

LUCÍA DE LOS ÁNGELES RAMÍREZ CÁRDENAS

**BIODISPONIBILIDADE DE ZINCO E DE FERRO, VALOR NUTRICIONAL E
FUNCIONAL DE DIFERENTES CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM
SUBMETIDOS A TRATAMENTOS DOMÉSTICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Ciência
e Tecnologia de Alimentos, para obtenção
do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006**

LUCÍA DE LOS ÁNGELES RAMÍREZ CÁRDENAS

**BIODISPONIBILIDADE DE ZINCO E DE FERRO, VALOR NUTRICIONAL E
FUNCIONAL DE DIFERENTES CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM
SUBMETIDOS A TRATAMENTOS DOMÉSTICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2006

Prof. José Carlos Gomes
(Conselheiro)

Prof^a. Maria Goretti de Almeida Oliveira
(Conselheira)

Prof^a. Nilda de Fátima Ferreira Soares

Dra. Priscila Zaczuck Bassinello

Prof^a. Neuza Maria Brunoro Costa
(Orientadora)

Aos meus pais,
Carlos Alberto e Margarita Raquel,
pelo amor e constante apoio durante esta jornada.

Aos meus irmãos, Romel, Alexandra, Carlos, Darwin e Cristina,
pela família que formamos

AGRADECIMENTO

A Deus, pela companhia constante.

Ao governo brasileiro pela concessão da bolsa de estudo através do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

À Universidade Federal de Viçosa e aos Departamentos de Tecnologia de Alimentos e de Nutrição e Saúde, pela oportunidade de realização deste trabalho.

No momento mais crítico de meu mestrado só a ajuda da professora Neuza Maria Brunoro Costa permitiu a culminação dessa etapa e me motivou a continuar com o doutorado. Obrigada Neuza pela amizade, orientação, incentivo e disponibilidade sempre constantes tanto no mestrado quanto no doutorado. Aprendi, não só conhecimentos científicos senão também a enfrentar e superar problemas da vida com optimismo e perseverança.

À EMBRAPA – Arroz e Feijão, localizada em Santo Antônio de Goiás, pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa. Em especial à Dra. Priscila Zaczuck Bassinello, por sua ajuda tanto na coordenação quanto com sua presença na defesa e contribuição com sugestões e críticas.

Ao professor Fernando Pinheiro pela amizade, paciência, disponibilidade, sugestões e, sobretudo, pela ajuda fundamental na parte estatística deste trabalho.

Aos professores José Carlos Gomes, Maria Goretti de Almeida Oliveira e Nilda de Fátima Ferreira Soares pela colaboração e pelas sugestões.

Ao Centro de Biologia Molecular no Federal Research Centre for Nutrition and Food (Alemanha), em especial ao Dr. Ralf Greiner, pela determinação de fitatos. Ao Centro Interdepartamental de Química de Proteínas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo), em especial ao Dr. José César Rosa, pela análise de aminoácidos.

À Alda Jusceline Leonel, aluna de Iniciação Científica, pela importante ajuda, colaboração e paciência na realização de toda esta pesquisa.

À Jerusa e à Pámela, minhas estagiárias, pela colaboração em diferentes etapas deste trabalho.

Ao professor Nélío e à Geralda do Departamento de Tecnologia de Alimentos pela ajuda e disponibilidade para resolver problemas diversos.

Ao Luizito, pelo carinho, preocupação, confiança, cumplicidade, presença e incentivo permanentes, durante estes quatro anos. Por nossa louca amizade. Geremias e a Pimentinha também agradecem.

À Aline Fonseca, pela sua presença, ajuda e amizade em todos os momentos tanto acadêmicos quanto pessoais. Obrigada por me escutar. No meu coração vc sempre terá um lugar especial.

À “niña” Luiza e à tia Gloria pelo carinho, cuidado e atenção com que sempre me trataram nas minhas visitas ao Rio.

À Patrícia Constant, pela nossa grande amizade que continuará em qualquer lugar do mundo.

À Nadja Sales, pelo carinho e amizade que sempre me brindou. Deus abençoe sua linda família.

Ao Paulo Rogério, pela amizade e ajuda na procura de reagentes.

Ao Franklin Valbuena, pelo imenso carinho que fortalece nossa amizade. À Alba Durango, por sua preocupação e ajuda nos momentos difíceis.

À minha amiga Tania e à família Bertazo, pelas demonstrações de carinho e por manter a casa de Juiz de Fora sempre aberta para mim.

Ao Germán Romo, por acreditar em mim e pelo estímulo constante para meu crescimento profissional, apesar da distância geográfica. Gracias Doctor!!

À Filomena Custódia, pelo carinho, preocupação e cuidados.

Ao Adão, pelo sorriso permanente e disponibilidade constantes.

Aos funcionários do Departamento de Nutrição e Saúde, especialmente ao Cassiano, Terezinha, Ricardo e Mimorina, pela ajuda.

Ao Carlos Alves do Departamento de Solos pela valiosa colaboração e pela amizade.

Aos amigos e colegas do Departamento de Tecnologia de Alimentos.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta pesquisa e para fazer da minha permanência durante estes seis anos no Brasil uma lembrança inesquecível.

BIOGRAFIA

LUCÍA DE LOS ÁNGELES RAMÍREZ CÁRDENAS, filha de Carlos Alberto Ramírez e Margarita Raquel Cárdenas, nasceu em Quito capital do Equador, província do Pichincha, em 8 de agosto de 1966.

Em julho de 1992, gradou-se de Farmacêutica Bioquímica pela Universidade Central do Equador, em Quito, Equador.

No período de março de 1993 a março de 1995, trabalhou na HOECHST ETECO, empresa farmacêutica alemã, no departamento de Controle de Qualidade.

No período de março de 1995 a março de 1999, trabalhou em PRONACA ALIMENTOS, empresa equatoriana, no departamento de Controle de Qualidade.

Em maio de 2001, obteve o título de *Magister Scintiae* em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela Universidade Federal de Viçosa.

Em abril de 2002, iniciou o Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em nível de doutorado, nessa mesma Instituição, submetendo-se à defesa de tese em fevereiro de 2006.

ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xv
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1: Fatores antinutricionais de feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> , L.): Um bem ou um mal?	6
CAPÍTULO 2: Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e fatores antinutricionais de feijão comum.....	33
CAPÍTULO 3: Biodisponibilidade de Zinco de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamento doméstico	70
CAPÍTULO 4: Biodisponibilidade de Ferro de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamento doméstico	101
CAPÍTULO 5: Valor funcional de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamento doméstico	132
CONSIDERAÇÕES FINAIS	162
ANEXOS	164

LISTA DE TABELAS

	Páginas
CAPÍTULO 2	
1. Composição centesimal em base seca, para os cultivares de feijão.....	43
2. Concentração de minerais (mg/100g) em base seca, para os cultivares de feijão	47
3. Teores de taninos (mg catequina/100g feijão) em base seca, para os cultivares de feijão	49
4. Redução nos teores de taninos (mg catequina/100g feijão) em base seca, para os cultivares de feijão	51
5. Teores de hexafosfato de inositol (IP6), pentafofosfato de inositol (IP5), tetrafosfato de inositol (IP4), trifosfato de inositol (IP3) (mol/g) em base seca, para os cultivares de feijão	52
6. Redução nos teores de IP6 e IP5+IP6 (mol/g) em base seca, para os cultivares de feijão	53
7. Teores de umidade, fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) em base seca, para os cultivares de feijão	55
8. Composição aminoacídica para os cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base úmida	57
9. Valores de PDCAAs nos cultivares de feijão cozidos com água de maceração	60

CAPITULO 3

1. Composição das dietas experimentais (g/kg de dieta)	76
2. Teor de proteínas, lipídios, zinco e cálcio dos cultivares de feijão submetidos a dois tipos de cozimento, em base seca.....	78
3. Teor de taninos e fitatos (IP5+IP6) dos cultivares de feijão submetidos a dois tipos de cozimento e fibra alimentar total (FAT) dos cultivares submetidos a um tipo de cozimento, em base seca.....	79
4. Concentração de zinco no plasma (Zn-P) e zinco nos eritrócitos (Zn-erit) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.....	80
5. Retenção de zinco no fêmur (Zn-fêmur), retenção de cálcio no fêmur (Ca-fêmur) e retenção de Magnésio no fêmur (Mg-fêmur) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.....	83
6. Comprimento do fêmur (Comp-F), largura do fêmur (Larg-F), espessura do fêmur (Esp-F) e peso do fêmur (Peso-F) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.....	84
7. Ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas.....	86
8. Consumo de taninos, fitatos (IP6+IP5) e fibra alimentar total (FAT) nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante todo o experimento (42 dias)	87
9. Razões milimolares fitatoxcálcio:Zn nos cultivares cozidos com água de maceração e cozidos sem água de maceração e porcentagem de aumento ou redução em relação ao cozimento com água de maceração, base seca...	91
10. Ingestão de razões milimolares fitatoxcálcio:zinco nos ratos durante todo o experimento segundo as dietas testes recebidas.....	92

CAPÍTULO 4

1. Composição da dieta controle (Fase de depleção).....	108
2. Composição das dietas experimentais (g/kg de dieta) (Fase de repleção).	109
3. Teor de proteínas, lipídios e ferro dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base seca.....	111
4. Teor de taninos, fitatos (IP5+IP6) e fibra alimentar total (FAT) dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base seca.....	111
5. Ganho de hemoglobina (GHb) e hematócrito (HEM) nos ratos em função de diferentes dietas nos diferentes níveis de ferro.	112
6. Ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) em função de diferentes dietas nos diferentes níveis de ferro (NFe)	116

7. Consumo de fitatos (IP6+IP5), nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante a fase de repleção.....	119
8. Consumo de taninos e fibra alimentar total (FAT) nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante a fase de repleção.....	119
9. Consumo de razões milimolares (fitato:ferro)nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante a fase de repleção.....	122
CAPÍTULO 5	
1. Composição das dietas experimentais (g/kg de dieta).....	138
2. Teor de proteínas, lipídios e fibra alimentar total (FAT) dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base seca.....	140
3. Teor de taninos, fitatos (IP5+IP6), Fibra Alimentar Insolúvel (FAI) e Fibra Alimentar Solúvel (FAS) dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base seca.....	141
4. Composição aminoacídica dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, e da caseína em base úmida.....	141
5. Níveis séricos de colesterol total, HDL-colesterol (HDL), triglicerídios, relação HDL-colesterol total (HDL/CT) e glicose dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas	143
6. Peso do fígado, lipídios hepáticos e lipídios nas fezes dos animais.....	146
7. Ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA).....	147
8. Consumo de aminoácidos nos ratos segundo as dietas HFS e testes recebidas durante todo o experimento.....	149
9. Consumo de fibra alimentar solúvel (FAS), fibra alimentar insolúvel (FAI), taninos e fitatos (IP6+IP5) nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante todo o experimento.....	153

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
CAPÍTULO 1	
1. Esquema dos sítios ativos do inibidor Bowman-Birk de soja.....	11
2. Catequina (a) e exemplo de um tanino (b)	22
3. Estrutura básica do ácido fítico	25
4. Possíveis interações de ácido fítico com minerais, proteínas e amido	26
CAPÍTULO 4	
1. Estimativa do ganho de hemoglobina (G^{Hb}) em função de níveis de ferro (C) nas dietas experimentais	114

RESUMO

RAMÍREZ CÁRDENAS, Lucía de los Ángeles, D.S. Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2006. **Biodisponibilidade de zinco e de ferro, valor nutricional e funcional de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamentos domésticos.** Orientadora: Neuza Maria Brunoro Costa. Conselheiros: José Carlos Gomes e Maria Goretti de Almeida Oliveira.

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é uma importante fonte de proteínas, amido, vitaminas, minerais e fibras na dieta brasileira. A biodisponibilidade mineral, entretanto, pode ser afetada pelo processo de cozimento e pela presença de fatores antinutricionais. Os antinutrientes têm sido categorizados como tendo tanto efeitos adversos quanto benéficos para a saúde humana. Este estudo avaliou o valor nutricional assim como a biodisponibilidade de zinco e ferro e efeitos funcionais de 5 cultivares de feijão: Branco (Ouro Branco), Negro (Diamante Negro) e marrom-rajado (BRS Radiante, Pérola e Talismã). No intuito de avaliar o valor nutricional, foram utilizadas farinhas de feijão cru, cozido sem maceração, cozido com água de maceração e cozido sem água de maceração, quantificados quanto a composição centesimal e teores de minerais, taninos e fitatos. Em farinhas de feijões cozidos com água de maceração foi determinada ainda fibra alimentar total, solúvel e insolúvel, e perfil de aminoácidos. Observou-se que todos os parâmetros quantificados

dependeram do cultivar. O processo de cozimento influenciou apenas o teor de taninos e fitatos, provocando a maior diminuição de ambos os fatores após o cozimento sem água de maceração. Também o cozimento provocou um aumento no teor de fibra alimentar insolúvel e diminuição de fibra alimentar solúvel em relação aos cultivares crus. Com base nos escores químicos corrigidos pela digestibilidade, o feijão Pérola foi a fonte protéica de mais baixa qualidade e o feijão Talismã foi o cultivar de melhor qualidade protéica. Para o ensaio da biodisponibilidade de zinco, ratos recém desmamados receberam por 28 dias dietas experimentais (padrão e farinhas dos cultivares de feijão cozidos com e sem água de maceração), com mesmo nível de zinco (15mg/kg dieta). Foram medidos o zinco plasmático e eritrocitário, além da retenção mineral e crescimento ósseo. A biodisponibilidade de zinco não dependeu do processo de cozimento, apresentando o feijão Ouro Branco cozido com água de maceração a melhor biodisponibilidade e o feijão Talismã cozido com água de maceração a mais baixa. Para o ferro, ratos recém desmamados foram submetidos a um período de depleção, de 21 dias com dieta sem ferro, seguido de repleção, de 14 dias em que foram alimentados com dietas experimentais (padrão e farinhas dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração) contendo três níveis de ferro (6, 12, 24 mg/kg dieta). Avaliou-se o ganho de hemoglobina e hematócrito em função do teor de ferro fornecido pela dieta. Foi observado que o feijão Ouro Branco teve a melhor biodisponibilidade e o feijão BRS Radiante a menor. Para a avaliação dos efeitos funcionais os animais adultos foram distribuídos em 7 grupos, um com dieta controle (Normal), um com dieta rica em gordura e açúcar (HFS) e outros 5 com dietas HFS adicionadas de 30% das farinhas de feijão cozidas com água de maceração, por 28 dias. Do 21º ao 24º dias foram coletadas todas as fezes dos animais e após o sacrifício, foram retiradas amostras de sangue e o fígado. O feijão Diamante Negro teve a melhor ação hipocolesterolemiantes, o feijão BRS Radiante promoveu a maior redução nos níveis de glicose sanguínea e o feijão Ouro Branco teve a menor ação hipocolesterolemiantes, além de ter sido o único cultivar que não promoveu a redução da glicose sanguínea. A biodisponibilidade de zinco não foi associada ao conteúdo de taninos, fibras e fitatos dos feijões, mas sim à relação milimolar fitato:cálcio:zinco. A biodisponibilidade de ferro foi associada ao teor de taninos dos feijões, porém não foi influenciada pelo teor de fibras, fitatos ou da relação milimolar fitato:ferro. As

propriedades funcionais dos feijões não foram associadas ao teor de fitatos ou ao perfil de aminoácidos, mas sim dos taninos e das fibras solúveis e insolúveis. Estes resultados deverão ser considerados em planejamentos dietéticos para superar problemas nutricionais. Assim, o cultivar Talismã pode ser recomendado se a qualidade protéica for procurada. Para deficiências de zinco e ferro, o feijão Ouro Branco deveria ser o cultivar escolhido. O cozimento sem água de maceração é o processo preferido para reduzir os níveis de antinutrientes e melhorar a biodisponibilidade mineral, apesar de que tal efeito depende do cultivar de feijão. Na procura das melhores propriedades funcionais, os cultivares indicados são Diamante Negro e BRS Radiante. Em todo caso, os feijões contribuem a uma dieta de alta qualidade devendo ser estimulado o aumento do seu consumo na dieta brasileira.

