamento térmico (DUARTE, 1999).

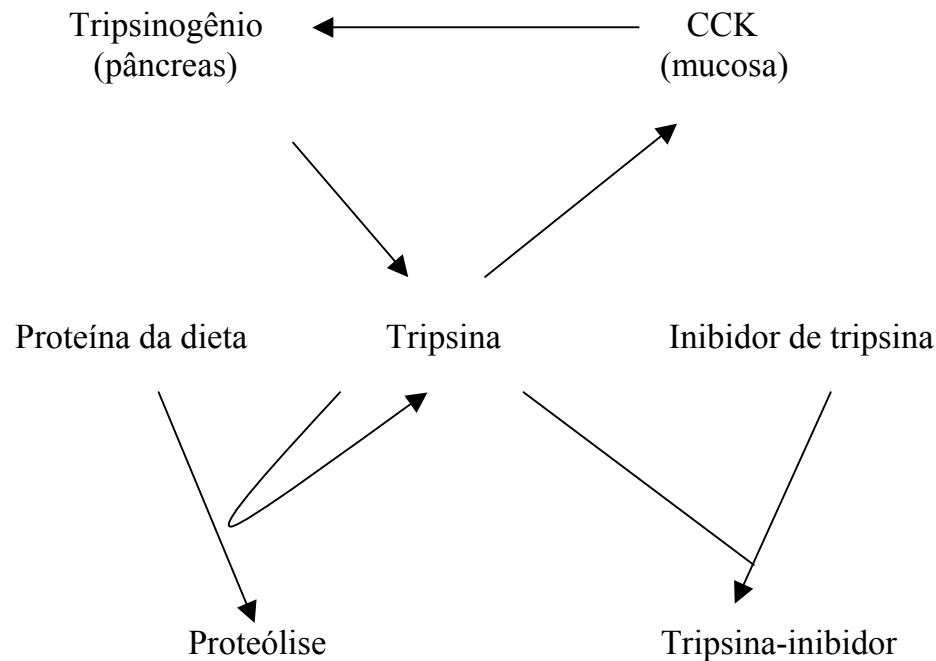
O cozimento elimina em larga escala a atividade anti-tripsina em extratos de cotilédones. O remanescente ou atividade resistente ao calor, pode ser atribuída à presença de polifenóis nas partes anatômicas, embora a destruição incompleta dos verdadeiros inibidores de tripsina deve ser considerada (FERNANDEZ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

A ingestão de feijão cru causa alteração na digestão e absorção de proteínas, causando hipertrofia, seguida de hiperplasia das células exócrinas do pâncreas de animais em experimento (DOELL et al., 1981; ROEBUCK, 1987; LIENER, 1991).

Os níveis de secreções pancreáticas e o tamanho do pâncreas são normalmente regulados pelos níveis de tripsina livre no intestino, através do hormônio colecistoquinina, que é liberado pelas células endócrinas do jejuno sempre que o nível de proteína no trato gastrintestinal está alto e o de tripsina está reduzido. Os inibidores de proteases aceleram a secreção de enzimas por um mecanismo de retrocontrole, por meio da colecistoquinina (CCK) e em

consequência, o pâncreas é estimulado a secretar mais enzimas, incluindo a tripsina (HOLM et al., 1992). Normalmente, a quantidade de enzimas secretadas pelo pâncreas é regulada pelo teor de proteínas existentes no lúmen intestinal. A tripsina se liga a proteínas; quando a tripsina está livre no trato gastrointestinal ela envia um sinal ao pâncreas para reduzir a síntese de tripsinogênio. Porém, quando o inibidor se liga à tripsina livre, a secreção pelo pâncreas do tripsinogênio é maior. Isso resulta em hipertrofia do pâncreas, a qual é uma resposta biológica reversível, que não ocasiona dano ao órgão ou à sua função (Figura 1) (RACKIS et al., 1985; LIENER, 1995).

Até recentemente não se sabia como a inativação da tripsina pelo inibidor, estimulava a produção de CCK. Já foi isolado do suco pancreático de ratos, um “peptídio monitor”, o qual é sensível à tripsina, que contém 61 resíduos de aminoácidos. Esse peptídio age como um sinal para liberação do hormônio CCK na mucosa intestinal. A inativação desse peptídio pela tripsina leva ao bloqueio da liberação do CCK, porém, quando a tripsina está complexada com o inibidor, o peptídio está livre para induzir a liberação do referido hormônio cujo efeito é o aumento do pâncreas com a consequente elevação da secreção de enzimas digestivas (LIENER, 1994).



Fonte: PEARSON, 1983

Figura 1 – Mecanismo de retrocontrole no controle de secreção de tripsina pelo pâncreas.

### 2.3.4 - Fibra alimentar

A fibra alimentar é definida como o resíduo alimentar resistente à hidrólise por enzimas gastrointestinais. Elas são classificadas em dois grupos: fibras solúveis (pectinas, algumas hemiceluloses e outros polissacarídeos) 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 aumentada de nitrogênio microbial. O efeito total de ambos os mecanismos, constitui diminuição na digestibilidade aparente da proteína (EGGUM, 1992).

A fibra não é absorvida pelas células do intestino delgado e portanto, ela 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 ácido acético, láctico, propiônico e butírico. Quando estes ácidos são produzidos em grandes quantidades, eles atuam como laxativos ou podem até provocar diarreias. Além das funções de atuar na regulação das funções intestinais como, trânsito do bolo intestinal e volume fecal, as fibras alimentares agem na prevenção de doenças como a diverticulite, constipação, hiperlipidemia, hiperglicemia e o câncer do intestino grosso (HUGHES e SWANSON, 1989; GEIL e ANDERSON, 1994).

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

Pelos relatos da literatura é de se esperar que altos conteúdos de inibidores de proteases e de fibra alimentar possam estar contribuindo para a reduzida digestibilidade do feijão. Assim sendo, torna-se importante a verificação desses parâmetros em novos cultivares de feijão, buscando associá-los à qualidade protéica dos grãos.

### **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), da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

#### **3.1 - Material genético**

As amostras de feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) utilizadas foram das variedades Aporé, Aruã, A774, Carioca, Diamante Negro, Ouro Branco, Ouro Negro, Pérola, RAO 33, Rudá e Vermelho Coimbra, fornecidos logo após a colheita, pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA - CNPAF), localizada em Goiânia, GO.

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

Para obtenção da farinha de feijão cru, com casca, inicialmente foi realizada uma seleção manual dos grãos para eliminação de impurezas e sujidades. Assim, 100 g de feijão foram triturados em moinho de facas marca Elo's, utilizando-se peneiras de 20 *mesh*.

Para obtenção da farinha de feijão cozido, com casca, 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 secos 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 a quantificação de nitrogênio total, descrito pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS) (1984). No cálculo da conversão do nitrogênio em proteínas foi utilizado o fator 6,25.

### **3.4 - Determinação de fibra alimentar**

A determinação dos teores de fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) das amostras de feijão, foi feita de acordo com o método enzimático gravimétrico, utilizando-se solução tampão MES-TRIS 0,05M, pH 8,2 e celite como auxiliar de filtração (AOAC, 1992). As fibras totais (FAT) foram obtidas por somatório entre FAI e FAS .

### **3.5 - Determinação de inibidores de proteases**

#### **3.5.1 - Preparo dos reagentes**

Soluções-estoque de tripsina pancreática bovina (tipo III – Sigma Chemical Co.) foram preparadas (1,25 mg tripsina/mL HCl  $10^{-3}$ M) e armazenadas a -20 °C. Durante o experimento, a solução-estoque da enzima foi mantida em banho de gelo.

A partir do substrato sintético N-benzoil-D,L-arginina- $\rho$ -nitroanilida (D,L-BApNA), obtido da Sigma Chemical Co., foi preparada a solução-estoque (60mM), através da dissolução de 130,47 mg do substrato em 5 mL de dimetilsulfóxido; o armazenamento foi feito a -20 °C. A concentração da solução usada no experimento foi de 1,2 mM, sendo preparada a partir de 200  $\mu$ L da solução-estoque diluídos em 10 mL de tampão Tris-HCl 0,1M, pH 8,2, contendo

CaCl<sub>2</sub> 20 mM. Essa solução foi preparada para uso imediato, por manter-se estável por aproximadamente duas horas.

### **3.5.2 - Obtenção dos extratos**

Utilizou-se o método de extração descrito por BRANDON et al. (1988). Foram adicionados 100 mg da amostra de feijão em 15 mL de tampão Tris-HCl 0,1M, pH 8,2, contendo CaCl<sub>2</sub> 20 mM ficando a concentração da solução de extrato 6,67 mg/mL. A suspensão foi agitada por três horas à temperatura ambiente e centrifugada a 35.600 x g por 30 minutos em centrífuga BECKMAN J2 MI e o sobrenadante foi utilizado no ensaio de determinação da atividade enzimática.