ABSTRACT

RAMÍREZ CÁRDENAS, Lucía de los Ángeles, D.S. Universidade Federal de Viçosa, February 2006. **Bioavailability of zinc and of iron, value nutritional and functional of different cultivars of common bean submitted to domestic processes.** Adviser: Neuza Maria Brunoro Costa. Committee Members: José Carlos Gomes and Maria Goretti de Almeida Oliveira.

The common beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) is an important source of proteins, starch, vitamins, minerals and dietary fiber in the Brazilian diet. The bioavailability of its minerals, however, may be affected either by the cooking process or by the presence of antinutrient factors. The antinutrients are reported to have both positive and negative effects to human health. This study evaluated the nutrition facts, the bioavailability of zinc and iron and the functional properties of 5 cultivars of beans: white (Ouro Branco), black (Diamante Negro) and brown-rajado (BRS Radiante, Pérola and Talismã). The centesimal composition and the contents of minerals, tannins and phytate were evaluated in flours made by raw beans as well as in beans cooked without soaking; cooked with the soaking water or cooked without the soaking water. The contents of total, soluble and insoluble dietary fiber and the amino acid profile were analyzed in beans cooked with the soaking water. All the parameters analyzed varied with the bean cultivar. The cooking process affected only the contents of tannins and phytate, which were

both reduced to a higher extent by cooking without the soaking water. The cooking process increased the content of insoluble dietary fiber and decreased the soluble dietary fiber when compared to the raw samples. Based on the protein digestibility corrected amino acid score (PDCAAS). Pérola was the cultivar with lowest protein quality and Talismã the highest one. To evaluate the zinc bioavailability, weaning rats were fed their experimental diets (Standard or beans cooked with or without soaking water), containing 15mgZn/kg diet for 28 days. The levels of plasma and erythrocyte zinc, the bone size and bone mineral composition were evaluated. Zinc bioavailability was not affected by the cooking process but depended on the cultivar. The white bean diet (Ouro Branco) showed the highest bioavailability and the brown bean diet (Talismã) cooked with the soaking water the lowest values. To evaluate the iron bioavailability, weaning rats were placed in an iron-free diet for 21 days (depletion). Then, they were assigned to their experimental diets (control or 5 cultivars of beans cooked with the soaking water), containing 6, 12 or 24 mg Fe/kg diet for 14 days (repletion). The hemoglobin gain and hematocrit were evaluated in function of the iron content of the diets. The white bean diet (Ouro Branco) showed the highest iron bioavailability and the brown bean diet (BRS Radiante) the lowest values. The functional properties of the bean cultivars were evaluated in adult rats, divided into 7 groups; one control (Normal); one with high fat and sucrose diet (HFS) and 5 other groups fed HFS diet added with 30% beans cooked with the soaking water, for 28 days. Feces were collected from day 21 to 24 and at the end of the experiment; the animals were sacrificed for blood and liver sampling. The black cultivar (Diamante Negro) showed better hypocholesterolemic effect; the brown bean (BRS Radiante) promoted the highest blood glucose lowering effect. The white cultivar (Ouro Branco) showed the least hypocholesterolemic effect and no blood glucose reduction. Zinc bioavailability was not associated to the contents of tannins, dietary fiber and phytate, but was affected by the phytate:calcium:zinc molar ratios of the bean cultivars. Iron bioavailability was associated to the content of tannins, but not to the contents of dietary fiber, phytate and the phytate:iron molar ratio. The functional properties were not associated to the phytate content and amino acid profile, but depended on the contents of tannins and soluble and insoluble dietary fiber of the bean cultivars. These results should be considered for dietary planning to overcome nutritional problems. Therefore, the Talismã cultivar may be recommended if the

protein quality is searched. For zinc and iron deficiencies, Ouro Branco cultivar should be chosen. Cooking without the soaking water is the preferred process to reduce the levels of antinutrients and to improve the mineral bioavailability, although such effect depends on the bean cultivar. For better functional properties, the indicated cultivars are Diamante Negro (black) and BRS Radiante (brown). In any case, the beans contribute to a high-quality diet and should be encouraged to increase its consumption in the Brazilian diet.

INTRODUÇÃO GERAL

Uma importante leguminosa na nutrição humana, o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é amplamente consumido no México, América Central, América do Sul e nos países africanos (BERRIOS *et al.*, 1999; WELCH *et al.*, 2000; COSTA *et al.*, 2006). Nos países em desenvolvimento é a principal fonte de proteína na dieta, assim como de carboidratos complexos, fibra, vitaminas e minerais (BERRIOS *et al.*, 1999; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000). As leguminosas também contêm fatores antinutricionais como inibidores de proteases, lectinas, saponinas, polifenóis e fitatos, que reduzem seu valor nutricional, diminuindo a digestibilidade ou biodisponibilidade dos nutrientes (SANDBERG, 2002).

A biodisponibilidade de um nutriente é definida como a proporção do conteúdo total do nutriente em um alimento, refeição ou dieta que é utilizada para as funções metabólicas normais (LESTIENNE *et al.*, 2005).

Os polifenóis, fitatos e alguns dos produtos de degradação de fitatos são reconhecidos como antinutrientes de distintos minerais essenciais da dieta, em particular do ferro não-heme e zinco (MARTINEZ-VALVERDE, 2000; SANDBERG, 2002). A influência negativa na absorção destes minerais é nutricionalmente importante, especialmente em alguns países em desenvolvimento, onde as leguminosas combinadas aos cereais representam uma importante fonte de diversos nutrientes para vários segmentos populacionais (HOUSE *et al.*, 2002; SANDBERG, 2002). No Brasil, o feijão comum tem sido

considerado, há muito tempo, como o alimento básico de maior importância para a população, tanto nas áreas urbanas quanto rurais (COSTA *et al.*, 2006).

A deficiência de ferro afeta uma grande proporção da população mundial (KOSSE *et al.*, 2001). Estima-se que mais de 3 bilhões de pessoas nos países em desenvolvimento sejam ferro-deficientes (BOUIS, 2000; IFPRI, 2003). Sua forma mais severa, a anemia ferropriva tem um custo global mais alto para a sociedade que qualquer outra doença, com exceção da tuberculose (KOSSE *et al.*, 2001; WELCH, 2002). A deficiência de ferro provoca também aumento das taxas de mortalidade e morbidez, diminuição da produtividade no trabalho e desenvolvimento mental prejudicado, que reduz a capacidade das pessoas de ter uma vida saudável e produtiva detendo esforços de progresso especialmente em países do terceiro mundo (YIP, 1997; WELCH, 2002).

O zinco é outro nutriente limitante em muitas dietas de populações que dependem de feijões como alimento principal (WELCH *et al.*, 2000). A biodisponibilidade de zinco em alimentos é importante, porque o fato de não consumir adequadas quantidades de zinco ou consumir alimentos com fatores que reduzem a sua absorção, pode contribuir para desenvolver a deficiência (HOUSE *et al.*, 2002). A deficiência de zinco impede o crescimento normal da criança, retarda a maturidade sexual e do esqueleto, debilita o sistema imunológico, aumentando a propensão a infecções, provoca diarreias, dermatite, alopecia, dentre outras (SANDBERG, 2002; WELCH, 2002).

É importante mencionar que alguns antinutrientes, assim como seus produtos de hidrólise, podem ter também efeitos benéficos para a saúde quando encontrados em pequenas quantidades na dieta. Deste modo, quando consumidos em baixas concentrações, ácido fítico, lectinas, compostos fenólicos, inibidores enzimáticos e saponinas reduzem glicose no sangue, e/ou colesterol e triacilgliceróis. Compostos fenólicos, ácido fítico, inibidores de proteases, saponinas, lignanos e fitoestrógenos têm demonstrado redução nos riscos de câncer (SHAHIDI, 1997). A dieta vem sendo reconhecida como a primeira linha de defesa na prevenção de diversas doenças, criando um amplo espaço na mídia e na literatura científica acerca dos alimentos funcionais (COSTA, 2003).

Os alimentos funcionais incluem alimentos integrais, fortificados, enriquecidos ou melhorados que causam efeitos potencialmente benéficos à saúde quando consumidos regularmente como parte de uma dieta variada e em

níveis efetivos (COSTA, 2003). Na nutrição humana o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), dada sua composição, proporciona vários benefícios à saúde, sendo indicado na manipulação dietética de várias doenças tais como distúrbios cardíacos, diabetes mellitus, obesidade e câncer (SATHE *et al.*, 1984; GEIL e ANDERSON, 1994). Os feijões constituem uma boa fonte de fibra alimentar especialmente fibra solúvel (KUTOS *et al.*, 2003). O consumo de alimentos ricos em fibra solúvel tem sido eficaz na redução dos níveis séricos de colesterol total e, conseqüentemente, na redução de doenças cardiovasculares da população em geral (GLORE *et al.*, 1994). No entanto existe também evidência de que o alto conteúdo de fibra solúvel na dieta tenha efeitos adversos como redução da biodisponibilidade de minerais essenciais e elementos traços no intestino delgado (BOSSCHER *et al.*, 2001).

O efeito funcional do feijão, além da presença de fitoquímicos e fibra alimentar, está baseado também na composição aminoacídica. O consumo de proteína vegetal em comparação com proteína animal resulta na diminuição sérica de colesterol e triglicerídios sendo observado este efeito tanto em humanos como em ratos (BELLEVILLE, 2002). Assim, na soja os teores mais baixos de lisina e de metionina e os níveis mais altos de arginina podem ser a causa deste efeito (COSTA, 2003).

Diversos trabalhos de melhoramento genético têm sido desenvolvidos com o objetivo de obter cultivares de feijão com melhores características agronômicas, buscando o aumento da produtividade, além da resistência a pragas e doenças (CRUZ, 2000). Porém, é indispensável uma associação estreita entre produtores e pesquisadores nas áreas de agronomia, alimentos e nutrição, para obter feijões de boa qualidade que sejam aceitos pelo consumidor. Desta forma, torna-se importante o conhecimento do valor nutricional e funcional tanto dos cultivares existentes quanto dos novos cultivares obtidos a fim de oferecer ao mercado alimentos que cumpram com as exigências de qualidade.

Portanto, este trabalho teve como objetivo estudar 5 cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) fornecidos pela EMBRAPA-Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO (Ouro Branco, Diamante Negro, BRS Radiante e Pérola) e pela Universidade Federal de Viçosa (Talismã) verificando-se o efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes, fatores antinutricionais e qualidade protéica. Foi avaliada ainda a biodisponibilidade de zinco e ferro em

ratos, com ênfase nos seus teores de taninos, fitatos e fibra alimentar. Além disso, foram estudados os efeitos funcionais dos cultivares de feijão na modulação de glicose e lipídios sanguíneos em ratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLEVILLE, J. Hypocholesterolemic effect of soy protein. **Nutr.**, v. 18, n. 7/8, p. 684-685, 2002.

BERRIOS, J.D.J.; SWANSON, B.G.; CHEONG, W.A. Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Res. Int.**, v. 32, p. 669-676, 1999.

BOSSCHER, D.; CAILLIE-BERTRAN, M.V.; DEELSTRA, H. Effect of thickening agents, based on soluble dietary fiber, on the availability of calcium, iron, and zinc from infant formulas. **Nutr.**, v. 17, p. 614-618, 2001.

BOUIS, H.E. Enrichment of food staples through plant breeding: a new strategy for fighting micronutrient malnutrition. **Nutr.**, v. 16, n. 7/8, p. 701-704, 2000.

COSTA, G.E.A.; QUEIROZ-MONICI, K.S.; REIS, S.M.P.M.; OLIVEIRA, A. C.; Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food Chem.**, v. 94, n. 3, p. 327-330, 2006.

COSTA, N.M.B. Alimentos: Componentes Nutricionais e Funcionais. In: COSTA, N.M.B.; BOREM, A. **Biotecnologia e Nutrição**. Brasil: Nobel, Primeira edição, 2003, p. 31-69.

CRUZ, G. A. D. R. **Avaliação da qualidade e digestibilidade *in vivo* da proteína de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.)**. Viçosa, MG:UFV, 2000. 68p. Tese (Mestrado em Agroquímica)- Universidade Federal de Viçosa, 2000.

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

GLORE, S.R.; TREECK, D.V.; KNEHANS, A.W.; GUILD, M. Soluble fiber and serum lipids: A literature review. **J. Am. Diet Assoc.**, v. 94, n. 4, p. 425- 436, 1994.

HOUSE, W.A.; WELCH, R.M.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Potential for increasing the amounts of bioavailable zinc in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L) through plant breeding. **J. Sci. Food Agric.** v. 82. p. 1452-1457, 2002.

IFPRI, International Food Policy Research Institute. Biofortification. Harnessing agricultural technology to improve the health of the poor. Plant Breeding to combat micronutrient deficiency. URL: <http://www.ifpri.org/>, 2002. Consultado em 08/2003.

KOSSE, J.S.; YEUNG, A.C.; GIL, A.I.; MILLER, D.D. A rapid method for iron determination in fortified foods. **Food Chem.**, v. 75, p. 371–376, 2001.

KUTOS, T.; GOLOB, T.; KAC, M.; PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chem.**, v. 80, p. 231 -235, 2003.

LESTIENNE, I.; ICARD-VERNIÈRE, C.; MOUQUET, C.; PICQ, C.; TRÈCHE, S. Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chem.**, v. 89, p. 421-425, 2005.

MAFFIA, L.M.; ALVARENGA, S.C.; BICUDO, M.H. Hábitos alimentares de famílias e estado nutricional de pré-escolares do meio rural do estado de Minas Gerais. **Rev. Oikos**. v.6, n.2, p. 9-16, 1990.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 50, No. 1, p. 5-18, 2000.

SALGADO, J.M.; SANTOS, A.C.; FISCHER, C.A.G. Efeito da suplementação de fontes de minerais sobre a mistura arroz/feijão. **Rev. Oikos**. v.2, n.2, p. 2-17, 1983.

SANDBERG, A-S. Bioavailability of minerals in legumes. **Brit. J. Nutr.**, v. 88. Suppl. 3. S281-S285, 2002.

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.

SHAHIDI, F. Beneficial Health Effects and Drawbacks of Antinutrients. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997b. p. 1-9.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCEÉ, H. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics Chem.**, v.57, p. 289-293, 2000.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48. p. 3576- 3580, 2000.

WELCH, R.M. The impact of mineral nutrients in food crops on global human health. **Plant and Soil**. v. 247, p. 83-90, 2002.

YIP, R. The challenge of improving iron nutrition: limitations and potentials of major intervention approaches. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 51, S16-S24, 1997.

CAPÍTULO 1

FATORES ANTINUTRICIONAIS DO FEIJÃO COMUM (*Phaseolus vulgaris*, L.):

UM BEM OU UM MAL?

(REVISÃO)

Fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.): Um bem ou um mal?

Antinutritional factors of common bean (*Phaseolus vulgaris*, L.): Is it good or bad?

Factores antinutricionales del frijol común (*Phaseolus vulgaris*, L.): Un bien o un mal?

Lucía Ramírez-Cárdenas¹, MSc^{a,*}, Alda Jusceline Leonel, Neuza Maria Brunoro Costa, PhD

¹Universidade Federal de Viçosa – Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos

²Universidade Federal de Viçosa – Aluna de Iniciação Científica PIBIC/CNPq

³Universidade Federal de Viçosa – PhD – Departamento de Nutrição e Saúde

*Universidade Federal de Viçosa – Departamento de Tecnologia de Alimentos – 36.570-000 – Viçosa – MG – FONES: 0XX 31 3899-2226/0XX 31 3899-1268

Lucía Ramírez-Cárdenas– Departamento de Tecnologia de Alimentos. E-mail: lramirez@vicosa.ufv.br

Short title: Fatores antinutricionais do feijão comum

Antinutritional factors of common bean

RESUMO

Uma importante leguminosa na nutrição humana, o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é uma extraordinária fonte de nutrientes para populações principalmente dos países em desenvolvimento, tanto nas áreas rurais quanto nas áreas urbanas, uma vez que preenche as principais recomendações dietéticas para a boa saúde fornecendo quantidades importantes de proteína, carboidratos complexos, minerais e vitaminas. Porém, essa leguminosa possui também quantidades apreciáveis de fatores antinutricionais que, por sua vez, apresentam tanto efeitos benéficos, tais como o controle de doenças crônicas e prevenção de câncer, quanto efeitos adversos que reduzem o valor nutricional dos alimentos, diminuindo a digestibilidade ou biodisponibilidade dos nutrientes. Os mecanismos pelos quais os efeitos antinutricionais e os benéficos são exercidos são os mesmos. Assim, a revisão que se segue mostra os principais antinutrientes

encontrados no feijão, suas propriedades químicas e seus efeitos benéficos e adversos, características essas que, se manuseadas adequadamente, podem favorecer a recuperação e manutenção da saúde humana.

Palavras-chave: fatores antinutricionais; feijão; alimento funcional; inibidores de proteases; polifenóis; fitatos

ABSTRACT

An important legume in the human nutrition, the common bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) is mainly an extraordinary source of nutrients for developing countries population, in both rural and urban areas. It fulfills the main dietary recommendations for good health by supplying important amounts of protein, complex carbohydrates, minerals and vitamins. However, this legume also possesses appreciable amounts of antinutritional factors, which may be beneficial for chronic diseases control and cancer prevention, but also presents adverse effects, such as reduced digestibility or bioavailability of nutrients. The mechanisms by which the antinutritional and the beneficial effects are exercised are the same. Thereby, the present review shows the principal antinutrients found in bean, its chemical properties and its beneficial and adverse effects. Such characteristics, if appropriated handled, may favor recuperation and maintenance of human health.

Key words: antinutritional factors; bean; functional food; protease inhibitors; polyphenols; phytates

RESUMEN

Una importante leguminosa en la nutrición humana, el frijol común (*Phaseolus vulgaris*, L.) es una extraordinaria fuente de nutrientes para las poblaciones, principalmente de los países en desarrollo, tanto en las áreas rurales como en las áreas urbanas, ya que satisface las principales recomendaciones dietéticas para una buena salud proporcionando cantidades importantes de proteína, carbohidratos complejos, minerales y vitaminas. Sin embargo, esta leguminosa posee también cantidades importantes de factores

antinutricionales que, presentan tanto efectos benéficos, como en el control de enfermedades crónicas y prevención de cáncer, así como también efectos adversos que reducen el valor nutricional de los alimentos, disminuyendo la digestibilidad o biodisponibilidad de los nutrientes. Los mecanismos por los cuales los efectos antinutricionales y los benéficos son ejercidos son los mismos. De este modo, la siguiente revisión presenta los principales antinutrientes encontrados en el fríjol, sus propiedades químicas y sus efectos benéficos y adversos, características estas que, si manipuladas adecuadamente, pueden favorecer la recuperación y conservación de la salud humana.

Palabras clave: factores antinutricionales, fríjol, alimento funcional, inhibidores de proteases, polifenoles, fitatos

INTRODUÇÃO

Os feijões preenchem as principais recomendações dietéticas para a boa saúde: consumo de fibras, amido e outros carboidratos complexos, baixo consumo de lipídios e sódio, e, por isso, as principais instituições internacionais de apoio e promoção à saúde indicam a ingestão diária de uma ou mais porções de feijão (GEIL e ANDERSON, 1994). Além do seu valor nutricional, o feijão contém fatores antinutricionais que apresentam tanto efeitos adversos quanto benéficos para a saúde em humanos. Estes efeitos são dependentes da concentração e podem ser voltados para o controle de doenças crônicas. Porém, a alta ingestão de alimentos ricos em antinutrientes leva a efeitos prejudiciais; como por exemplo, a ingestão de ácido fítico, lectinas, compostos fenólicos e taninos, saponinas, inibidores enzimáticos, glicosídeos cianogênicos, e glucosinolatos reduzem a biodisponibilidade de certos nutrientes e prejudicam o crescimento (SHAHIDI, 1997). Por outro lado, a presença de antinutrientes em um alimento deve ser cuidadosamente avaliada porque frente a determinadas doenças crônicas, pode ter importante contribuição como alimento funcional, porém, em situações de carências nutricionais, sua eliminação se torna necessária.

A seguinte revisão detalha os fatores antinutricionais presentes em feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), mostrando suas propriedades químicas e seus efeitos benéficos e adversos.

INIBIDORES DE PROTEASES

Os inibidores de proteases são substâncias de natureza protéica que interferem na atividade de sistemas enzimáticos do trato digestivo inibindo proteases, que são enzimas que hidrolisam as ligações peptídicas como primeiro passo para a assimilação das proteínas. Esta inibição se traduz, *in vivo*, numa redução da digestão protéica e, conseqüentemente, da assimilação de proteínas (PARTEARROYO *et al.*, 1995).

Os inibidores de proteases de leguminosas são geralmente classificados como inibidores Kunits ou Bowman-Birk (OSMAN *et al.*, 2002). O inibidor Kunitz com peso molecular relativamente alto (ao redor de 20000 daltons), tem um só local de reatividade específico para tripsina. O inibidor Bowman-Birk, com peso molecular mais baixo (ao redor de 9000 daltons), tem dois sítios ativos, inibindo duas moléculas de enzima, tripsina e quimotripsina simultaneamente, formando uma molécula simetricamente compacta. O inibidor Bowman-Birk é termoestável enquanto o inibidor Kunitz é termolável (ROBINSON, 1987; OSMAN *et al.*, 2002).

O inibidor Kunits consiste em uma seqüência de 181 resíduos de aminoácidos e duas pontes de enxofre, com os sítios reativos localizados nos resíduos Arg 63 e Ile 64. Se considera que a molécula tem uma estrutura α -helicoidal e existe na forma de um rolo ocasional, sendo isto confirmado com medidas físico-químicas. Isto deve ser considerado para entender o fato de que o inibidor Kunitz ao contrário da maioria de proteínas globulares, é bastante resistente à ação de agentes de desnaturação como a uréia (LIENER e KAKADE, 1980).

O inibidor Bowman-Birk é uma única cadeia polipeptídica com 71 aminoácidos incluindo 7 pontes de enxofre e é especialmente rico em resíduos de cisteína, mas deficiente em glicina e triptofano. Sua estabilidade durante o tratamento térmico, ácidos e álcalis, é mais atribuído a os efeitos de estabilização das pontes de enxofre, sobre a estrutura da proteína (LIENER e KAKADE, 1980). Existem duas ligações independentes para tripsina e quimotripsina. O lado ativo A

para tripsina (Lis16-Ser17) e o lado ativo B para inibição de quimotripsina (Leu43–Ser 44) ficam dentro de loops de nona-peptídeos formadas por um único ponte de enxofre, como se observa na Figura 1(LIENER e KAKADE, 1980; ROBINSON, 1987).

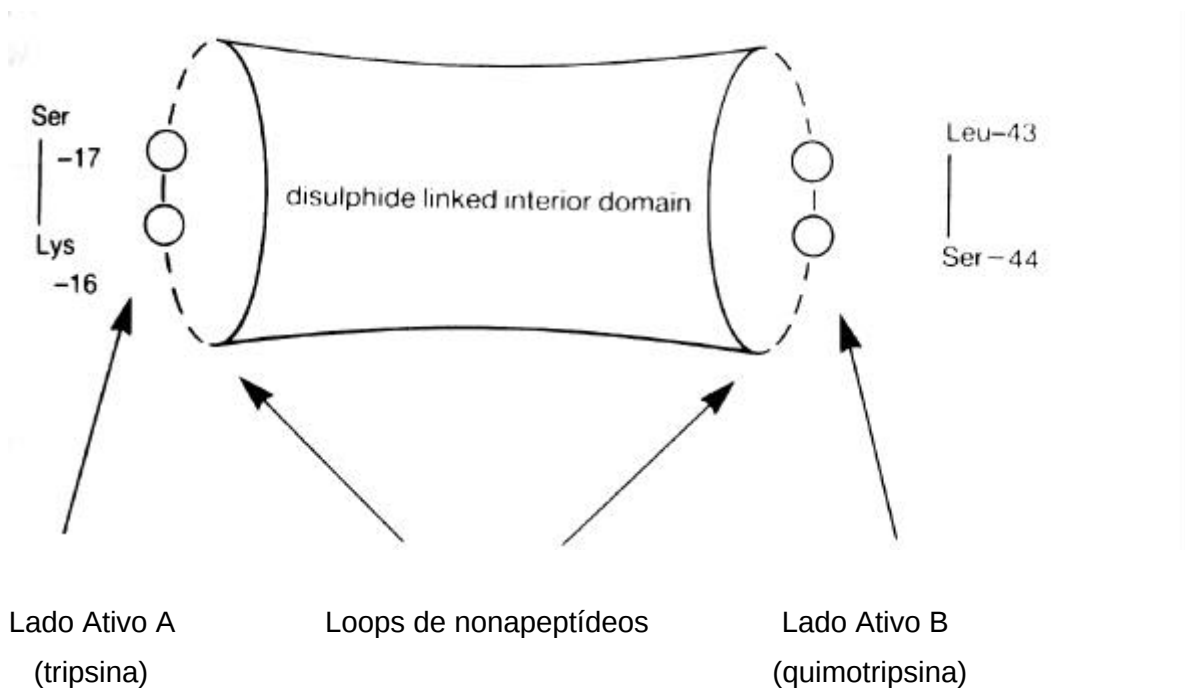
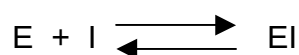


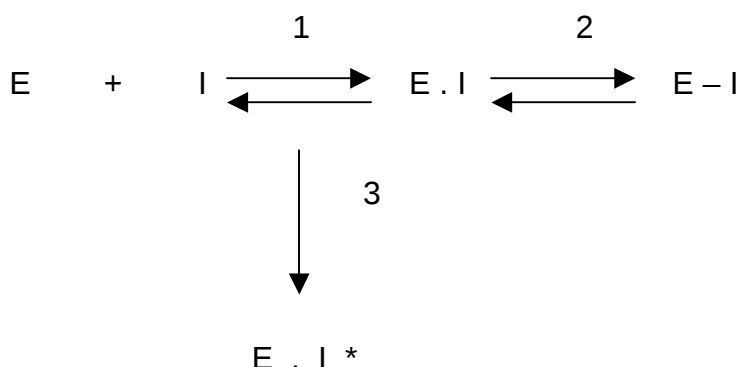
Figura 1- Esquema dos sítios ativos do inibidor Bowman-Birk de soja
Fonte: ROBINSON, 1987

Mecanismo de ação.- A inicial ligação entre a protease inibidor com a enzima parece acontecer no mesmo ponto ativo em que a proteína se une a seu substrato (WHITAKER, 1997). A reação entre enzima e inibidor pode ser representada por (ROBINSON, 1987):



Não acontece rapidamente a hidrólise do inibidor (ROBINSON, 1987), devido a que o inibidor liga firmemente e/ou por causa de constrangimentos nas conformações do inibidor no sitio de ligação. Se o pH é diminuído de 8 para 3,4 a hidrólise pode acontecer. Isto é descrito pela seguinte equação, onde E é a enzima, I é o inibidor, E.I é o complexo formado no passo 1, E-I é o complexo com

a ligação fortemente formada, a pH 8 no subsequente segundo passo, e E.I* é o inibidor modificado (peptídeo ligado ao sítio lentamente hidrolisado) como é encontrado a pH 3-4. Enzima na qual um grupo catalítico tem sido removido mas o sítio de ligação está intacto, pode ligar um inibidor tão firmemente não passo 2 como a enzima original, mas o passo 3 não acontece. O passo 3 não é essencial para a inibição (WHITAKER, 1997).