### **3.5.3 - Determinação da atividade enzimática**

Para a determinação da atividade enzimática dos sobrenadantes, na presença ou ausência de inibidores, utilizou-se o método proposto por ERLANGER et al. (1961), no qual foi medida a atividade proteolítica da tripsina bovina, utilizando-se como substrato sintético D,L-BApNA. O fluxograma da determinação da atividade enzimática é mostrado na Figura 2.

A concentração do produto p-nitroanilida, liberado a partir da hidrólise enzimática do D,L- BApNA, foi medida a 410 nm em espectrofotômetro BECKMAN DU 650.

Os resultados da inibição triptica foram expressos em mg de tripsina inibida, utilizando-se o fator de inibição de tripsina 0,019 (KAKADE et al., 1969), o qual corresponde ao valor da leitura de absorvância a 410 nm quando 1 µg de tripsina atua sobre o D,L-BApNA.

100  $\mu\text{L}$  do extrato ou 500  $\mu\text{L}$  de tampão Tris-HCl 50  $\mu\text{L}$  de solução  
100  $\mu\text{L}$  Tris-HCl (0,1M, pH 8,2,  $\text{CaCl}_2$  20mM) tripsina ( $4,16 \times 10^{-5}\text{M}$ )  
(controle da enzima)



Agitação e incubação (5 min)



Retirada de 500  $\mu\text{L}$  da solução e adição a outro tubo contendo 500  $\mu\text{L}$  de tampão  
Tris-HCl (0,1M, pH 8,2,  $\text{CaCl}_2$  20mM)



Adição de 500  $\mu\text{L}$  da solução de D,L-BApNA ( $1,2 \times 10^{-3}\text{M}$ )



Agitação



Leitura da absorvância a 410 nm

Figura 2 – Determinação da atividade de tripsina na presença ou ausência de inibidores.

O cálculo da atividade de inibição da tripsina (TIA) foi realizado pela divisão dos resultados obtidos ( $\mu\text{g}$  de tripsina inibida) por grama de amostra, conforme sugerido por RACKIS et al. (1986).

### **3.6 - Ensaio biológico**

#### **3.6.1 - Preparo das dietas**

Foram preparadas uma dieta aprotéica e uma dieta de caseína (padrão), e outras onze 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, conforme apresentado no Quadro 1.

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

<b>Ingredientes</b>	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D5</b>	<b>D6</b>	<b>D7</b>	<b>D8</b>	<b>D9</b>	<b>D10</b>	<b>D11</b>	<b>D12</b>	<b>D13</b>
Farinha de Feijão Aporé <sup>1</sup>	40,80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de Feijão Aruã <sup>1</sup>	-	47,52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de Feijão Rudá <sup>1</sup>	-	-	54,28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de Feijão Ouro Branco <sup>1</sup>	-	-	-	50,82	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de Feijão Carioca <sup>1</sup>	-	-	-	-	55,49	-	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de Feijão Pérola <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	50,29	-	-	-	-	-	-	-
Farinha de Feijão RAO 33 <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	52,14	-	-	-	-	-	-
Farinha de Feijão A 774 <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-	46,00	-	-	-	-	-
Farinha de Feijão Verm. Coimbra <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	43,49	-	-	-	-
Farinha de Feijão Ouro Negro <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	54,54	-	-	-
Farinha de Feijão Diamante Negro <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42,29	-	-
Caseína <sup>2</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,30	-
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>	18,95	12,23	5,47	8,93	4,26	9,46	7,61	13,75	16,25	5,21	17,46	42,45	54,75
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
Proteínas (%)	10,00	9,53	9,64	9,96	9,68	9,50	9,66	9,33	9,99	9,24	9,54	9,25	-

<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.

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 e usado o fator 6,25 para a 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 homogeneizar foi utilizado uma bateadeira industrial da marca Lieme. Após o preparo, determinou-se o teor de proteína de cada dieta, conforme ítem 3.3 e foram acondicionadas em sacos de polietileno, devidamente rotulados e armazenados a 4 °C.

### **3.6.2 - Animais**

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

Os animais foram divididos em 13 grupos com 6 animais cada, de modo que a média dos pesos entre os grupos não excedesse a 5 gramas. 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 e o monitoramento do consumo alimentar foi feito semanalmente.

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, tri-potássio, monohidratado (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 tetra hidratado (54,34% Mo)	0,00795
<b>Elementos minerais potencialmente benéficos</b>	
Meta silicato de sódio 9 hidratado (9,885 Si)	1,45
Sulfato de cromo e potássio 12 hidratado (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 da mistura vitamínica (AIN-93G-VX) usada no preparo das dietas no experimento com ratos em g/kg da mistura

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-A-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).

### 3.6.3 - Digestibilidade verdadeira

Para a determinação da digestibilidade, as dietas foram marcadas com indigocarmin na proporção de 100 mg/100g e oferecidas aos animais no 7<sup>o</sup> e 13<sup>o</sup> dias. As fezes foram coletadas do 8<sup>o</sup> ao 14<sup>o</sup>, dias em recipientes individuais para cada animal e mantidas sob refrigeração.

Ao término do experimento, as fezes foram secas em estufa com circulação de ar, a 105 °C por 24 horas. 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 a quantidade de nitrogênio ingerido na dieta, a quantidade excretada nas fezes e a perda metabólica nas fezes, 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:

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

I = Nitrogênio ingerido pelo grupo teste.

F = Nitrogênio fecal do grupo teste.

FK = Nitrogênio fecal do grupo com dieta aprotéica.

#### **3.6.4 - 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:

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

Os valores obtidos foram corrigidos para o valor de referência da caseína.

#### **3.6.5 - NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida)**

O NPR foi determinado, de acordo com BENDER e DOELL (1957), no 14º 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):

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

### **3.6.6 - 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 e colocadas em recipientes de alumínio, secas 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):

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

Onde:

Nt = Nitrogênio corporal dos animais do grupo teste;

Na = Nitrogênio corporal dos animais do grupo aprotéico;

Ni = Nitrogênio ingerido pelo grupo teste;

### **3.7 - Análise Estatística**

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de erro de 5% de probabilidade.

## **4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 - Conteúdo protéico**

A qualidade de uma proteína se baseia na quantidade de nitrogênio que o organismo é capaz de reter a partir da proteína consumida (CARIAS et al., 1995). O Quadro 4 e a Figura 3 apresentam o teor de proteína nas amostras de variedades de feijão cru e cozido estudadas.

O teor de proteína, encontrado para o feijão cru, variou de 16,14 a 22,46%, estando de acordo com dados encontrados na literatura (OSBORN, 1988). O teor de proteína para o feijão Ouro Negro, foi inferior aos encontrados por SILVA & IACHAN (1975), que encontraram para as 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%, DURIGAN et al. (1987) que encontraram para a variedade Rico 23 e Iguaçu o teor de 24,5% e 27,2% respectivamente.

Quadro 4 – Teor de proteínas em amostras de variedades brasileiras de feijão cru e cozido, com casca

AMOSTRAS	GRUPO	PROTEÍNA (%) <sup>1,a</sup>
Aporé	Carioca	23,28
Aruã	Carioca	19,99
Rudá	Carioca	17,55
Pérola	Carioca	18,89
Carioca	Carioca	17,12
Ouro Branco	Branco	18,69
RAO 33	Roxo	18,22
A 774	Mulatinho	20,65
Vermelho Coimbra	Vermelho	21,84
Ouro Negro	Preto	15,94
Diamante Negro	Preto	22,46

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

<sup>a</sup> = Feijão cozido e seco.

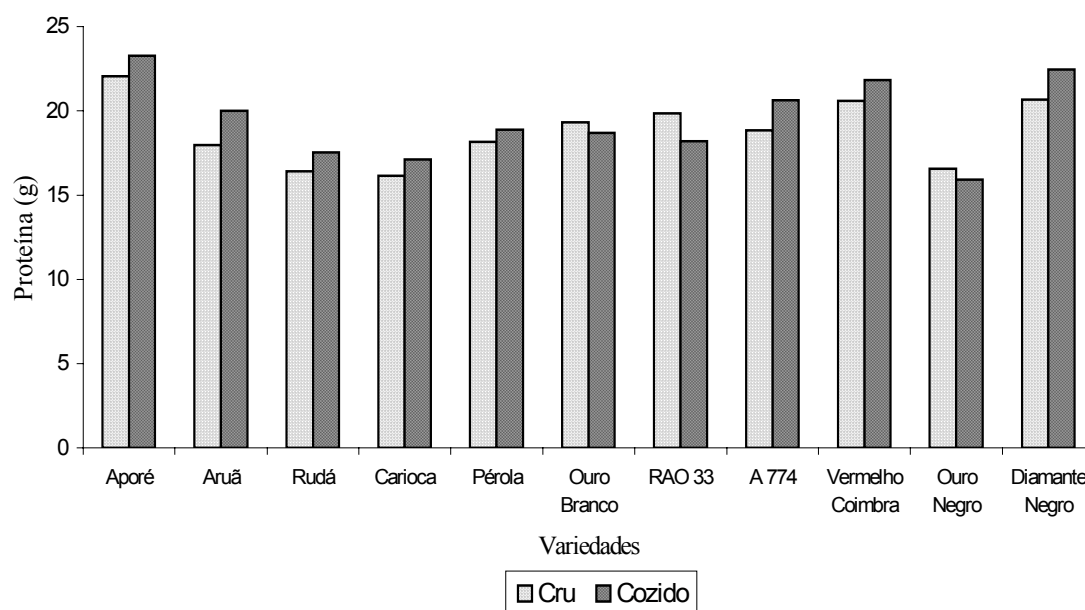


Figura 3 - Teor de proteínas em amostras de variedades brasileiras de feijão cru e cozido, com casca.