Realmente uma mistura de equilíbrio é obtida onde a relação de massa de inibidor hidrolisado para inibidor nativo está perto da unidade. Desta maneira proteinase inibidor existe em duas formas (I, EI), na presença da enzima alvo. A fácil interação entre o inibidor e a enzima alvo vai depender da formação dinâmica e dissociação reversível do complexo enzima inibidor, como já foi mencionado (ROBINSON, 1987).

Assim, o primeiro passo da interação entre o inibidor e a tripsina consiste na ruptura do enlace Arg-63-Ile-64 no inibidor. Aparentemente se forma então uma ligação éster entre o carbono terminal de Arg-63 do inibidor modificado com o resíduo de serina do sítio ativo da molécula de tripsina. Sendo que a estabilidade do complexo E-I poderia ser explicada pela formação deste enlace éster (LIENER e KAKADE, 1980; LINDNER, 1995).

O feijão, assim como as leguminosas em geral, contém inibidores protéicos das proteases digestivas humanas, tripsina e quimotripsina (CHIARADIA e GOMES, 1997). WHITAKER (1996) menciona que a maioria das leguminosas contém o inibidor Bowman-Birk com considerável homologia, enquanto o inibidor tipo Kunitz está presente só em duas espécies da família das leguminosas usadas na alimentação: a soja e os feijões *winged*, mas proteínas homologas estão presentes em algumas outras sementes incluindo outras leguminosas que não

são usadas para consumo humano (FROKIAER *et al.*, 1997). Os inibidores de proteases concentram-se nas sementes e apresentam baixa qualidade nutricional, por causa da sua composição aminoacídica peculiar e dos teores reduzidos de metionina, glicina, valina, fenilalanina e triptofano. Apesar de representarem apenas 2,5 % da proteína total do feijão, contribuem com cerca de 40% do conteúdo total de cisteína. No entanto, esse aminoácido não seria biodisponível, em razão da alta resistência ao ataque enzimático apresentada pelos inibidores (CHIARADIA e GOMES, 1997).

Nos feijões crus, a atividade dos inibidores de tripsina não diferiu significativamente entre os cotilédones dos feijões preto e vermelho, mas os cotilédones dos feijões brancos mostraram atividade significativamente menor quando comparados com os feijões vermelho e preto (FERNANDEZ *et al.*, 1982).

É interessante considerar a relação entre a atividade dos inibidores de tripsina e o conteúdo de polifenóis das sementes de feijões. Estudo com feijões de várias cores encontraram que a atividade dos inibidores de tripsina é afetada por um fator termolável (verdadeiro inibidor de tripsina) e por um fator termoestável (polifenóis) (ELIAS *et al.*, 1979).

O cozimento elimina em larga escala a atividade antitripsina de sementes inteiras e cotilédones. A remanescente ou atividade resistente ao calor pode ser atribuído à presença de polifenóis nas partes anatômicas, embora uma destruição incompleta dos verdadeiros inibidores de tripsina deva ser considerada, sendo a atividade final um somatório das duas inibições (CHIARADIA e GOMES, 1997).

Desde que inibidores de proteases são, geralmente, inativados por tratamento térmico, houve uma tendência de dizimar o significado nutricional dos níveis residuais destes inibidores. Contudo permanece ainda a questão se a ingestão crônica de baixas concentrações de inibidores constituiria risco à saúde humana, principalmente para determinados grupos da população, como crianças e vegetarianos (RACKIS *et al.*, 1986). Já a literatura menciona também que os inibidores podem atuar como fatores anticarcinogênicos (SHAHIDI, 1997). Em estudos de tumores cerebrais induzidos por compostos nitrosos em ratos foi verificada a ação inibitória do inibidor de protease isolado e purificado de feijões (BANERJI *et al.*, 1998). O inibidor Bowman-Birk derivado da soja tem mostrado inibição ou prevenção no desenvolvimento de câncer induzido quimicamente no fígado, pulmão, cólon e esôfago (SHAHIDI, 1997). Estudos com animais, *in vitro*,

com cultura de células e também dados epidemiológicos mostraram baixas taxas de mortalidade por câncer em populações humanas com alta ingestão desses inibidores (SERRANO e GOÑI, 2004).

INIBIDORES DE ALFA AMILASE

Existem três tipos de inibidores de α -amilase: proteínas produzidas por plantas superiores principalmente derivadas de leguminosas e cereais, pequenos polipeptídeos produzidos por várias estirpes de *Streptomyces* e pequenos carboidratos contendo nitrogênio produzidos por *Streptomyces* (WHITAKER, 1997; WHITAKER, 1996).

Embora a presença de um inibidor de amilase pancreática em feijões *navy* (*Phaseolus vulgaris*) tenha sido primeiramente reportado por Bowman em 1945, só depois, nos anos 80, foram feitas tentativas para purificar este inibidor (LIENER e KAKADE, 1980).

Os inibidores de amilase do feijão inibem α amilase de larvas de insetos, mas não são ativos contra as amilases α ou β do feijão, por isto tem sido proposto que o seu papel fisiológico seria o de proteger a semente contra ataque de insetos (SGARBIERI e WHITAKER, 1981). Esses inibidores são também capazes de inibir a α amilase da saliva humana, α amilase pancreática suína, mas não a de plantas superiores e de α amilases microbianas (SGARBIERI e WHITAKER, 1981) e nem as α amilases fúngicas (YAMADA *et al.*, 2001).

Devido a esta especificidade inibitória, o inibidor de α amilase despertou muita atenção como proteína inseticida e como fator antinutricional para humanos e para o gado (YAMADA *et al.*, 2001).

Se os inibidores de α amilase são nutricionalmente importantes é uma controvérsia. Estes certamente diminuem lentamente a taxa de hidrólise do amido na saliva e intestino delgado de humanos e ratos, podendo-se observar algum amido não hidrolisado nas fezes de ratos experimentais alimentados com estes inibidores, sugerindo, desta forma, que estes inibidores poderiam ser ativos *in vivo* (WHITAKER, 1996); mas em outras pesquisas não foi observada inibição do crescimento de ratos alimentados com uma preparação contendo inibidor de α amilase purificado de feijões *kidney* vermelhos (LIENER, 1980). Entretanto, segundo WHITAKER (1996) existe um pequeno efeito destes inibidores no

crescimento de ratos e frangos. A glicose não é liberada tão rapidamente a partir da digestão do amido para o sangue de humanos e ratos na presença desses inibidores (WHITAKER, 1996), e têm sido relacionados com efeitos hipoglicemiantes (SHAHIDI, 1997). Porém, a instabilidade destes inibidores sob as condições do trato gastrointestinal resulta em um fracasso para reduzir a resposta insulínica, aumentando a produção calórica dos alimentos quando são usados estes inibidores como bloqueadores de amido (SHAHIDI, 1997).

LECTINAS (FITOHEMAGLUTININAS)

A presença de substâncias tóxicas nas sementes de certas plantas foi reconhecida, já em 1888, quando foi observado que a extrema toxicidade de feijões castor poderia ser atribuída à fração protéica que era capaz de aglutinar as células vermelhas sangüíneas. Atualmente, se conhece que substâncias similares freqüentemente referidas como hemaglutininas, estão amplamente distribuídas na natureza, até mesmo em leguminosas comestíveis como feijões *kidney*, soja, lentilhas, ervilhas, e muitas outras plantas que são comumente consumidas como alimento na dieta humana (LIENER, 1997). Porém as lectinas não só estão presentes em plantas, mas também existem em microrganismos e mamíferos, incluindo o homem (FROKIAER *et al.*, 1997).

A mais importante característica na estrutura das lectinas é o fato de que contêm de 2 a 4 subunidades, sendo que cada subunidade apresenta um local para ligação com um açúcar específico (LIENER, 1997; IRISH *et al.*, 1999). É esta característica de multivalência que confere às lectinas a habilidade para aglutinar células vermelhas sanguíneas (por ligações não covalentes com os carboidratos localizados na superfície das células da membrana) ou a precipitação de glicoproteínas, propriedade que é perdida se a molécula é dissociada em subunidades (LIENER, 1997).

A associação entre leguminosas e bactérias fixadoras de nitrogênio, principalmente do gênero *Rhizobium* é altamente específica e as lectinas que são secretadas pelas raízes desempenham um papel crucial nesta relação simbiótica, assim como também as lectinas estariam envolvidas nos mecanismos de defesa das plantas contra insetos e microrganismos patogênicos (LIENER, 1997; MOORE *et al.*, 2000).

O conteúdo, a toxicidade e as propriedades biológicas de lectinas de *Phaseolus vulgaris* dependem da variedade. Embora alguns cultivares de feijão contenham apenas pequenas concentrações de lectinas nas sementes, naqueles cultivares onde estão presentes, representam de 6 a 12% do conteúdo total de proteínas (SGARBIERI *et al.*, 1979), sendo que aparecem principalmente nas variedades pigmentadas, quando comparadas com as brancas ou não pigmentadas (CHIARADIA e GOMES, 1997). As primeiras pesquisas sugeriram que a toxicidade das lectinas de *Phaseolus vulgaris* poderia ser atribuída a sua habilidade para ligar receptores específicos (carboidratos) localizados na superfície das células epiteliais no trato intestinal (LIENER, 1997). Isto foi observado em ratos, dado que a membrana da borda em escova do intestino destes animais contém quantidades substanciais de N-acetilgalactosamina e N-acetilglucosamina ligando-se fortemente a estes carboidratos as lectinas de soja, de feijões *kidney*, de feijões *winged* e de germe de trigo quando foram consumidos em estado nativo, sendo altamente tóxicos (IRISH *et al.*, 1999). Por técnicas de imunofluorescência, analisando uma secção transversa do duodeno de ratos alimentados com dietas contendo feijões *kidney*, observou-se que, além da ligação da lectina na parede intestinal apareciam lesões, severos rompimentos e desenvolvimento anormal das microvilosidades intestinais (SGARBIERI e WHITAKER, 1982; LIENER, 1997). Esta forte ligação da lectina com as células epiteliais do trato digestivo estimula o crescimento do intestino delgado e do pâncreas como também a acumulação de poliaminas (FROKIAER *et al.*, 1997).

Uma das principais consequências do dano provocado na mucosa intestinal por lectinas é o prejuízo na absorção de nutrientes como aminoácidos, lipídeos, vitamina B₁₂ e interferência com o transporte de íons (SGARBIERI e WHITAKER, 1982). Existe também a possibilidade de que as lectinas possam inibir a atividade de certas enzimas intestinais que participam na digestão de proteínas (LIENER, 1997).

Foi observado também que animais *germ free* são mais toleráveis aos efeitos de leguminosas cruas na dieta que os animais convencionais. Uma ampla colonização de bactérias coliformes tem sido observada no intestino delgado de ratos e frangos, alimentados com dietas contendo feijões crus ou lectinas purificadas procedentes também de feijões. A explicação para este fenômeno não está totalmente clara, mas a melhor explicação parece ser considerar que as

lectinas por causa de suas propriedades polivalentes podem-se ligar aos receptores na borda em escova como também aos receptores na superfície da bactéria. A lectina assim estaria atuando como uma cola entre a bactéria e a borda em escova. O efeito tóxico produzido por este enorme crescimento bacteriano tem sido explicado considerando que a permeabilidade do intestino delgado tem sido alterada, e as endotoxinas produzidas por estas bactérias podem entrar na corrente sangüínea com graves conseqüências (LIENER, 1997).

Em geral, a maior parte de lectinas é inativada com o tratamento térmico, tanto o processamento industrial quanto o cozimento doméstico (LIENER, 1997). Devido à sua característica particular de ligar açúcares específicos ou glicoconjugados, as lectinas têm ampla aplicação em laboratórios médicos e de pesquisa como na identificação de substâncias de grupos sanguíneos, receptores de membrana, e detecção de células malignas. Uma das mais interessantes aplicações de lectina na pesquisa médica foi o uso de lectinas para prevenir rejeição em transplantes de medula óssea, devido ao fato de que as lectinas da soja podem ser usadas para remover as células maduras T responsáveis pela rejeição. Também foi observado que a injeção tanto de lectina de soja quanto de feijões *kidney* retardou o crescimento de tumores transplantados em ratos (LIENER, 1997).

ALFA GALACTOSÍDEOS DA SACAROSE

Estes oligossacarídeos têm grupos -galactopiranosil ligados a sacarose com acomplamentos -1,6 galactosídicos (LIENER, 1980). O número de açúcares na família da rafinose tem sido identificados em alimentos de origem vegetal. Presença de rafinose, estaquiose e verbascose foi reportado em amendoim e sementes de leguminosas (NACZK *et al.*, 1997).

São causadores da flatulência devido à carência de atividade de alfa galactosidase na mucosa intestinal de animais e humanos (SÁNCHEZ-MATA *et al.*, 1998). Assim, estes carboidratos escapam da digestão e são metabolizados pelas bactérias existentes na parte baixa do trato intestinal a hidrogênio, dióxido de carbono e metano, podendo causar flatulência, diarréia e dor abdominal (SGARBIERI, 1989; SÁNCHEZ-MATA *et al.*, 1998).

Tem sido demonstrado que não só os oligossacarídeos como também amido e hemicelulose contribuem com essa flatulência; em alguns estudos foi o

amido o maior produtor de gás *in vitro*, fato esse atribuído à sua baixa digestibilidade, mas *in vivo* frações de oligossacarídeos produzem maior quantidade de gás. Resultados obtidos em pesquisas indicam que os alfa galactosídeos de sacarose são apenas um dos fatores da flatulência e sua remoção pode reduzir, mas não eliminar esse problema (NACZK *et al.*, 1997). Mesmo assim, vários métodos para remoção desses compostos têm sido empregados, tais como descascamento, embebição e/ou cozimento em água e soluções tampão, irradiação, tratamento enzimático, germinação, e extração com solventes (COSTA DE OLIVEIRA *et al.*, 2001).