BRESSANI et al. (1981), determinaram teores que variaram de 19,2 a 25,9% para 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 valores de 20,65% a 22,75% de proteína, para as três variedades de feijão analisadas, GARCIA et al. (1997), que determinaram para duas variedades 24,5 e 24,8% e DUARTE (1999) que encontrou 21% de proteína para o feijão preto cozido.

Para a variedade carioca, o valor encontrado (16,14%) difere de SILVA & IACHAN (1975) que encontraram 24,2%, DURIGAN et al. (1987), que encontraram 23,0% e MARQUEZ et al. (1996), que encontraram para as variedades Carioca Iapar 18,8%, Carioca 80, 20,8% e Carioca IAC 21,8%.

#### **4.2 - Digestibilidade *in vivo***

A digestibilidade é o primeiro fator que afeta a eficiência da utilização protéica da dieta. Quando certas ligações peptídicas não são hidrolizadas no processo digestivo, parte da proteína é excretada nas fezes, ou transformada em produtos do metabolismo pelos microrganismos do intestino grosso (SGARBIERI E WHITAKER, 1982).

O feijão contém elementos que reduzem a sua digestibilidade. Um melhor conhecimento sobre as causas dessa baixa digestibilidade pode contribuir significativamente para sua melhor utilização. Por esse motivo, avaliou-se a sua digestibilidade *in vivo*.

Os resultados de digestibilidade verdadeira e aparente do experimento com ratos convencionais encontra-se no Quadro 5 e na Figura 4.

Quadro 5 - Digestibilidade verdadeira (DV) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais

DIETA	GRUPO	DV(%)*
Caseína	-	99,00 <sup>a</sup>
Ouro Branco	Branco	93,97 <sup>a,b</sup>
Diamante Negro	Preto	91,50 <sup>b,c</sup>
Pérola	Carioca	91,12 <sup>b,c,d</sup>
Aporé	Carioca	91,04 <sup>b,c,d</sup>
Vermelho Coimbra	Vermelho	90,44 <sup>b,c,d,e</sup>
A 774	Mulatinho	88,67 <sup>b,c,d,e</sup>
Aruã	Carioca	88,61 <sup>b,c,d,e</sup>
Carioca	Carioca	88,05 <sup>c,d,e</sup>
Ouro Negro	Preto	87,56 <sup>c,d,e</sup>
RAO 33	Roxo	85,66 <sup>d,e</sup>
Rudá	Carioca	85,31 <sup>e</sup>

- As médias dentro da mesma coluna, seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade .

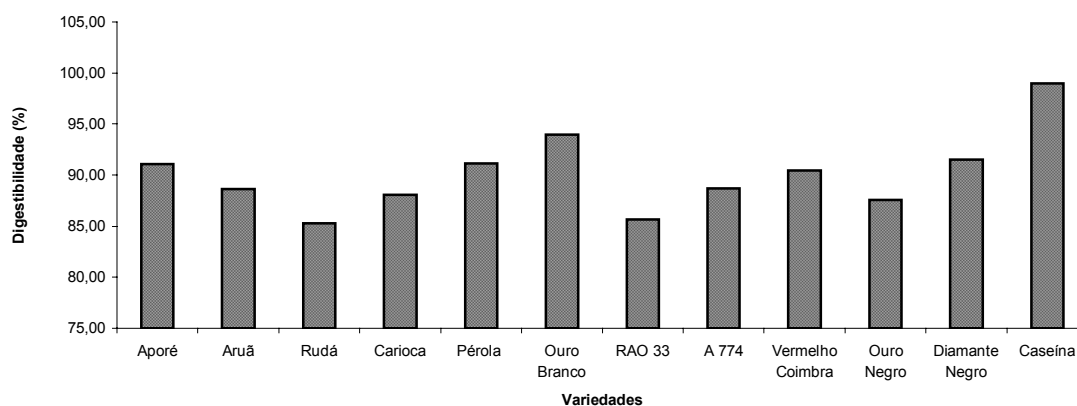


Figura 4 - Digestibilidade verdadeira (DV) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.

Observa-se que a digestibilidade verdadeira, das amostras estudadas, variaram de 84,89% do feijão Rudá a 93,62% do feijão Ouro Branco, superiores,

portanto aos resultados encontrados por BRESSANI & ELIAS (1984) que determinaram 65,7 a 83,4% em estudos realizados com ratos.

Ao se comparar os resultados obtidos pelas variedades analisadas àqueles encontrados para a caseína (Quadro 5), verifica-se que esta obteve um valor de digestibilidade significativamente maior, com exceção da variedade Ouro Branco que não diferiu estatisticamente.

CARIAS et al. (1995) argumenta que a digestibilidade verdadeira é sempre maior que a digestibilidade aparente, isto porque a digestibilidade aparente não considera as perdas obrigatórias de nitrogênio nas fezes.

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%).

DURIGAN et al. (1987), também determinou a digestibilidade aparente de variedades de feijões cozidos, com casca, e encontrou valores que situaram-se entre 59,3 e 72,6%.

BRESSANI & ELIAS (1984) determinaram valores para a digestibilidade aparente de variedades de feijão branco cozido, com casca, de 71,4 a 83,4%, e HUGHES et al. (1996), que determinaram 80,9%, diferindo significativamente do valor encontrado para a variedade Ouro Branco que foi de 93,62%, estatisticamente igual ao valor encontrado para o padrão (Caseína).

Os resultados do trabalho mostraram também que o mesmo ocorre para os valores de digestibilidade verdadeira. Com relação às outras variedades, os resultados mostraram a superioridade da dieta da caseína frente às demais.

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

HUGHES et al. (1996) também em experimentos com ratos, analisaram uma variedade de feijão preto, encontrando para a digestibilidade aparente e verdadeira os valores de 68,3 e 69,3%, respectivamente, diferindo também dos

valores encontrados para as variedades Ouro Negro e Diamante Negro que foram de 87,11 e 91,00% (DA) e 87,56 e 91,50% (DV).

BRESSANI & ELIAS (1984) também determinaram a digestibilidade aparente de variedades de feijão roxo e encontraram valores que variam de 65,7 a 80,1%, diferindo do valor encontrado para a variedade RAO 33 que foi de 85,22%.

Outras pesquisas mostraram que a digestibilidade de feijões de tegumento colorido é menor que tegumento não colorido e que o feijão preto tem digestibilidade mais baixa devido ao alto conteúdo de taninos, e isto pode estar contribuindo para a sua baixa digestibilidade.

Os valores de digestibilidade aparente e verdadeira encontrados foram, na sua totalidade, maiores que os valores encontrados na literatura para outras variedades estudadas, podendo ser resultante da ação de vários fatores como: baixas concentrações de componentes antinutricionais existentes no grão (NIELSON, 1991), diferentes variedades analisadas, condições de plantio, tempo de armazenamento, entre outras, que isoladas ou em conjunto, contribuíram para o aumento na digestibilidade.

Mas a melhoria da digestibilidade não implica necessariamente no aumento da qualidade protéica, de forma que os aminoácidos podem estar sendo mais bem 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 caracteriza completamente o mesmo, sob o ponto de vista nutricional. Raramente os nutrientes contidos no alimento estão disponíveis em sua totalidade ao organismo, após sua ingestão (SGARBIERI, 1989). Assim, procedeu-se às análises biológicas como PER, NPR e NPU que avaliam a qualidade protéica e baseiam-se na resposta do organismo à ingestão de uma proteína em estudo.

### 4.3 - PER (Protein Efficiency Ratio)

A análise de PER (Protein Efficiency Ratio) é extremamente usada para estimar a qualidade protéica de um alimento. Esta 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, do experimento com ratos convencionais, encontram-se no Quadro 6 e na Figura 5.

Os valores obtidos para PER e RPER situaram-se entre 1,2 a 2,36 e 30,92 a 60,82% respectivamente, diferindo ( $P < 0,05$ ) do valor obtido para a caseína.

Entre as amostras de feijão analisadas, a variedade Ouro Branco foi a que obteve um melhor desempenho nutricional, apresentando valores de PER e RPER significativamente maiores, e a variedade Diamante Negro foi a que obteve menor valor, diferindo significativamente das outras variedades analisadas. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por BRESSANI e ELIAS (1984), onde os feijões brancos apresentam melhor desempenho nutricional que o roxo, preto ou marrom.

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

HUGHES et al. (1996) em um estudo com ratos convencionais determinaram para uma variedade de feijão branco e preto analisados, os valores de  $PER_{14}$  de 3,20 e 2,68 respectivamente.

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

Quadro 6 - PER e RPER (PER Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais

DIETAS	GRUPO	PER <sub>14</sub> *	RPER <sub>14</sub> *(%)
Caseína	-	3,88 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Ouro Branco	Branco	2,36 <sup>b</sup>	60,82 <sup>b</sup>
Aruã	Carioca	2,19 <sup>b,c</sup>	56,44 <sup>b,c</sup>
Carioca	Carioca	2,18 <sup>b,c</sup>	56,18 <sup>b,c</sup>
Rudá	Carioca	2,12 <sup>b,c,d</sup>	54,63 <sup>b,c,d</sup>
Pérola	Carioca	1,93 <sup>b,c,d,e</sup>	49,74 <sup>b,c,d,e</sup>
Aporé	Carioca	1,63 <sup>b,c,d,e</sup>	42,01 <sup>b,c,d,e</sup>
Ouro Negro	Preto	1,60 <sup>b,c,d,e</sup>	41,23 <sup>b,c,d,e</sup>
A 774	Mulatinho	1,56 <sup>b,c,d,e</sup>	40,20 <sup>b,c,d,e</sup>
RAO 33	Roxo	1,44 <sup>c,d,e</sup>	37,11 <sup>c,d,e</sup>
Vermelho Coimbra	Vermelho	1,32 <sup>d,e</sup>	34,00 <sup>d,e</sup>
Diamante Negro	Preto	1,2 <sup>e</sup>	30,92 <sup>e</sup>

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

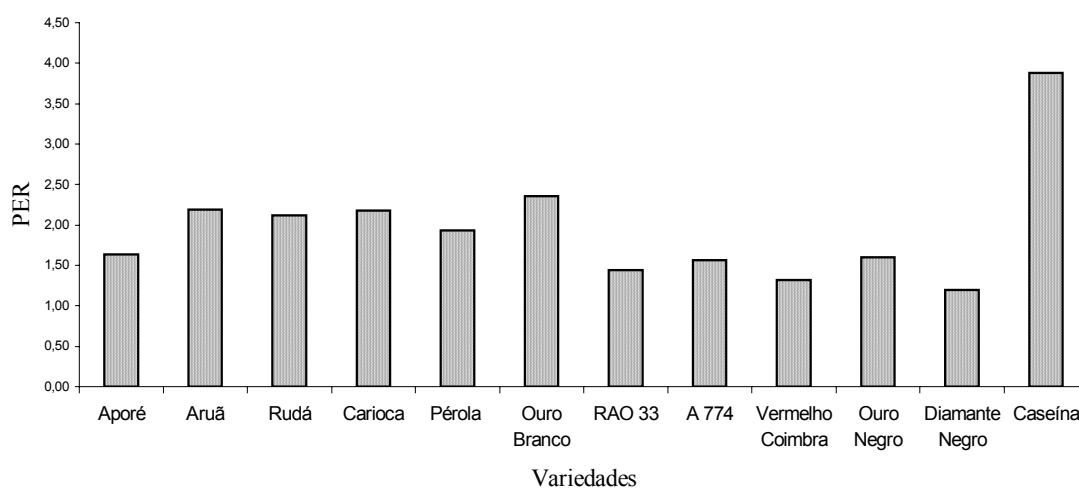


Figura 5 - PER e RPER (PER Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais

No presente trabalho, observa-se que, em termos percentuais, os valores de RPER<sub>14</sub> apresentam diferenças entre as dietas à base de feijão, e destas com relação à caseína.

#### **4.4 - NPR (Net Protein Ratio)**

A análise de NPR requer de 10 a 14 dias, 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, do experimento com ratos convencionais, encontram-se no Quadro 7 e na Figura 6.

O NPR e RNPR das variedades de feijão estudadas foram significativamente menores que o encontrado para a caseína e situaram-se entre 2,53 a 3,49 e 55,49 a 76,53% (Quadro 7), indicando que a diferença estatística só existe com relação à caseína. Isto é explicado pelo fato de o PER não levar em conta a utilização da proteína para manutenção, só para a promoção do crescimento, tendendo a subestimar a qualidade de proteínas inferiores e, por esse motivo, realça diferenças existentes entre proteínas de maior e menor valor nutricional, ao contrário do NPR (SGARBIERI, 1989).

Entre as variedades analisadas, Ouro Branco e Carioca apresentaram maior valor de NPR, enquanto Diamante Negro obteve o menor valor de NPR, ainda assim permanecendo maior que o valor encontrado por vários autores que trabalharam com feijão preto (BRESSANI et al., (1981); DURIGAN et al., (1987) e CHIARADIA 1997 ).

Os valores obtidos para NPR e RNPR foram altos em relação aos citados na literatura, e este resultado pode ser decorrente da diminuição de fatores

Quadro 7 –NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida) RNPR ( NPR Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais

DIETAS	GRUPO	NPR*	RNPR*(%)
Caseína	-	4,56 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Ouro Branco	Branco	3,49 <sup>b</sup>	76,53 <sup>b</sup>
Carioca	Carioca	3,49 <sup>b</sup>	76,53 <sup>b</sup>
Rudá	Carioca	3,46 <sup>b,c</sup>	75,87 <sup>b,c</sup>
Aruã	Carioca	3,40 <sup>b,c</sup>	74,56 <sup>b,c</sup>
Pérola	Carioca	3,13 <sup>b,c,d</sup>	68,64 <sup>b,c,d</sup>
Ouro Negro	Preto	2,91 <sup>b,c,d</sup>	63,81 <sup>b,c,d</sup>
A 774	Mulatinho	2,89 <sup>b,c,d</sup>	63,37 <sup>b,c,d</sup>
Aporé	Carioca	2,89 <sup>b,c,d</sup>	63,37 <sup>b,c,d</sup>
RAO 33	Roxo	2,76 <sup>c,d</sup>	60,52 <sup>c,d</sup>
Vermelho Coimbra	Vermelho	2,57 <sup>d</sup>	56,35 <sup>d</sup>
Diamante Negro	Preto	2,53 <sup>d</sup>	55,48 <sup>d</sup>

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

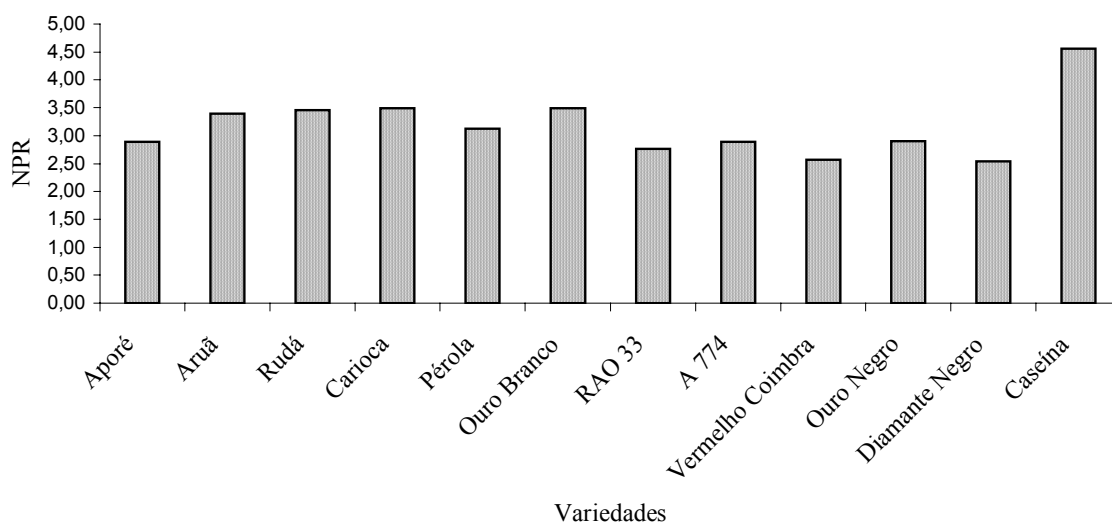


Figura 6 - NPR (Net Protein Ratio ou Razão Protéica Líquida) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.

antinutricionais, total ou parcialmente eliminados durante o tratamento térmico usado no processo, ou da qualidade das proteínas das diferentes variedades analisadas.

BRESSANI et al. (1981) estudando cinco variedades de feijão preto, encontraram valores de NPR variando entre 1,71 a 2,34.

DURIGAN et al. (1987) em experimentos com ratos convencionais, determinaram NPR para as variedades de feijão preto Iguazú e Rico 23, e encontrou valores de 2,24 e 2,35, respectivamente.

DUARTE (1995) determinou valores de 2,97 e 2,22 para o feijão preto com caldo e sem caldo.

CHIARADIA et al. (1999) determinou 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.