Dentre os feijões comuns (*Phaseolus vulgaris*, L.), os pretos e rosas contêm menor quantidade de açúcares causadores da flatulência, e estaquiouse seria o seu principal causador em feijões brancos, *navy*, *kidney*, lupine, lima (NACZK *et al.*, 1997).

Hidrogênio e dióxido de carbono são os principais gases produzidos da fermentação microbiana intestinal de carboidratos não absorvidos (NACZK *et al.*, 1997). Por outro lado, escatol, gás sulfuroso, indol, aminas voláteis, e ácidos graxos de cadeia curta (predominantemente acetato, propionato e butirato) são somados ao odor característico (HUGGES, 1991; NACZK *et al.*, 1997). Os ácidos graxos de cadeia curta são absorvidos no intestino e transportados pela veia porta. O propionato é metabolizado no fígado inibindo a síntese do colesterol hepático e conseqüentemente reduzindo os níveis séricos (HUGGES, 1991).

Freqüentemente só é considerado o aspecto negativo da fermentação intestinal por causa da formação de gás e a perda do organismo como flatulência. Porém os ácidos produzidos na fermentação estimulam os movimentos peristálticos do intestino e deste modo evitam a constipação (SGARBIERI, 1989). NACZK *et al.* (1997) mencionam que existem algumas evidências que os alfa galactosídeos da sacarose possam ter alguns efeitos benéficos para a saúde, mas futuras pesquisas são necessárias.

SAPONINAS

As saponinas são glicosídeos formados por sapogenina (agliconas) e diversos açúcares. A aglicona é um esteróide ou um triterpeno. Os açúcares são pentoses especialmente D e L-arabinose, D-xilose, L-ramnose e quinovose. Tem

também hexoses de D-glicose e D-galactose; e ácidos, D-glicerônico e D-galacterônico (BIRK e PERI, 1980; LINDNER, 1995).

Por via oral, as saponinas são pobremente absorvidas, podendo ser excretadas sem nenhuma mudança ou metabolizadas no intestino, por ação de bactérias entéricas, enzimas intestinais ou suco gástrico (RAO e KORATKAR, 1997). Sendo compostos anfifílicos atuam como surfatantes naturais, apresentam um gosto amargo característico, formam complexos com as proteínas e lipídios e interagem rapidamente com as células das membranas (BIRK e PERI, 1980; LINDNER, 1995; RAO e KORATKAR, 1997). Devido, sobretudo à reação com lipídios, a membrana dos eritrócitos se faz permeável, permitindo a saída do pigmento sangüíneo (Hemoglobina) (BIRK e PERI, 1980; LINDNER, 1995). As saponinas são tóxicas em altas concentrações e podem afetar a absorção de nutrientes por inibição de enzimas metabólicas e digestivas como também pela ligação com nutrientes como o zinco (SHAHIDI, 1997).

Porém, em base a resultados experimentais as saponinas apresentam efeitos hipocolesterolemiantes, estimuladores da função imune, e anticarcinogênicos. Os mecanismos propostos para a ação anticarcinogênica incluem efeitos antioxidantes, citotoxicidade direcionada e seletiva para as células cancerígenas, modulação do sistema imune e regulação da proliferação celular (RAO e KORATKAR, 1997). Foram detectados em feijões *kidney* (*Phaseolus vulgaris* L.) e outras leguminosas, saponinas conjugadas com DDMP (2,3-diidro-2,5,diidroxi-6-metil-4H-pirano-4-one). Estas saponinas parecem possuir atividades anticancerígenas e mostraram atividade de remoção de radicais oxigênio similar a SOD (superóxido dismutase) (CHIARADIA e GOMES, 1997).

As saponinas das leguminosas exercem efeito hipocolesterolemiaante significativo (CHIARADIA e GOMES, 1997). As saponinas formam complexos insolúveis com β -hidroxiesteróides, diminuindo a absorção intestinal de colesterol e aumentando a excreção fecal de esteróis (GESTETNER *et al.*, 1972). A adsorção de ácidos biliares à fibra alimentar é aumentada na presença de saponinas formando micelas de grande peso molecular que impedem a reabsorção dos ácidos biliares, aumentando a conversão hepática de colesterol para ácidos biliares (MILGATE e ROBERTS, 1995). A interação de saponinas com as células da mucosa intestinal conduz a um aumento na permeabilidade e a subsequente perda nas funções celulares normais aumentando a esfoliação e

promovendo a proliferação. A perda aumentada das células intestinais contribui a um aumento adicional na excreção fecal de colesterol (MILGATE e ROBERTS, 1995).

GLICOSÍDEOS CIANOGENICOS

O HCN não está presente na forma livre nas plantas superiores, mas é liberado dos precursores cianogênicos devido a hidrólise enzimática. Os compostos cianogênicos são usualmente derivados carboidratos, especificamente -glicosídeos de -hidroxinitrilos (cianohidrinas). Glicosídeos cianogênicos são metabólitos secundários contendo nitrogênio, e são encontrados nas folhas, raízes, sementes e em outros tecidos das plantas (SHAHIDI e WANASUNDARA, 1997).

As plantas mencionadas contêm três glicosídeos cianogênicos: a *amigdalina*, nas amêndoas amargas e sementes de outras frutas; a *durrina* no sorgo e em outras gramíneas; e, a *faseolunatina* (ou linamarina) na mandioca, feijão e linho (LINDNER, 1995).

Concentrações de glicosídeos cianogênicos em torno de 2mg/100g podem ser encontradas em *Phaseolus vulgaris* (*kidney*, *haricot* ou *navy*), *Vigna sinensis* (ervilhas) e *Pisum sativum* (ervilhas garden) (MONTGOMERY, 1980), e processamentos como fervuras, assado, grelhado, secagem ao sol, remolho em água ou fermentação eliminam grande parte da toxicidade (LINDNER, 1995). O feijão contém um glicosídeo cianogênico chamado faseolunatina (ou linamarina) que é o glicosídeo da acetona cianohidrina, rendendo acetona e HCN na hidrólise (MONTGOMERY, 1980).

A toxicidade observada nesses glicosídeos é devido à liberação de HCN causada por ação enzimática. Duas enzimas estão envolvidas: a) β -glicosidase, que hidrolisa a molécula nos correspondentes cianidrina e açúcar; e, b) hidroxinitrila liase, que dissocia a cianidrina em aldeído ou cetona e HCN. Ambas enzimas são encontradas em plantas que contêm glicosídeos cianogênicos, e a reação ocorre quando os tecidos vegetais são rompidos, como no processamento ou ingestão, para permitir que a enzima e substrato entrem em contato (MONTGOMERY, 1980).

Os glicosídeos cianogênicos são considerados como partes das plantas envolvidas em mecanismos de defesa contra dano provocado por pesticidas e insetos. Também se considera que esses compostos, em sementes, servem como formas de armazenamento de nitrogênio que podem ser convertidas em aminoácidos quando existe grande demanda de nitrogênio, como acontece durante a germinação (SHAHIDI e WANASUNDARA, 1997).

Desconhece-se o metabolismo de glicosídeos cianogênicos no organismo humano. Tem-se demonstrado que a ingestão constante de substâncias que contêm CN⁻ pode produzir transtornos graves, que são especialmente transtornos nervosos como a ataxia sensitiva, espasmo muscular e alteração da sensibilidade (LINDNER, 1995).

POLIFENÓIS

Os polifenóis localizam-se principalmente no tegumento do grão, nas variedades coloridas de feijão comum (CHIARADIA e GOMES, 1997). Os polifenóis, dentre os fatores antinutricionais, são os que mais contribuem para a baixa digestibilidade do feijão em humanos e animais, e isto pode ser explicado pela formação de complexos entre os polifenóis e as proteínas, os quais são insolúveis e de baixa digestibilidade, tornando a proteína parcialmente indisponível, ou pela inibição de enzimas digestivas e pelo aumento do nitrogênio fecal (CHIARADIA e GOMES, 1997; SATHE, 2002). Os compostos fenólicos podem também inibir a biodisponibilidade de certos minerais como o zinco (SHAHIDI, 1997).

Os polifenóis são classificados como ácidos fenólicos e derivados taninos e flavonóides. Os flavonóides são subdivididos em antocianinas, flavonas, flavonóis e substâncias relacionadas (SALUNKE *et al.*, 1982).

Tanino é um termo químico usado para descrever uma ampla classe de compostos que inclui todos os polifenóis em plantas que têm um peso molecular superior a 500 (WELCH *et al.*, 2000). Embora os taninos sejam quimicamente um grupo diversificado e não bem definido, eles são normalmente divididos em taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Os taninos hidrolisáveis são facilmente hidrolisados, quimica ou enzimaticamente, e podem ser quebrados em açúcares, ácidos carboxílicos e compostos fenólicos simples; já os taninos

condensados são os mais difundidos e típicos entre taninos de plantas e consistem de oligômeros dos “flavan-3-ols” (catequinas) (Figura 2) ou “flavan-3,4-diols (leucoantocianidinas) e resíduos flavonóides que produzem tipicamente antocianidinas (cianidina e pelargonidina) na degradação ácida (MANGAN, 1988; CARMONA *et al.*, 1996).

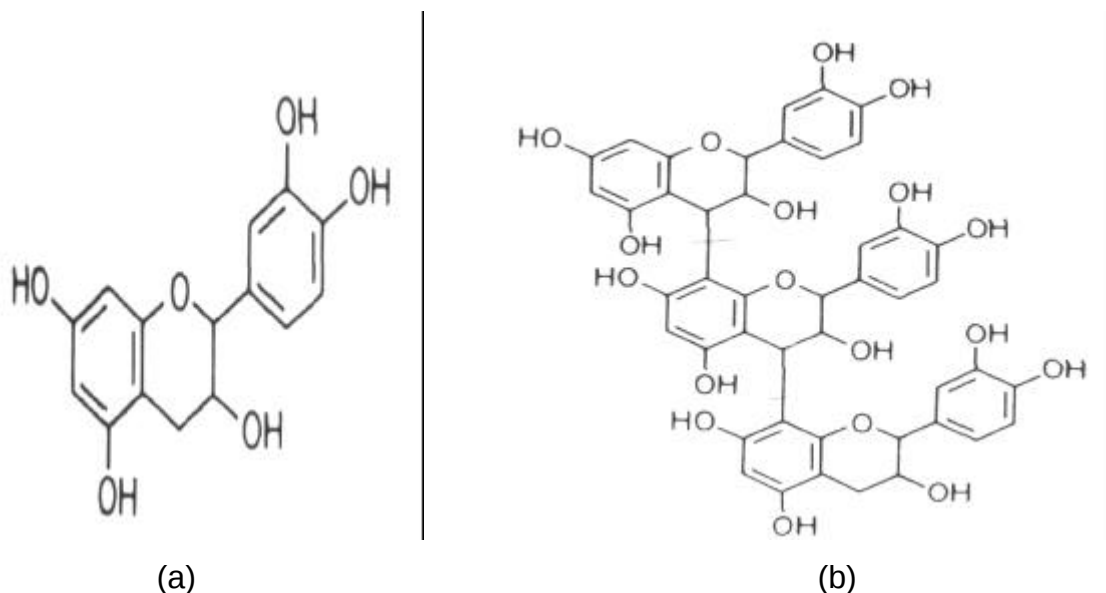


Figura 2- Catequina (a) e exemplo de um tanino (b)
Fonte: Lindner, 1995

Os feijões comuns (*Phaseolus vulgaris* L) e outras leguminosas contêm principalmente taninos condensados (até 2 a 3% em peso), que são termoestáveis e, conseqüentemente, motivo de preocupação (SATHE, 2002).

Foi verificado que o conteúdo de taninos em feijões depende, em grande parte, da presença ou não do tegumento e de sua coloração, como também esse conteúdo é variável, dependente do grupo comercial do feijão pois o branco possui quantidades muito baixas, enquanto o vermelho e o preto têm níveis significativamente maiores (CHIARADIA e GOMES, 1997). Portanto, a maior concentração de polifenóis é encontrada em cascas de sementes coloridas e, por isso, as cascas de sementes apresentam menor digestibilidade que o feijão integral e seu endosperma, provavelmente por conterem teores relativamente elevados de componentes fenólicos e fitatos, sendo que a remoção do revestimento da semente aumenta a digestibilidade da proteína (PEREIRA e

COSTA, 2002). Durante os processos de maceração existe migração de pigmentos, sendo possível que alguns taninos se difundam para o endosperma do cotilédono ligando-se às proteínas. Soluções de bicarbonato de sódio ou mistura de sais são mais eficientes que água na retirada de taninos (REYES-MORENO e PAREDES-LÓPEZ, 1993).

A ligação com as proteínas provoca mudanças tanto na conformação das proteínas quanto na conformação dos taninos resultando na insolubilidade do complexo formado (ASQUITH e BUTLER, 1986). A interação das proteínas e taninos poderá acontecer tanto com as proteínas dos alimentos durante o cozimento (como acontece com as proteínas das leguminosas), como com as enzimas do trato gastrointestinal (CARBONARO *et al.*, 1996). Os taninos de feijões são fortes inibidores da atividade de tripsina, quimotripsina e alfa amilase (CARMONA *et al.*, 1996).

A concentração de taninos nos cultivos de diferentes plantas varia notavelmente entre espécies e dentro de genótipo das mesmas espécies (DESHPANDE e CHERYAN, 1987). O efeito de depressão de taninos na absorção de ferro parece depender das espécies de planta das quais os taninos foram obtidos (HOUSE, 1999). Numa pesquisa foi observado que havia um limiar de taninos extraídos de feijões comuns (*Phaseolus vulgaris* L.) na inibição da absorção de ferro em ratos ligeiramente anêmicos (HOUSE e VAN CAMPEN, 1994), o que significa que a concentração de taninos na dieta teve que exceder 0,12% para que a absorção de ferro fosse prejudicada. Adicionalmente, como resultados dos vários efeitos dos taninos ao prejudicar a mucosa intestinal, alterar as secreções intestinais, formar complexos insolúveis com proteínas da dieta, inibir enzimas digestivas, aumentar a excreção de proteínas endógenas, as proteínas da dieta que não são digeridas e as proteínas endógenas podem irreversivelmente se ligar ao ferro e deprimir sua absorção (HOUSE, 1999). Foi também observado que a assimilação de carboidratos pode ser severamente prejudicada pelos taninos condensados, sendo isso explicado pela baixa biodisponibilidade de carboidratos nas dietas em que os feijões foram utilizados (CARMONA *et al.*, 1996). Não tem sido estabelecido ainda se os taninos de feijões estariam afetando a fermentação bacteriana, porém, o incremento de carboidratos susceptíveis a serem fermentados pela flora bacteriana pode ser um

fator que contribua para a flatulência associada com o consumo de feijões (CARMONA *et al.*, 1996).