SABARENSE (1993) determinou NPR de uma variedade de feijão vermelho recém-colhido, e encontrou 1,35. 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 para a variedade Vermelho Coimbra que foi de 2,57 e 56,35%.

#### **4.5 - NPU (Net Protein Utilization)**

Observa-se, no Quadro 8 e na Figura 7, os valores obtidos para NPU da caseína e as variedades de feijão analisadas. Verifica-se que as variedades Carioca e Ouro Branco foram estatisticamente iguais à caseína, e que esta diferença não existe entre as variedades de feijão analisadas.

Os resultados de NPU, obtidos para as variedades analisadas, situaram-se entre 42,6 e 54,27% superiores aos resultados encontrados por DUARTE (1995), de 34,7 e 33,91% para feijão preto com e sem caldo, respectivamente. CHIARADIA (1997) encontrou para o feijão preto 34,74% e para feijão preto submetido à extração de polifenóis, 35,58%.

Quadro 8 –NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Protéica Líquida) e RNPU (NPU Relativo) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais

DIETAS	GRUPO	NPU *	RNPU%
Caseína	-	66,73 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Carioca	Branco	54,27 <sup>a,b</sup>	81,32 <sup>a,b</sup>
Ouro Branco	Carioca	52,11 <sup>a,b</sup>	78,09 <sup>a,b</sup>
Rudá	Carioca	49,71 <sup>b</sup>	74,49 <sup>b</sup>
Diamante Negro	Carioca	49,61 <sup>b</sup>	74,34 <sup>b</sup>
Aruã	Carioca	48,36 <sup>b</sup>	72,47 <sup>b</sup>
Aporé	Preto	47,92 <sup>b</sup>	71,81 <sup>b</sup>
Pérola	Mulatinho	47,66 <sup>b</sup>	71,42 <sup>b</sup>
A 774	Carioca	47,66 <sup>b</sup>	71,42 <sup>b</sup>
RAO 33	Roxo	46,38 <sup>b</sup>	69,50 <sup>b</sup>
Ouro Negro	Vermelho	44,23 <sup>b</sup>	66,28 <sup>b</sup>
Vermelho Coimbra	Preto	42,61 <sup>b</sup>	63,85 <sup>b</sup>

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

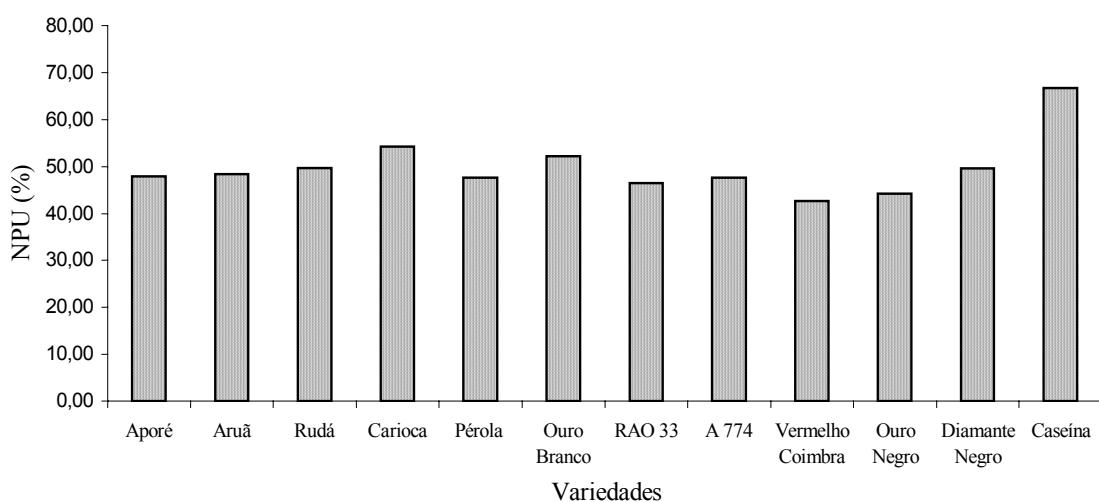


Figura 7 - NPU (Net Protein Utilization ou Utilização Protéica Líquida) da dieta de caseína e das variedades de feijão cozido, com casca, do experimento com ratos convencionais.

PEREIRA (1998) determinou o NPU para uma variedade de feijão preto sem casca e encontrou 38,44%.

CHIARADIA (1997) também determinou o NPU para uma variedade de feijão carioquinha com e sem caldo, encontrando os valores de 34,54 e 41,41%. Este resultado foi atribuído a uma menor quantidade de polifenóis presentes na casca de feijão carioquinha, quando comparados com o feijão preto.

Os valores de NPU encontrados para as variedades de feijão analisadas, foram na sua totalidade, superiores aos encontrados na literatura, o que demonstra que possivelmente, estas variedades têm um aproveitamento nutricional melhor do que outras variedades.

#### **4.6 – Presença de inibidores de proteases**

De acordo com os resultados obtidos (Quadro 9 e Figura 8), observa-se que as amostras de feijão, em geral, apresentaram baixa inibição de tripsina (0,012 a 0,362 mg de tripsina inibida/g de amostra), sugerindo que o aquecimento pelo qual os feijões foram submetidos durante o seu preparo foi eficaz na inativação de grande parte dos inibidores de tripsina, o que está de acordo com estudos feitos por OLIVEIRA (1997) que encontrou um valor de 0,21 mg de tripsina inibida/ g de amostra de feijão carioca cozido sob pressão e DUARTE (1999) que encontrou 0,20 mg de tripsina inibida/ g de amostra para feijão preto cozido.

DOELL et al. (1981) encontraram uma concentração de 0,70 mg de tripsina inibida/ g de amostra de feijão cozido. RAYAS-DUARTE et al. (1992), ao analisarem nove variedades de feijão comum (*P. vulgaris L.*), encontraram uma variação de 3,40 a 9,24 mg de tripsina inibida/ g de amostra para o feijão cozido em água fervente/30 min.

De acordo com WEDER e LINK (1993), os inibidores de proteases de feijão apresentam alta estabilidade térmica quando em solução, porém, aparentemente, são mais facilmente inativados após duas horas de fervura, indicando o envolvimento de outros componentes do feijão.

O cozimento elimina em larga escala inibidores de proteases de grãos inteiros e cotilédones. O remanescente, ou atividade resistente ao calor, pode ser atribuído à presença de polifenóis nas partes anatômicas, embora uma destruição incompleta dos inibidores de tripsina deva ser considerada (FERNANDEZ et al., 1997).

Vários estudos, com diversos cultivares, demonstraram que o feijão comum varia amplamente quanto à presença de inibidores de tripsina termoestáveis. O grande número de pontes dissulfídicas e a maior proporção de resíduos de cisteína, contribuem para a termoestabilidade desses inibidores (RAYAS-DUARTE et al., 1992).

Sob o ponto de vista nutricional, DESHPANDE (1992), em revisão sobre inibidores de proteases, conclui que é pouco provável que a presença residual destes, na dieta, tenha efeitos prejudiciais para o homem.

Se, de fato, os inibidores de proteases não apresentam atividade significativa nas condições fisiológicas, a sua importância reside no fato de que quando na forma biologicamente ativa, eles não seriam digeridos e, assim, além do nitrogênio, o alto conteúdo de cisteína neles contidos seria perdido para o homem. Além disso, os inibidores poderiam, através de reações diversas, participar da formação de complexos indigeríveis com outras proteínas do feijão, acentuando o problema da sua baixa digestibilidade (RODRIGUES, 1995).

Quadro 9 – Determinação de inibidores de proteases nas amostras analisadas de feijão cozido, com casca

Amostras	Grupo	Atividade de inibidor de tripsina (TIA)* <sup>1</sup>
Pérola	Carioca	0,362 <sup>a</sup>
Aruã	Carioca	0,286 <sup>ab</sup>
Diamante Negro	Preto	0,244 <sup>abc</sup>
Carioca	Carioca	0,167 <sup>abcd</sup>
RAO 33	Roxo	0,166 <sup>abcd</sup>
A774	Mulatinho	0,115 <sup>bcd</sup>
Aporé	Carioca	0,072 <sup>bcd</sup>
Ouro Negro	Preto	0,022 <sup>cd</sup>
Ouro Branco	Branco	0,016 <sup>d</sup>
Rudá	Carioca	0,015 <sup>d</sup>
Vermelho Coimbra	Vermelho	0,012 <sup>d</sup>

\* TIA = mg de tripsina inibida /g amostra.

1 = Valores são a média das análises em triplicata.

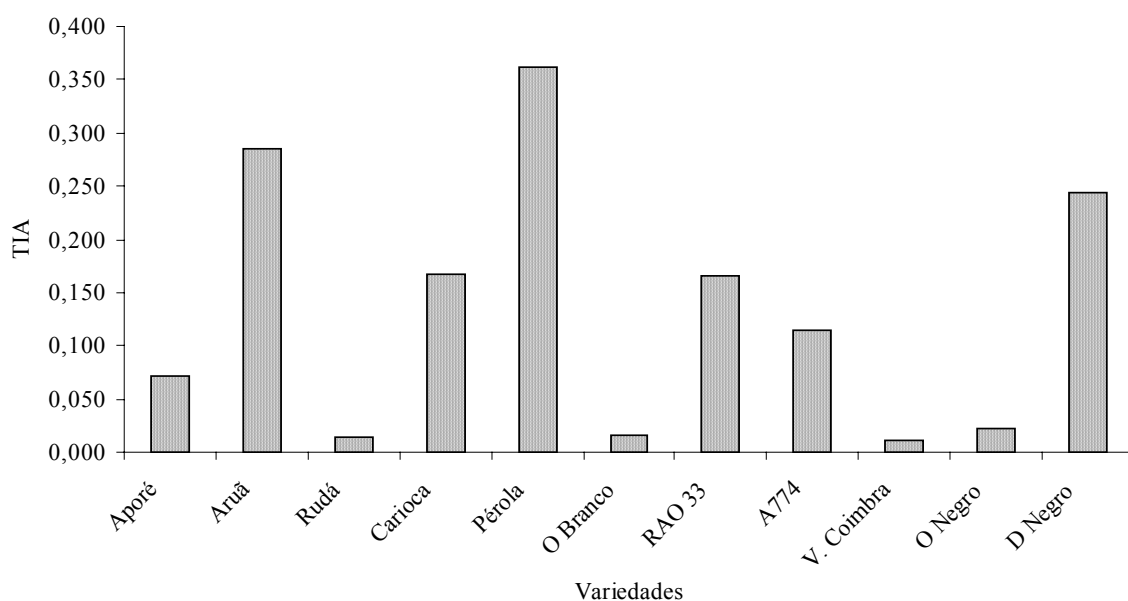


Figura 8 - Determinação de inibidores de proteases nas amostras analisadas de feijão cozido, com casca.

#### 4.7 - Fibra

A fibra alimentar provém de alimentos de origem vegetal, é formada principalmente de celulose, hemicelulose, pectinas, gomas e lignina (SELVENDRAN, 1984).

Feijões secos contém quantidades significativas de fibra alimentar (15-25%) e é uma boa fonte de fibra alimentar solúvel e insolúvel (HUGHES, 1991).

Os teores de Fibra Alimentar Total (FAT), Fibra Alimentar Insolúvel (FAI) e Fibra Alimentar Solúvel (FAS) encontram-se no Quadro 10 e na Figura 9. Os valores de FAT, FAI e FAS encontrados no presente estudo, variaram de 21,04 a 38,21% para FAT, 15,83 a 34,65% para FAI e 1,85 a 7,06% para FAS, e estão mais altos que dados obtidos por outros autores, que trabalharam com o mesmo método enzimático gravimétrico.

ACEVEDO et al. (1990) relataram valores que variaram de 24,65 a 26,77% para FAT, 20,51 a 22,87% para FAI e 3,08 a 4,14% para FAS.

FILISSETTI-COZZI et al. (1991) encontraram valores de 5,6%; 4,1% e 1,8% para FAT, FAI e FAS respectivamente, no feijão carioca cozido e 5,6%; 4,4% e 1,6% para FAT, FAI e FAS respectivamente, no feijão preto cozido.

Vários trabalhos revisados por SATHE et al. (1984), apontam uma variação de 4,2 a 7,0% na concentração de fibras alimentares do feijão vermelho cozido. Em revisão sobre o assunto, GEIL e ANDERSON (1994) citam valores médios de FAT variando de 3,0 a 7,0%, em diversos cultivares de feijões cozidos.

OLIVEIRA (1997) encontrou para o feijão vermelho, valores de 15,83% para FAT, 12,40% para FAI e 3,43% para FAS.

Quadro 10 – Conteúdo de fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) em amostras de feijão cozido, com casca

Amostras	Grupo	FAT <sup>1</sup>	FAI <sup>1</sup>	FAS <sup>1</sup>
Pérola	Carioca	38,21	34,65	3,56
Diamante Negro	Preto	37,33	34,22	3,11
RAO 33	Roxo	36,96	29,90	7,06
Vermelho Coimbra	Vermelho	36,16	34,31	1,85
Carioca	Carioca	35,57	29,47	6,10
A 774	Mulatinho	33,86	29,42	4,44
Ouro Branco	Branco	32,62	28,92	3,70
Ouro Negro	Preto	31,80	25,69	6,11
Rudá	Carioca	30,37	26,42	3,95
Aruã	Carioca	23,61	20,60	3,00
Aporé	Carioca	21,04	15,83	5,20

1 = Valores são a média das análises em duplicata.

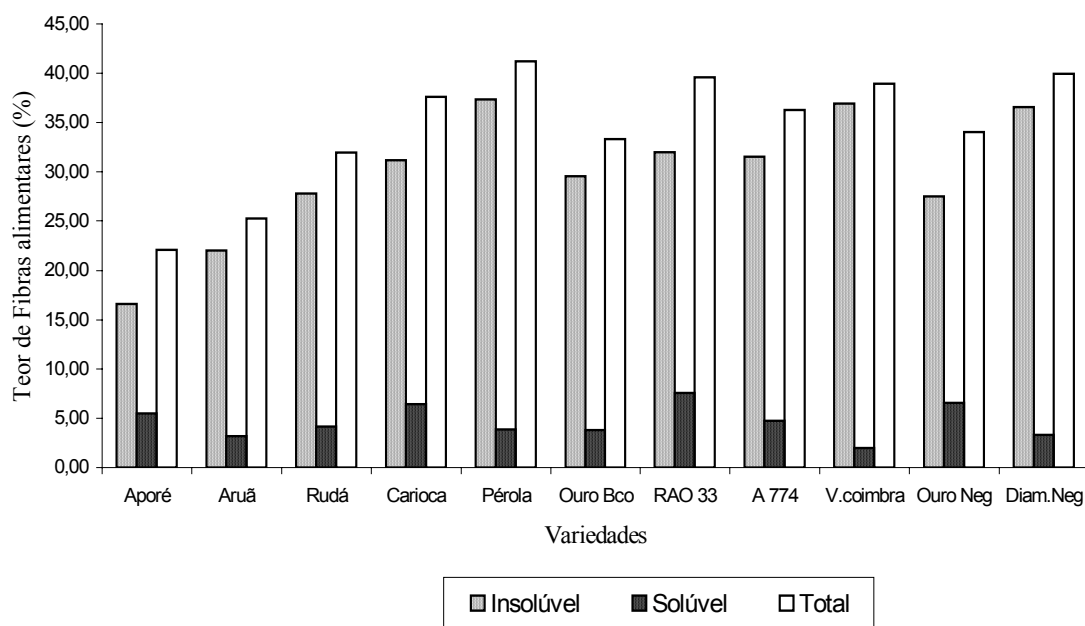


Figura 9 - Conteúdo de fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) em amostras de feijão cozido, com casca.

Diversos autores confirmam que o tratamento térmico provoca modificações quantitativas em componentes da fibra alimentar (ANDERSON e CLYDESDALE, 1980; HERRANZ et al., 1981; JOHNSTON e OLIVER, 1982; REISTAD e FROLICH, 1984; DERIVI et al., 1988). Alguns estudos mostram que alimentos tratados termicamente podem apresentar quantidades apreciáveis de amido resistente à incubação prolongada com amilases. É interessante determinar e quantificar este amido, já que estes podem comportar-se efetivamente, *in vivo*, como fibra alimentar (IRMA et al., 1998).

Os teores de FAT, FAI e FAS dos feijões encontrados no presente estudo, estão mais altos que os dados obtidos por diversos autores, mas isso não parece ser derivado do amido resistente já que o teor de amilose, que é a parte do amido que funciona como amido resistente devido à sua retrogradação, é baixa. Esta hipótese poderia ser comprovada seguindo a cinética de retrogradação do amido no feijão cozido.

#### **4.8 - Correlação entre digestibilidade verdadeira, atividade inibitória de tripsina e fibra alimentar.**

Inibidores de tripsina e fibra alimentar são antinutrientes termoestáveis, que podem participar na diminuição do valor nutricional de proteínas de feijão (HUGHES et al., 1996).

Como pode ser observado no Quadro 11, nenhuma correlação significativa foi observada entre digestibilidade verdadeira e as características de atividade inibitória de tripsina e fibra alimentar total, insolúvel e solúvel.

Estes dados diferem dos obtidos por HUGHES et al. (1996), que observaram uma correlação significativa entre FAS e a redução da digestibilidade protéica, tanto *in vivo*, quanto *in vitro*. Outros estudos confirmam que o conteúdo de fibra alimentar pode ocasionar uma mistura inadequada do conteúdo intestinal e impedir o acesso de enzimas digestivas, comprovando-se que o conteúdo de fibras no alimento se comporta como fator antinutricional que reduz a digestibilidade de amido e proteínas (EASTWOOD, 1992; MELITO e TOVAR, 1995; LOPEZ et al., 1997). No presente trabalho, não houve correlação

entre o conteúdo de fibras e a digestibilidade protéica, indicando que mesmo com um alto conteúdo de fibras nos feijões analisados (Quadro 8), observou-se também valores altos para a digestibilidade verdadeira e aparente (Quadro 3), não havendo portanto, prejuízo na digestibilidade da proteína.