Diferentes polifenóis (antocianinas) são responsáveis pelas cores do tegumento de feijões. Os compostos de cores que variam do vermelho ao azul, passando por uma gama intermediária de cores, são substâncias pertencentes ao grupo dos flavonóides, denominadas antocianinas. A concentração de flavonóides nas sementes varia de acordo com as condições de crescimento e colheita das mesmas (CHIARADIA, 1997).

Com o recente interesse nos benefícios à saúde atribuídos aos compostos fenólicos, é importante reconhecer e criticamente avaliar os efeitos potenciais antinutritivos dos compostos fenólicos do feijão (SATHE, 2002). Taninos e outros polifenóis das plantas (antocianinas e flavonóides) despertam interesse crescente como possíveis fatores protetores contra patologias mediadas por radicais livres em humanos como câncer e aterosclerose (CARBONARO *et al.*, 1996). A inibição da peroxidação lipídica foi estudada *in vitro* com antocianinas isoladas de *Phaseolus vulgaris*, L. apresentando uma forte atividade antioxidante em sistemas de lipossomas, reduzindo a formação de malonaldeído induzido por irradiação UV (TSUDA *et al.*, 1996).

FITATOS

O ácido fítico, mio-inositol 1,2,3,4,5,6-hexafosfato, IP6 (Figura 3) está presente em todo o reino vegetal e seus teores em feijões comuns variam de 0,6 a 2,7% (RICKARD e THOMPSON, 1997; HARLAND e NARULA, 1999). Esta variação pode ser devida, em parte, à diferença de variedades e em razão dos métodos de determinação (REYES-MORENO e PAREDES-LOPEZ, 1993). Nas sementes de leguminosas, os fitatos estão concentrados nos corpos protéicos (cristais globóides) do endosperma (STANLEY e AGUILERA, 1985; WELCH *et al.*, 2000).

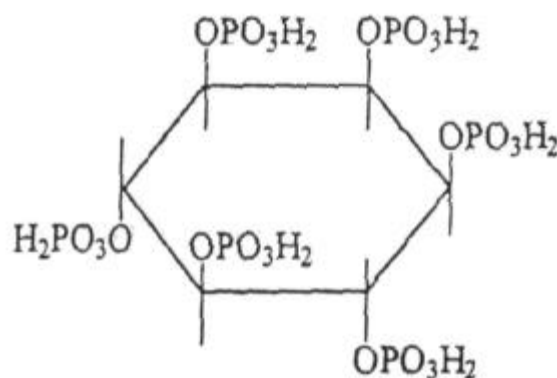


Figura 3- Estrutura básica do ácido fítico
Fonte: Richard e Thompson, 1997

Interação com nutrientes.- O ácido fítico tem sido denominado antinutriente devido a sua habilidade para ligar minerais, proteínas e amidos, direta ou indiretamente, e desta maneira alterar a solubilidade destes compostos como também sua funcionalidade, digestibilidade e absorção. Na faixa normal de pH encontrada nos alimentos os seis grupos fosfato estão carregados negativamente, fazendo que o ácido fítico seja altamente reativo com outras partículas carregadas positivamente como minerais e proteínas. Esta interação é pH dependente. Os íons minerais podem se ligar com um ou mais grupos fosfatos e com uma ou mais moléculas de ácido fítico, formando complexos de variada solubilidade e estabilidade (Figura 4A). As proteínas carregadas positivamente a um pH abaixo de seu ponto isoelétrico, podem ligar diretamente o ácido fítico através de atrações eletrostáticas (Figura 4B). A um pH intermédio acima do ponto isoelétrico, a ligação entre ácido fítico e proteínas é mediada por cátions multivalentes como cálcio desde que ambas partículas estejam carregadas negativamente (Figura 4C) (RICKARD e THOMPSON, 1997). Tais complexos proteína-mineral-fitado podem ter uma resistência diferente para a proteólise que a proteína só ou os complexos proteína-fitado ou proteína-mineral (SATHE, 2002). A elevado pH o complexo ácido fítico-cátion-proteína pode se dissociar com precipitação do ácido fítico como cátion-ácido fítico (RICKARD e THOMPSON, 1997).

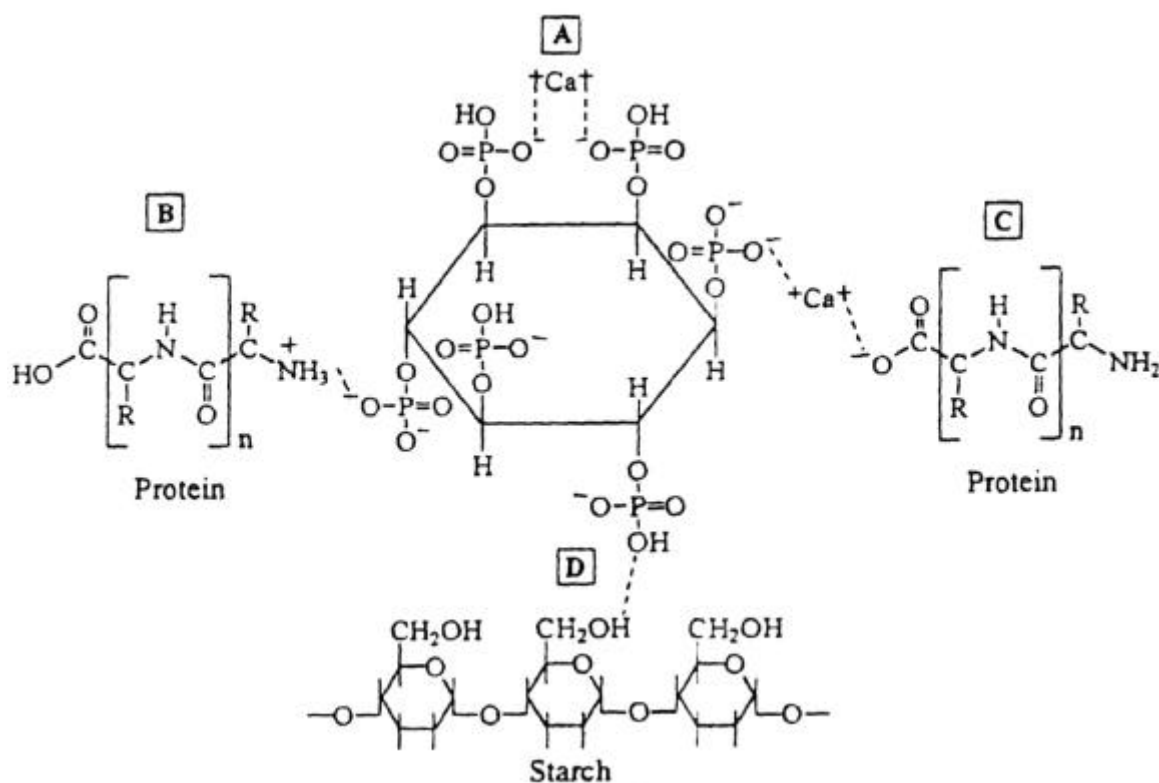


Figura 4- Possíveis interações de ácido fítico com minerais, proteínas e amido
Fonte: Rickard e Thompson, 1997

A ligação do ácido fítico às moléculas não é necessariamente eletrostática devido a que a ligação com amido pode também acontecer através da formação de pontes de hidrogênio (Figura 4D) ou indiretamente através das proteínas com as quais o amido é associado. Estas ligações com conseqüentes mudanças na digestibilidade e disponibilidade de nutrientes podem ser a causa responsável dos efeitos adversos e benéficos do ácido fítico (RICKARD e THOMPSON, 1997).

Muitos estudos têm demonstrado que o ácido fítico reduz a absorção intestinal de minerais essenciais como ferro, zinco e cálcio, tanto em animais quanto em humanos, reduzindo sua biodisponibilidade (HARLAND e NARULA, 1999). O grau em que a absorção mineral é prejudicada vai depender tanto da relativa concentração de ácido fítico e do mineral como também da força da ligação (RICKARD e THOMPSON, 1997), por isso, existe uma grande preocupação de que o consumo de alimentos ricos em fitatos possa conduzir a desnutrição devido à reduzida absorção mineral (HARLAND e NARULA, 1999).

A baixa qualidade de proteínas de feijões poderia também ser provocada pela presença de fitatos que se ligam às proteínas diminuindo a suscetibilidade à proteólise (SATHE, 2002). Considerando que enzimas digestivas também são proteínas, os fitatos podem afetar potencialmente em forma adversa a atividade enzimática por ligação direta com as enzimas, o que provoca inativação enzimática ou pela precipitação das enzimas. Em qualquer situação, a redução ou perda de enzimas digestivas (proteolíticas e amilolíticas) pode provocar diminuição da quantidade de enzimas disponíveis para digestão de proteínas e amido (SATHE, 2002).

A diminuição no conteúdo de ácido fítico por embebição, germinação e fermentação é devido à ativação da fitase intrínseca. Esta enzima catalisa a hidrólise, *in vivo*, de fitato produzindo inositol e ácido fosfórico, está presente em muitas leguminosas e é particularmente ativa em sementes germinantes (STANLEY e AGUILERA, 1985). Mas esta enzima é termolábil, sendo observado que processamento térmico (por exemplo, extrusão) aumenta a insolubilidade do complexo mineral-ácido fítico devido à inativação de fitase endógena (RICKARD e THOMPSON, 1997).

Porém, a literatura menciona que o ácido fítico em baixas concentrações apresenta efeitos positivos como a redução dos níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídios (YONEKURA e SUZUKI, 2003), o que parece estar relacionado com a capacidade de se ligar ao zinco, diminuindo sua concentração sérica e a razão Zn/Cu, já que altos valores nesta relação estão associados com a elevação de colesterol sanguíneo e predispõem ao homem a enfermidades cardiovasculares. Além disso, o efeito hipoglicemiante do ácido fítico pode conduzir a efeitos hipolipidêmicos dado que a redução plasmática de glicose e de insulina conduz a uma diminuição da síntese hepática de lipídios (THOMPSON, 1993; RICKARD e THOMPSON, 1997). Por outro lado, o ácido fítico diminui a velocidade da digestão do amido pelos mesmos mecanismos pelos que exerce sua ação antinutritiva, isto é, pode unir-se à α -amilase inativando-a ou ao cálcio que é necessário para estabilizar a atividade da enzima ou ao amido, modificando assim seu grau de gelatinização ou acessibilidade pelas enzimas digestivas, além disso influencia na resposta sanguínea à glicose já que produz retardo do esvaziamento gástrico (THOMPSON, 1993). O efeito positivo na redução do risco de câncer pode se dar por diversos mecanismos. Por complexação com o ferro,

um catalisador da peroxidação lipídica e dano do DNA, reduz favoravelmente a formação de radicais livres e ao unir-se ao zinco, que é necessário para a síntese de DNA, reduz indiretamente a proliferação celular (THOMPSON, 1993; RICKARD e THOMPSON, 1997). Ao retardar a hidrólise do amido, este pode chegar ao cólon e ser fermentado pela flora bacteriana produzindo-se ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato) com atividade protetora contra o câncer que também ocasionam uma diminuição do pH, que é considerada protetora frente aos agentes cancerígenos como ácidos biliares e amônio, que podem ser insolubilizados ou neutralizados respectivamente (RICKARD e THOMPSON, 1997).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A variabilidade genética do feijão e o processamento ao qual é submetido podem favorecer a sua aplicação para a nutrição humana, maximizando os efeitos benéficos e minimizando os efeitos adversos dos seus fatores antinutricionais. A presença de fatores antinutricionais deve ser cuidadosamente avaliada, uma vez que podem ter ação benéfica na redução de risco de doenças, atuando como alimento funcional, bem como podem estar associados à carências nutricionais, pelo seu efeito antinutricional, onde sua eliminação se torna necessária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASQUITH, T.N.; BUTLER, L.G. Interactions of condensed tannins with selected proteins. **Phytochem.**, v. 25, n. 7, p. 1591-1593, 1986.

BANERJI, A.; FERNANDES, A.; BANE, S. Treatment with field bean protease inhibitor can effectively repress ethylnitrosourea (ENU)-induced neoplasms of the nervous system in Sprague–Dawley rats. **Cancer Letters**. v. 130, p. 161-167, 1998.

BIRK, Y.; PERI, I. Saponins. In: LIENER, I.E. (Ed.). **Toxic Constituents of Plant foodstuffs**. Minnesota: Academic Press, 1980, p. 161-182.

CARBONARO, M.; VIRGILI, F.; CARNOVALE, E. Evidence for protein–tannin interaction in legumes: implications in the antioxidant properties of faba-bean tannins. **Lebens-Wiss. U.- Technol.**, v. 29, p. 743-750, 1996.

CARMONA, A.; BORGUDD, L.; BORGES, G.; LEVY-BENSHIMOL, A. Effect of black bean tannins on in vitro carbohydrate digestion and absorption. **J. Nutr. Biochem.**, v. 7, p. 445-450, 1996.

CHIARADIA, A.C.; GOMES, J.C. **Feijão: Química, Nutrição e Tecnologia**. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1997. 180 p.

COSTA DE OLIVEIRA, A.; QUEIROZ, K.S.; HELBIG, E.; REIS, S.M.P.M.; CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 51, No. 3, p. 276-283, 2001.

DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M. Determination of phenolic compound of dry beans using vanillin, redox and precipitation assays. **J. Food Sci.**, v. 52, p. 332-334, 1987.

ELIAS, L.G.; FERNÁNDEZ, D.G.; BRESSANI, R. Possible effects of seed coat polyphenolics on the nutritional quality of bean protein. **J. Food Sci.** v. 44, n. 2, p. 524-527, 1979.