Os inibidores de proteases se enquadram dentro dos fatores antinutritivos que interferem com a atividade de sistemas enzimáticos do trato gastrointestinal, reduzindo a digestibilidade protéica e conseqüentemente a assimilação de aminoácidos.

Quadro 11 – Correlação entre digestibilidade verdadeira (DV) e as características de atividade inibitória de tripsina e fibra alimentar total (FAT), insolúvel (FAI) e solúvel (FAS) nas amostras de feijão cozido, com casca

Característica	Correlação
DV x FAT	0,0040 <sup>ns</sup>
DV x FAI	0,1419 <sup>ns</sup>
DV x FAS	- 0,5102 <sup>ns</sup>
DV x TIA	0,0826 <sup>ns</sup>

ns = Não significativo, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade

Vários estudos confirmam que o tratamento térmico pode ser eficaz na redução da atividade de inibidores de tripsina (KAKADE e EVANS, 1966; ANTUNES e SGARBIERI, 1980; MENDEZ et al., 1993), e que estes fatores não seriam responsáveis pela redução da digestibilidade protéica no feijão cozido. Isso pode ser observado no presente trabalho, visto que, não houve correlação significativa entre a atividade inibitória de tripsina e a redução da digestibilidade protéica (Quadro 9) e portanto, comprometimento no aproveitamento da proteína.

## 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, buscando acrescentar informações que permitam dar mais subsídios aos trabalhos de melhoramento genético e orientar na produção de variedades que atendam ao produtor e ao consumidor em suas exigências naturais.

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 secos e moídos.

Todas as variedades foram submetidas à avaliação da qualidade protéica, por meio de ensaios biológicos em ratos recém-desmamados, onde foram analisados o PER, NPR, NPU, digestibilidade verdadeira e aparente. As amostras de feijão foram, ainda, analisadas quanto à atividade inibitória de tripsina e conteúdo de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel.

Os valores encontrados de digestibilidade aparente e verdadeira variaram de 85,31 a 93,97 e de 84,89 a 93,62% , respectivamente.

A variedade Ouro Branco teve a maior digestibilidade aparente e verdadeira entre as variedades analisadas, não diferindo do valor encontrado para o padrão (Caseína).

Os valores de digestibilidade aparente e verdadeira encontrados foram, na sua totalidade, superiores aos encontrados na literatura.

Os valores obtidos para PER e PER Relativo situaram-se entre 1,2 a 2,36 e 30,92 a 60,82% respectivamente, inferiores ( $P < 0,05$ ) aos obtidos para a caseína.

Entre as amostras estudadas, a variedade Ouro Branco foi a que obteve um melhor desempenho nutricional apresentando valores de PER e PER Relativo significativamente maior, e a variedade Diamante Negro foi a variedade que obteve menor valor, diferindo significativamente das outras variedades analisadas.

Observa-se que, em termos percentuais, os valores de PER<sub>14</sub> Relativo apresentam diferenças entre as dietas à base de feijão, e destas com relação à caseína.

Os valores de NPR e RNPR, das variedades estudadas, foram significativamente menores que o encontrado para a caseína e situaram-se entre 2,53 a 3,49 e 55,49 a 76,53 respectivamente.

Ouro Branco e Carioca apresentaram maior valor de NPR, enquanto Diamante Negro obteve o menor valor, ainda assim permanecendo maior que o valor encontrado por vários autores que trabalharam com feijão preto.

Os valores de NPU obtidos, situaram-se entre 42,6 e 54,27%. Verifica-se que as variedades Carioca e Ouro Branco não diferiram da caseína, e que esta diferença não foi observada entre as variedades de feijão analisadas.

Os valores de NPU encontrados, foram na sua totalidade, maiores que os encontrados na literatura, o que demonstra que estas variedades têm um aproveitamento nutricional superior às outras variedades.

Os teores de Fibra Alimentar Total (FAT), Fibra Alimentar Insolúvel (FAI) e Fibra Alimentar Solúvel (FAS) dos feijões, variaram de 21,04 a 38,21% para FAT, 15,83 a 34,65% para FAI e 1,85 a 7,06% para FAS, e estão mais altos que dados obtidos por outros autores, que trabalharam com o mesmo método enzimático gravimétrico.

O tratamento térmico foi eficiente para reduzir a concentração de inibidores de tripsina nas amostras analisadas, e a quantidade remanescente de inibidores não foram suficientes para afetar a digestibilidade protéica.

Não houve correlação significativa entre atividade inibitória de tripsina, FAT, FAI e FAS e redução da digestibilidade protéica.

Das variedades analisadas, a que apresentou melhor qualidade nutricional foi a variedade Ouro Branco, que obteve o maior valor para digestibilidade, PER, NPR e NPU, e as variedades de maior coloração como a Diamante Negro e Vermelho Coimbra tiveram a sua qualidade protéica reduzida.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, E., BRESSANI, R. Contenido de fibra dietetica y digestibilidad del nitrogeno en alimentos centroamericanos: Guatemala. **Arch. Latinoam. de Nutr.**, v.40, n.3, p. 439-451, 1990.
- ANDERSON, N. E., CLYDESDALE, F. M. Effects of processing on the dietary fiber content of wheat bran, pureed green beans, and carrots. **J. Food Sci.**, v.45, n.11, p.533-537, 1980.
- 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. Effect of heat treatment on the toxicity and nutritive value of dry bean (*Phaseolus vulgaris*, var. rosinha G2) protein. **J. Agric. Food Chem.**, v. 28, n.5, p. 9535-9380, 1980.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 14. ed. Arlington: 1984. 1141p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 15. ed. [S.l.]: 1992. p.136-138. (Supplement, 3).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** Washington: 1975. 1094 p.

- 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.
- BATTHY, R.S. Albumin proteins of eight edible grain legume species: electrophoretic patterns and amino acid composition. **J. Agric. Food Chem.**, v.30, n.2, p.620-622, 1982.
- 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 enzymic 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.
- BRANDON, D.L., BATES, A. H., FRIEDMAN, M. Enzyme-linked immunoassay of soybean Kunitz trypsin inhibitor using monoclonal antibodies. **J. Food Sci.**, v.53, n.2, p.102-106, 1988.
- 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., ELIAS, L. G., ESPAÑA, M. E. Posibles relaciones entre medidas físicas, químicas y nutricionales en frijol comum (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.31, n.3, p. 550-570, 1981.
- BRESSANI, R., MORA, D. R., FLORES, R. Evaluation dos metodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido, y efecto que estos provocan en la digestibilidad de la proteina. **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.
- CARBONARO, M., CAPPELONI, M., NICOLI, S., LUCARINI, M., CARNOVALE, E. Solubility-digestibility relationship of legume proteins. **J. Agric. Food Chem.**, v.45, p. 3387-3394, 1997.
- 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.
- CARVALHO, M. R. B. Heat treatment and inactivation of trypsin-chymotrypsin inhibitors and lectins from beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Biochem.**, v.27, p. 219-233, 1997.
- 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, 1997. 107p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- COELHO, R. C. Considerações sobre as proteínas do feijão. **R. Nutr.**, v.4, n.1, p.122-145,1991.
- DERIVI, S. C. N., MÉNDEZ, M.H. M., RODRIGUES, M. C. R., FERNANDEZ, M. L. A. A fração fibra de dieta em alimentos crus e processados. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 38, n.4, p. 965-978,1988.
- DESHPANDE, S. S. Food Legumes in human nutrition: a personal perspective. **Crit. Rew. Food Sci. Nutr.**, v.32, p.333-363, 1992.
- DESHPANDE, S. S., SATHE, S. K., SALUNKE, D. K. CORNFORTH, D. P. Effects of dehulling on Phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.**, v. 47, p.1846-1849, 1982.
- DESHPANDE, S. S., NIELSEN, S.S. In vitro digestibility of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins; the role of heat-stable protease inhibitors. **J. Food Sci.**, v.52, n.5, p.1330-1334,1987.
- DOELL, B. H., EBDEN, C. J., SMITH, C. A . Trypsin inhibitor activity of conventional foods which are part of the British diet and some soya products. **Qual. Plant Foods Hum. Nutr.**, v.31, n.2, p. 139-150, 1981.
- DUARTE, M. S. L. **Efeito do tegumento e do caldo de cocção do feijão na qualidade protéica.** Viçosa, MG: UFV, 1999. 63p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- DUARTE, M. S. L. **Digestibilidade *in vivo* e *in vitro* de proteínas de feijão preto.** Viçosa, MG: UFV, 1995. 59p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1995.