FERNANDEZ, R.; ELIAS, L.G.; BRAHAM, J.E. Trypsin inhibitors and hemagglutinins in beans (*Phaseolus vulgaris*) and their relationship with the content of tannins and associated polyphenols. **J. Agric. Food Chem.**, v. 30, n. 4, p. 734-739, 1982.

FROKIAER, H.; JORGENSEN, T.M.R.; ROSENDAL, A.; TONSGAARD, M.C.; BARKHOLT, V. Antinutritional and Allergenic Proteins. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 44-60.

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

GESTETNER, B.; ASSA, Y.; HENIS, Y.; TENCER, Y.; ROTMAN, M.; BIRK, Y.; BONDI, A. Interaction of lucerne saponins with sterols. **Biochem. Biophys. Acta.**, v.270, p. 181-187, 1972.

HARLAND, B.F.; NARULA, G. Foods phytate and its hydrolysis products. **Nutr. Res.**, v. 19, n. 6, p. 947-961, 1999.

HOUSE, W.A. Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. **Field Crops Res.**, v. 60, p. 115-141, 1999.

HOUSE, W.A.; VAN CAMPEN, D.R. Iron absorption by rats fed tannins extracted from bean hulls. **Nutr. Res.**, v. 14, p. 1043-1053, 1994.

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

IRISH, G.G.; MAENZ, D.D.; CLASSEN, H.L. A new assay for functional lectins: the brush border lectin agglutination assay (BBLAA). **Animal Feed Sci Techn.**, v. 76, p. 321-333, 1999.

LIENER, I.E. Plant Lectins: Properties, Nutritional Significance, and Function. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 31-43.

LIENER, I.E.; KAKADE, M. Protease Inhibitors. In: LIENER, I.E. (Ed.). **Toxic Constituents of Plant foodstuffs**. Minnesota: Academic Press, 1980, p. 7-71

LINDNER, E. **Toxicología de los alimentos**. Segunda Edición. Zaragoza (España): Acribia, 1995. 262p.

MANGAN, J. L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutr. Res. Rev.**, v. 1, p. 209-231, 1988.

MILGATE, J.; ROBERTS, D.C.K. The nutritional & biological significance of saponins. **Nutr. Res.**, v. 15, n. 8. p. 1223-1249, 1995.

MONTGOMERY, R.D. Cyanogens. In: LIENER, I.E. (Ed.). **Toxic Constituents of Plant foodstuffs**. Minnesota: Academic Press, 1980, p. 143-160.

MOORE, J.G.; FUCHS, C.A.; HATA, Y.S.; HICKLIN, D.J.; COLUCCI, G.; CHRISPEELS, M.J.; FELDMAN, M. A new lectin in red kidney beans called PvFRIL stimulates proliferation of NIH 3T3 cells expressing the Flt3 receptor. **Bioch. Bioph., Acta** **1475**. p. 216-224, 2000.

NACZK, M.; AMAROWICZ, R.; SHAHIDI, F. -Galactosides of Sucrose in Foods: Composition, Flatulence-Causing Effects, and Removal. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 127-151.

OSMAN, M.A.; REID, P.M.; WEBER, C.W. Thermal inactivation of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*), soybean and lima bean protease inhibitors: effect of acidic and basic pH. **Food Chem.**, v. 78, p. 419-423, 2002.

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

PEREIRA, C.A.S.; COSTA, N.M.B. Proteínas do feijão preto sem casca: digestibilidade em animais convencionais e isentos de germes (germ-free). **Rev. Nutr.**, , v.15, p. 5-14, 2002.

RACKIS, J.J.; WOLF, W.J.; BAKER, E.C. Protease inhibitors in plant foods: content and inactivation. **Advan. Exp. Med. Biol.**, v. 199, p. 299-347, 1986.

RAO, A.V.; KORATKAR, R. Anticarcinogenic Effects of saponins and phytosterols. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 313-324.

REYES-MORENO, C.; PAREDEZ-LÓPEZ, O. Hard-to-cook phenomenon in common beans – a review. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 33, n.3, p.227-286, 1993.

RICKARD, S.E.; THOMPSON, L.U. Interactions and biological effects of phytic Acid. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 294-312.

ROBINSON, D. **Food biochemistry & nutritional value**. New York: Longman Scientific Technical, 1987. 554 p.

SALUNKHE, D. K.; JADHAV, S. J.; KADAM, S.S. Chemical biochemical and biological significance of polyphenols in cereals and legumes. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 17, n. 3, p. 277-305, 1982.

SÁNCHEZ-MATA M.C.; TERUEL-PEÑUELA, M.; CÁMARA-HURTADO M.M.; DÍEZ-MARQUÉS, C.; TORIJA-ISASA, M. Determination of mono-di-, and oligosaccharides in legumes by high-performance liquid chromatography using an amino-bonded silica column. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, n. 9, p. 3648-3652, 1998.

SATHE, S.K. Dry Bean protein functionality. **Crit. Rev. in Biotech.**, v. 22, n. 2, p. 175-223, 2002.

SERRANO, J.; GOÑI, I. Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.54, n.1, 2004.

SGARBIERI, V.C. Composition and nutritive value of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **World Rev Nutr Diet. Basel, Karger.**, v. 60, p. 132-198, 1989.

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

SGARBIERI, V.C; WHITAKER, J.R. Partial characterization of trypsin-chymotrypsin inhibitors from bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. Rosinha G2): chemical and physical properties. **J. Food Biochem.**, v. 5, p. 215-232, 1981.

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

SHAHIDI, F. Beneficial health effects and drawbacks of antinutrients. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 1-9.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P.K.J.P.D. Cyanogenic glycosides of flaxseeds. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 171-185.

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

THOMPSON, L.U. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. **Food Res. Int.**, v. 26, p. 131-149, 1993.

TSUDA, T.; SHIGA, K.; OHSHIMA, K.; KAWAKISHI, S.; OSUWU, T. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. **Bioch. Pharm.**, v. 52, p. 1033-1039, 1996.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48. p. 3576- 3580, 2000.

WHITAKER, J.R. Enzymes. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. 3.ed. New York: Marcel Dekker, Inc. 1996. p. 431-530.

WHITAKER, J.R. Protease and α -amylase inhibitors of higher plants. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 10-30.

YAMADA, T.; HATTOR, K.; ISHIMOTO, M. Purification and characterization of two α amilase inhibitors from seeds of tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray). **Phytochem.**, v. 58, p. 59-99, 2001.

YONEKURA,L.; SUZUKI, H. Some polysaccharides improve zinc bioavailability in rats fed a phytic acid-containing diet. **Nutr. Res.**, v.23, p. 343–355, 2003.

CAPÍTULO 2

EFEITO DO PROCESSAMENTO DOMÉSTICO SOBRE O TEOR DE NUTRIENTES E FATORES ANTINUTRICIONAIS DE DIFERENTES CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM

RESUMO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é uma fonte rica de nutrientes, sendo o alimento básico para a população brasileira tanto nas áreas rurais quanto urbanas. Porém, a presença de fatores antinutricionais limita seu valor nutricional. Avaliou-se o efeito do processamento doméstico no teor de nutrientes e fatores antinutricionais de cinco cultivares de feijão comum: Branco (Ouro Branco), Negro (Diamante Negro) e marrom-rajado (BRS Radiante, Pérola e Talismã). Os tratamentos utilizados foram feijão cru, cozido sem maceração, cozido com água de maceração e cozido sem água de maceração. A maceração (proporção feijão: água de 1:2) foi por 15 h a temperatura ambiente e o cozimento em panela de pressão doméstica, durante 40 minutos. Após o cozimento os feijões foram secos junto com o caldo de cocção e moídos da mesma forma que os feijões crus até a obtenção de farinhas. A composição centesimal e o teor de minerais dependeram

do cultivar, mas não do processo de cozimento. O teor de taninos e fitatos dependeram tanto do cultivar quanto do tipo de cozimento, observando-se a maior diminuição após o cozimento sem água de maceração em ambos os casos. Com relação à fibra alimentar total, que também dependeu do cultivar de feijão, foi verificado aumento no seu teor após cozimento com água de maceração, em relação aos cultivares crus. Houve aumento no teor de sua fração insolúvel e diminuição da fração solúvel. Com base nos escores químicos, os feijões apresentaram como primeiro aminoácido limitante a metionina. Os valores do escore químico corrigido pela digestibilidade (PDCAAS) variaram de 50,37 para o feijão Pérola a 61,48 para o feijão Talismã, o que representa uma baixa qualidade protéica para todos os cultivares estudados.

1. INTRODUÇÃO

Cerca de 20 espécies de leguminosas são consumidas como grãos secos em quantidades apreciáveis na nutrição humana (COSTA *et al.*, 2006). Entre estas o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é uma fonte rica de nutrientes principalmente para pessoas de escassos recursos no mundo inteiro em que geralmente predomina a desnutrição em graus variáveis (WELCH *et al.*, 2000). No Brasil tem sido considerado por muito tempo como o alimento básico para a população tanto nas áreas rurais quanto urbanas (COSTA *et al.*, 2006). Provê quantidades significativas de proteínas, calorias, ácidos graxos insaturados (ácido linoléico), fibra alimentar especialmente fibra solúvel e é uma fonte excelente de alguns minerais e vitaminas (COELHO, 1991; BERRIOS *et al.*, 1999; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000; KUTOS *et al.*, 2003). Apesar de tais vantagens os feijões apresentam algumas características indesejáveis que limitam sua aceitabilidade ou seu valor nutricional, tais como o fenômeno *hard-to-cook*, a presença de fatores antinutricionais e baixo valor nutricional das suas proteínas (JOOD *et al.*, 1986; DE-LEON *et al.*, 1992; VIDAL-VALVERDE, 1993; BARAMPA e SIMARD, 1994; COSTA DE OLIVEIRA *et al.*, 2001).

Para melhorar a qualidade nutricional do feijão o descascamento, maceração, cozimento, e germinação são métodos utilizados (KHOKHAR e CHAUHAN, 1986; DE-LEON *et al.*, 1992; BARAMPAMA e SIMARD, 1994;

BARAMPAMA e SIMARD, 1995). Os efeitos variam dependendo do cultivar e do tratamento. Em geral todos estes processos reduzem os fatores antinutricionais (BARAMPAMA e SIMARD, 1994) sendo observado que acontecem também outros fenômenos. Assim, o descascamento reduz o tempo de cozimento e diminui o conteúdo de cálcio e taninos (BARAMPAMA e SIMARD, 1995). A maceração do feijão antes do cozimento é uma prática comum para amolecer textura e acelerar o processo de cozimento (DE-LEON *et al.*, 1992). Por outro lado, a maioria dos macro e micro nutrientes particularmente vitaminas e minerais são perdidos durante os processos de maceração e cozimento (RINCON *et al.*, 1993; BARAMPAMA e SIMARD, 1995; REHMAN, 2001). A germinação incrementa os conteúdos de proteínas e vitaminas (BARAMPAMA e SIMARD, 1995). Perdas no conteúdo de proteínas também têm sido atribuídas aos diferentes processamentos de feijões (REHMAN, 2001). Uma combinação de maceração, cozimento e fermentação é sugerida como ferramenta para melhorar a qualidade nutricional do feijão comum (BARAMPAMA e SIMARD, 1995).

Entre os fatores antinutricionais, o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) contém principalmente taninos condensados que são compostos fenólicos (MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000; SATHE, 2002) e ácido fítico, principal forma de armazenamento de fósforo (MARTINEZ-DOMINGUEZ, 2002). A ação antinutricional de taninos e fitatos está baseada na capacidade de formar complexos insolúveis com minerais, proteínas e amidos biologicamente indisponíveis para seres humanos em condições fisiológicas normais (TORRE *et al.*, 1991; RICKARD e THOMPSON, 1997; MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000; MARTINEZ-DOMINGUEZ, 2002). Entretanto, o ácido fítico e os compostos fenólicos quando em baixas concentrações apresentam também efeitos positivos sobre a saúde como ação protetora frente ao câncer, e prevenção de enfermidades cardiovasculares (SHAHIDI, 1997; MARTINEZ-DOMINGUEZ, 2002).

As leguminosas estão entre as mais importantes fontes de amido, proteína e fibra (PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997). A fibra alimentar consiste principalmente das frações solúvel e insolúvel que apresentam diferentes efeitos fisiológicos na saúde humana (REHMAN e SHAH, 2004). Recentes estudos indicam que a fibra alimentar pode proteger contra doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, câncer de cólon e outras doenças diverticulares (PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997).

Porém, a capacidade da fibra alimentar para ligar íons de minerais polivalentes pode ter um efeito negativo na biodisponibilidade de alguns nutrientes, fundamentalmente minerais (TORRE *et al.*, 1991) e diminuição na utilização de proteínas (MARQUES MENDEZ *et al.*, 1993). A cocção promove o rompimento dos componentes da fibra (celulose, hemicelulose, lignina, pectina, gomas), além de propiciar a interação e ligação destas substâncias com proteínas e lipídios, assim como a geração de alterações qualitativas e/ou quantitativas substanciais que variam a composição total da fibra dietética ao comparar o alimento cru com o cozido (CARNOVALE e LINTAS, 1995).

Objetivou-se neste estudo avaliar o efeito do processamento doméstico em cinco cultivares de feijão comum, mais especificamente, analisou-se o teor de nutrientes e fatores antinutricionais em feijão cru, cozido não macerado e cozido macerado, com e sem uso de água de maceração não absorvida. Foi quantificada ainda fibra alimentar total, fibra solúvel e fibra insolúvel em feijões crus e cozidos com a água de maceração. Em feijões cozidos com água de maceração foi avaliada também a qualidade protéica através da determinação do escore químico corrigido pela digestibilidade verdadeira (PDCAAS).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde, e Laboratório de Espectrofotometria de Absorção Atômica do Departamento de Solos, da Universidade Federal de Viçosa-MG. A determinação de fitatos foi feita no Centro de Biologia Molecular no Federal Research Centre for Nutrition and Food (Alemanha, Dr. Ralf Greiner). A composição aminoacídica foi realizada no Centro Interdepartamental de Química de Proteínas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo, Dr. José César Rosa).

2.1. Cultivares de feijão

As amostras de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) utilizadas foram dos cultivares Ouro Branco (OB), Diamante Negro (DN), BRS Radiante (BRS), Pérola

(PER), fornecidas pela EMBRAPA – Arroz e Feijão, localizada em Santo Antônio de Goiás, GO e Talismã (TL), fornecida pela Universidade Federal de Viçosa.