- 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.
- EASTWOOD M. A. The physiological effect of dietary fiber. **Annu. Rew. Nutr.**, v.12, p. 19-35, 1992.
- 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.
- ERLANGER, B. F., KOKOWSKY, N., COHEN, W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. **Arch. Biochem. Biophys.**, n.95, p. 271-278, 1961.
- EVANS, R. J., BAUER, D. H. Studies of the poor utilization of the rat of methionine and cystine in heated dry bean seed (*Phaseolus vulgaris*). **J. Agric. Food Chem.**, v.26, p. 779-784, 1978.
- 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.
- FILIZETTI-COZZI, T.M.C.C., LAJOLO, F.M. Fibra alimentar insolúvel, solúvel e total em alimentos brasileiros. **R. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo**, v.27, n.1, p. 83-89, 1991.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **Protein quality evaluation**. Rome: 1991. 66p. (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.

- 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.
- GENOVESE, M. I., LAJOLO, F. M. Influence of naturally acid-soluble proteins from beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on *in vitro* digestibility determination. **Food Chem.**, v.62, n.3, p. 315-323, 1998.
- GENOVESE, M. I., LAJOLO, F. M. Effect of bean ( *Phaseolus vulgaris*) albumins on phaseolin *in vitro* digestibility, role of trypsin inhibitors. **J. Food Biochem.**, v.20, p. 275-294, 1996.
- 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 alfafa leaf concentrates. **J. Agric. Food Chem.**, v.39, n.6, p.1120-1122, 1991.
- HERRANZ, J., VIDAL-VALVERDE, C., ROJAS HIDALGO, E. Cellulose, hemicellulose and lignin content of raw cooked Spanish vegetables. **J. Food Sci.**, v. 46, p. 1927-1933, 1981.
- HOLM, H., RESELAND, J. E., THORSEN, L. I., FLATMARK, A., HANSEEN, L. E. Raw soybeans stimulate human pancreatic proteinase secretion. **J. Nutr.**, v. 122, p. 1407-1416, 1992.
- 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.
- IRMA M., HERRERA, B., EGLIS, P. GONZÁLEZ, G., ROMERO, J. G. Fibra dietética soluble, insoluble y total en leguminosas crudas y cocidas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.48, n.2, p. 179-182, 1998.
- JAFFÉ, W. G. Toxic factors in legumes. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.18, p.205-218, 1968.
- JOHSTON, D.E., OLIVER, W. T. The influence of cooking technique on dietary fiber of boiled potato. **J. Food Tech.**, v.17, p.99-107, 1982.
- KAKADE, M. L., ARNOLD, R. L., LIENER, J. E. Unavailability of cystine from trypsin inhibitors as a factor contributing to the poor nutritive value of navy beans. **J. Nutr.**, v.99, n.3, p.34-42, 1969.
- KAKADE, M. L., EVANS, R. J. Growth inhibition of rats fed raw navy beans (*Phaseolus vulgaris*). **J. Nutr.**, v.90, p. 191-198, 1966.
- KANAMORI, M., IKEUCHI, T., KOTARU, M. Aminoacid composition of protein fractions extracted from Phaseolus beans on the Field beans (*Vicia faba* L.). **J. Food Sci.**, v.47, n.6, p.1991-1994, 1982.
- 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.
- LIENER, I. E. Possible adverse effects of soybean anticarcinogens. **J. Nutr.**, v.125, n.7, p. 744-750, 1995.

- LIENER, I. E. Significance for humans of biologically active factors in soybeans and other legumes. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 56, p. 121, 1979a.
- LIENER, I. E. The nutritional significance of plant protease inhibitors. *Proc. Nutr. Soc.*, v. 38, p. 109, 1979b.
- LÓPEZ, G., ROS, G., RINCÓN, F., PERIAGO, M. J., MARTINÉZ, C., ORTUÑO, J. Propiedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.47, n.3, p. 203-207, 1997.
- MARLETTA, L. CARBONARO, M., CARNOVALE, M. C. *In vitro* protein and sulphur amino acid availability as a measure of bean protein quality. **J. Sci. Food Agric.**, v. 59, p. 497-504, 1992.
- 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.
- MARTINÉZ, C., ROS, G., PERIAGO, M. J., ORTUÑO, J., LÓPEZ, G., RINCÓN, F. *In vitro* protein digestibility and mineral availability of green beans (*Phaseolus vulgaris* L) as influenced by variety and pod size. **J. Sci. Food Agric.**, v.77, p. 414-420, 1998.
- 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.
- MINAS GERAIS. Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cenário futuro do negócio agrícola de Minas Gerais**. Belo Horizonte, MG:1995. v. 8.
- 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, J. E. D., SANTOS, A. C., WILSON, T. D. **Nutrição básica**. São Paulo: Sauvier, 1982. 286p.
- OLIVEIRA, L. F. A. **Efeito da ingestão da mistura de arroz e feijão na biodisponibilidade de ferro e cálcio**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 135p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- 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 origem 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.

- PEREIRA, C. A . S. **Digestibilidade in vitro e in vivo de proteínas do feijão preto sem casca.** Viçosa, MG: UFV, 1998. 72p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- 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.
- RACKIS, J. J., GUNBMANN, M. R., LIENER, I. E. The USDA trypsin inhibitor study. I. background, objectives and procedural details. **Qual. Plant Foods for Hum. Nutr.**, v.35, n.7,p.213-242, 1985.
- RAUP, D. S., SGARBIERI, V. C. Efeitos de frações fibrosas extraídas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na utilização de macro e micronutrientes da dieta pelo rato. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.16, n.2., p. 100-107,1996.
- RAYAS-DUARTE, P., BERGERON, D., NIELSEN, S.S. Screening of heat-atable trypsin inhibitors in dry beans and their partial purification from Great Northern beans (*Phaseolus vulgaris*) using anhydrotrypsin-sefharose affinity chromatografy. **J. Agric. Food Chem.**, v.40,n.1, p.32-42, 1992.
- 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 committe on the reformulation of the AIN- 76 A rodent diet. **J. Nutr.**, v.123,p. 1939-1951,1993.
- REISTAD, R., FROLICH, W. Content and composition of dietary fibre in some fresh and cooked Norweigian vegetables. **Food Chem.**, v.13, p.2209-2224, 1894.

- REYES-MORENO, C., PAREDEZ-LÓPEZ, O . Hard-to-cook phenomenon in common beans – A Review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.33,n.33p.227-286,1993.
- ROCKLAND, L. B., RADKE, T. M. Legume protein quality. **Food Tech.**, v. 35, p. 79-82, 1981.
- RODRIGUES, M. L. G. **Digestibilidade e biodisponibilidade de metionina de frações protéicas do feijão (*Phaseolus vulgaris*): estudo *in vitro***. São Paulo, SP:USP, 1995. 121p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, 1995.
- ROEBUCK, B. D. Trypsin inhibitors: potential concern for humans? **J. Food Nutr.**, v.117, n.9, p.389-400, 1987.
- SABARENSE, C. M. **Armazenamento de feijões (*Phaseolus vulgaris* L.) – relação entre o endurecimento do grão e a fração fibra da dieta**. Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, 1993. 79 p. Dissertação ( Mestrado em Nutrição Humana) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1993.
- 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.
- 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, 1984.
- 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, 1984.
- SATHE, S. K., SALUNKHE, D. K. Solubilization and eletroforetic characterization of the Great Northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins. **J. Food Sci.**, v.46, n.25,p82-87, 1981.
- 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.

- SELVEDRAN, R. R. The plant cell wall as a source of dietary fiber: chemistry and structure. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.39, p. 320-337, 1984.
- SEMINO, G. A ., RESTANI, P., CERLETTI, P. Effect of bound carbohydrate on the action of tripsin 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.
- STEIN, M. Natural toxicants in selected leguminous seeds with special reference to their metabolism and behavior on cooking and processing. **Qual. Plant Foods Hum. Nutr.**, v.26, p. 227, 1976.

- SUN, S. M., McLEESTER, R. C., BLISS, F. A., HALL, T. C. Reversible and irreversible dissociation of globulins from *Phaseolus vulgaris* seed. **J. Biol. Chem.**, v.249, n.9, p.2118-2121, 1974.
- TAGHE, M. A . **Nutrição**. São Paulo: Artes Médica, 1981.234p.
- 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.
- 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.
- VIDAL-VALVERDE, C., FRIAS, J., DIAZ-POLLAN, C., FERNANDEZ, M., LOPEZ-JURADO, M., URBANO, G. Influence of processing on trypsin inhibitory activity of faba beans and its physiological effect. **J. Agric. Food Chem.**, v.45, p.3559-3564, 1997.
- VIEIRA, C. Leguminosas de grãos: importância na agricultura e na alimentação humana. **Inf. Agropecu.**, v.16, n.174, p.5-11, 1992.
- WEDER, J. K. P., LINK, I. Effect of treatments on legume inhibitor activity against human proteinases. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON ANTINUTRITIONAL FACTORS (ANFs) IN LEGUME SEEDS, 2, 1993; Wageningen. **Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Workshop on Antinutritional Factors (ANFs) in legume seeds**. Wageningen: [s.n.], 1993. p.481-485.

- 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.