2.2. Obtenção das farinhas de feijão

Os grãos de cada cultivar foram selecionados e submetidos a quatro processamentos diferentes para a obtenção das farinhas respectivas:

- Feijão cru, moído em microprocessador e peneirado (20 mesh) o número suficiente de vezes até a obtenção de um pó homogêneo.
- Os feijões foram submetidos à maceração (proporção feijão: água de 1:2) por 15 h a temperatura ambiente e cozidos em panela de pressão doméstica, durante 40 minutos depois da saída constante de vapor pela válvula de pressão. Uma parte destes feijões foi cozida com a água de maceração não absorvida pelos grãos e a outra sem a água de maceração, sendo acrescentado 400 mL de água da torneira para o cozimento. Em um quarto processamento o feijão foi cozido sem maceração, nas mesmas condições de cozimento já mencionadas. Em todos os casos os feijões cozidos foram secos, juntamente com o caldo de cocção, em estufa de ar circulante por 17 h a 60°C, sendo posteriormente moídos em microprocessador e peneirados (20 mesh) o número suficiente de vezes até a obtenção de um pó homogêneo.

2.3. Determinação da composição centesimal

2.3.1. Umidade

A umidade foi determinada em estufa a 105°C, conforme o procedimento descrito nas Normas Analíticas do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985).

2.3.2. Cinzas

As cinzas foram determinadas por meio da calcinação das amostras em mufla a 550 °C, segundo o método descrito pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984).

2.3.3. Proteínas

A determinação de proteínas foi realizada segundo o método de Kjeldahl, para a quantificação de nitrogênio total, descrito pela AOAC (ASSOCIATION OF

OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984) e o conteúdo de proteína foi calculado por multiplicação pelo fator 6,25.

2.3.4. Lipídios

A determinação de lipídios foi realizada por extração em Soxhlet, segundo o método da AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984), utilizando éter de petróleo como extrator.

2.3.5. Carboidratos

A determinação de carboidratos foi realizada por diferença, sendo subtraído de 100 a soma dos teores de lipídios, proteínas, umidade e cinzas (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984).

2.4. Minerais.

2.4.1. Oxidação da matéria orgânica e preparo das soluções minerais

Em tubo para digestão foi pesado com precisão de 0,1 mg ao redor de 1 g de amostra (farinha de feijão), em triplicata, procedendo-se à oxidação da matéria orgânica, por via úmida, por adição de 10 mL de mistura nitroperclórica, na proporção de três partes de ácido nítrico para uma parte de ácido perclórico (ambos os ácidos concentrados) (GOMES, 1996). Nesta condição foram deixadas as amostras por 8 h.

Após oxidação a temperatura ambiente, as amostras foram aquecidas em bloco digestor, com exaustão até fervura branda ($\pm 120^{\circ}\text{C}$). Foi mantida esta condição, adicionando-se mais mistura nitroperclórica quando necessário até a formação de uma solução límpida (± 8 h) (GOMES, 1996). Depois da digestão, as soluções foram levadas a volume de 25 mL, utilizando-se água deionizada, estando prontas para a determinação mineral.

Toda a vidraria utilizada foi lavada em água corrente, deixada de molho de um dia para outro, em solução ácida preparada com HCl 20% v/v, depois enxaguada quatro vezes em água destilada e quatro vezes em água deionizada (FERREIRA e GOMES, 1995).

2.4.2. Determinação dos teores de minerais

A concentração de ferro, zinco, cálcio, cobre e manganês, nas farinhas de feijão foi quantificada analiticamente nas soluções minerais preparadas, através de espectrofotometria de absorção atômica, em espectrofotômetro GBC 908 AA (GBC/Germany, Analítica, São Paulo, Brasil). Utilizaram-se também curvas de calibração elaboradas com soluções-padrão de concentrações conhecidas, próprias para este tipo de análise. Diluições apropriadas foram realizadas utilizando água deionizada, sendo solução de cloreto de estrôncio hexahidratado ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) adicionada às soluções minerais das amostras para a determinação de cálcio, a fim de evitar a subestimação dos resultados que ocorre quando esses íons encontram-se complexados com silicatos e fosfatos (GOMES, 1996).

2.5. Determinação de taninos

A determinação do teor de taninos foi realizada de acordo com o método de PRICE *et al.* (1978) com modificações. Uma amostra de 800 mg de farinha de feijão previamente seca em estufa a 105°C, por 16 h, foi extraída com 5 mL de metanol por 30 minutos a 25°C, sob agitação constante. Logo após, o material foi centrifugado a 17200 *g* por 20 minutos. Foram coletados 800 μL de sobrenadante e adicionado 2 μL do reagente Vanilina-HCl (0,5 g/100 mL HCl 4% em metanol). Após um período de 20 minutos a absorbância foi lida em espectrofotômetro a 500 nm. Um branco foi preparado para cada amostra, sem a presença do reagente vanilina. A partir de uma solução stock de catequina (4mg/mL) em metanol, preparou-se uma curva padrão (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8 mg catequina/mL). O teor de taninos foi calculado através de análise de regressão e expresso em mg de catequina por 100 g de amostra. Para cada ponto da curva-padrão foi preparado o correspondente branco.

2.6. Determinação de fitatos

Antes da extração dos diferentes *myo*-inositol fosfatos as farinhas de feijão foram liofilizadas em *freeze-dried*. A quantificação de fitatos foi realizada segundo a metodologia descrita pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1990) e o método cromatográfico (Par iônico, Ultrasep ES 100 RP18, 2x250 mm) proposto por SANDGERG e AHDERINNE (1986).

Foi pesado cerca de 1 g de farinha desidratada e a extração foi feita com 20 mL de HCl 2,4% por 3 h a temperatura ambiente. Após centrifugação a 30.000 g por 30 minutos, 1 mL do sobrenadante foi diluído com 25 mL de água e colocado na coluna (0,7 x 15 cm) contendo AG1-X8, resina 100-200 mesh. A coluna foi lavada com 25 mL de água e 25 mL de HCl 25 mM. Os *myo-inositol* fosfatos foram eluídos com 20 mL de HCl 2M. Os eluentes obtidos foram concentrados em evaporador rotatório até secagem completa e o resíduo foi dissolvido em 1 mL de água. Uma amostra de 20 µL foi injetada no cromatógrafo (Ultrasep ES 100 RP18, 2x250 mm), com uma velocidade de fluxo de 0,2 mL/min, 45°C, e uma solução de ácido fórmico:metanol:água:hidróxido de tetrabutyl amônia (44:56:5:1,5 v/v), pH 4,25, como fase móvel. Uma mistura de ésteres de *myo-inositol* fosfatos foi utilizada como padrão.

2.7. Determinação de fibra alimentar

O método utilizado foi baseado na determinação do peso do resíduo resultante da eliminação do amido e da proteína, através da hidrólise enzimática.

A determinação dos teores de fibra alimentar total (FAT) e fibra alimentar insolúvel (FAI) das amostras de feijão foi feita de acordo com o método enzimático gravimétrico (PROSKY *et al.*, 1988; AOAC, 1990), utilizando-se para a hidrólise enzimática α -amilase termoresistente, protease e amiloglicosidase (Kit Megazyme Diagnostic kits for the food and agricultural Industries, Megazyme International Ireland Limited). Para a filtração utilizaram-se cadinhos de vidro com placa de vidro sinterizado com porosidade No. 2 (ASTM 40-60) e celite como auxiliar de filtração. A fibra solúvel (FAS) foi obtida por diferença entre FAT e FAI.

8. Determinação e Quantificação dos Aminoácidos

A análise de aminoácidos foi realizada utilizando-se o método feniltiocarbamil aminoácidos (PTC) (análise de aminoácidos: derivação pré-coluna com fenilisotiocianato) (BIDLINGMEYER *et al.*, 1984; ROSA *et al.*, 1987).

A técnica de análise de aminoácidos através de derivação pré-coluna fornece dois resultados diferentes: a) a composição relativa dos aminoácidos presentes na amostra e b) a quantificação da proteína na amostra.

A composição dos aminoácidos foi determinada em amostras previamente hidrolisadas com HCl 6N bidestilado, seguida de derivação pré-coluna dos

aminoácidos livres com fenilisotiocianato (PITC), e a separação dos derivativos feniltiocarbamil-aminoácidos (PTC-aa) em coluna de fase reversa C18 (Pico-Tag - 3,9 x 150 mm) com monitoração em comprimento de onda em 254 nm. A quantificação da amostra foi baseada na área de cada pico de aminoácido, tomando-se como referência a área do pico do padrão de aminoácidos com concentração conhecida, sendo que o padrão foi derivado nas mesmas condições e ao mesmo tempo que as amostras. A amostra passou por quatro etapas: a) hidrólise; b) derivação; c) separação e d) quantificação dos PTC aminoácidos.

2.9. Determinação do Escore químico corrigido pela digestibilidade (PDCAAS)

Após a determinação e quantificação do perfil de aminoácidos determinou-se o escore de aminoácidos, como se segue (a proteína de referência utilizada foi o requerimento de aminoácidos para crianças de 2 a 5 anos conforme *Food and Agriculture Organizaton*, 1985):

$$\begin{array}{lcl} \text{Escore de} & = & \frac{\text{mg de aminoácido essencial por g da proteína-teste}}{\text{mg de aminoácido essencial por g da proteína de referência}} \\ \text{Aminoácido} & & \end{array}$$

O PDCAAS foi calculado, conforme FAO (1991):

$$\text{PDCAAS} = \text{Primeiro limitante} \times \text{digestibilidade verdadeira}$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cultivar OB (em todos os processamentos) e aquelas previamente maceradas após o cozimento apresentaram um maior grau de amolecimento. O grau de amolecimento foi avaliado subjetivamente por pressão dos feijões entre os polegares. O DN (em todos os processamentos) e os cultivares não macerados tiveram uma textura mais dura. No entanto, todos os cultivares após 40 minutos de cozimento estavam já cozidos, com as texturas adequadas e prontos para consumo. BRESSANI *et al.* (1981), avaliando a relação entre a cor e algumas propriedades físicas de feijões, determinaram que o tempo de cocção para os feijões brancos foi menor que para os feijões pretos e vermelhos. Feijões

com maceração prévia ao cozimento são mais brandos que feijões não macerados cozidos durante o mesmo tempo (GOYCOOLEA *et al.*, 1990), sendo que os feijões quando absorvem menos água precisam de um maior tempo de cocção. Embora, o grau de abrandamento tenha sido um pouco diferente nos cultivares não macerados, não foi necessário aumentar o tempo de cozimento por se considerar já adequado para a ingestão. Nos cultivares macerados o tempo de embebição dos feijões em água foi de 15 h, sendo que um tempo de 12 a 24 h é o recomendado; evitando longos períodos de hidratação que poderiam causar problemas bacteriológicos. O principal componente que absorve água em sementes é a proteína (CHIARADIA e GOMES, 1997).

O objetivo do cozimento é o desenvolvimento de aroma e de grãos com consistência aceitável para o consumo (CHIARADIA e GOMES, 1997), provocando também várias mudanças nas características físicas e na composição química das leguminosas (REHMAN e SHAH, 2004). A composição centesimal dos cultivares estudados na forma crua e submetidos a diferentes tipos de cozimento encontra-se na Tabela 1.

O teor de cinzas no feijão cru variou de 3,36 a 4,22 g/100g. No feijão cozido com água de maceração a concentração variou de 3,61 a 4,23 g/100g. No feijão cozido sem água de maceração a faixa foi de 3,44 a 4,10 g/100g. Em todos estes casos o OB foi o de menor concentração e o DN o de maior concentração. Quando o feijão foi cozido sem maceração o mínimo valor (3,66 g/100g) foi para o TL e o máximo valor (4,30 g/100g) para o DN. Porém, dentro de cada cultivar houve diferente comportamento à ação dos diversos processamentos administrados. Assim, em relação aos cultivares crus, o DN aumentou na concentração de cinzas quando foi cozido com água de maceração (0,24%) e cozido sem maceração (2%), diminuindo quando foi cozido sem água de maceração (3%). O BRS aumentou em 1 e 4%, respectivamente, quando foi cozido com água de maceração e cozido sem água de maceração e diminuiu 0,3% quando foi cozido sem maceração. O PER aumentou quando foi cozido com água de maceração (1%) e cozido sem maceração (0,5%), diminuindo ao ser cozido sem água de maceração (1,5%). O OB aumentou após o cozimento em todos os casos, ou seja, quando foi cozido com água de maceração (7,44%), cozido sem água de maceração (2%) e cozido sem maceração (10%). Outras pesquisas reportaram também um aumento no teor de cinzas de 17% após o

cozimento sem maceração (COSTA DE OLIVEIRA *et al.*, 2001) e de 5% após o cozimento com água de maceração em feijão comum cultivar IAC-Carioca (COSTA *et al.*, 2006).

Tabela 1- Composição centesimal em base seca, para os cultivares de feijão

Cultivar/ Processamento	Umidade (g/100g)	Cinzas (g/100g)	Proteína (g/100g)	Lipídios (g/100g)	Carboidratos (g/100g)
1. OB					
CRU	10,74	3,36	23,25	1,70	60,95
CCAM	20,77	3,61	26,29	1,92	47,41
CSAM	12,79	3,44	23,05	1,85	58,87
CSM	12,36	3,71	23,50	1,85	58,58
2. DN					
CRU	10,69	4,22	24,33	1,91	58,85
CCAM	14,26	4,23	24,39	2,44	54,68
CSAM	10,58	4,10	24,02	2,26	59,04
CSM	20,52	4,30	26,09	2,32	53,23
3. BRS					
CRU	15,38	3,71	23,22	1,32	56,37
CCAM	22,89	3,76	25,61	1,88	45,86
CSAM	21,77	3,85	24,67	1,66	48,05
CSM	20,00	3,70	23,75	1,81	50,74
4. PER					
CRU	11,19	3,88	22,57	1,27	61,09
CCAM	13,59	3,92	23,25	2,05	57,19
CSAM	15,26	3,82	23,84	1,96	55,12
CSM	12,47	3,90	22,24	1,99	59,4
5. TL					
CRU	13,22	3,80	24,42	1,94	56,62
CCAM	14,14	3,79	24,92	1,88	55,27
CSAM	12,84	3,66	22,59	2,13	58,78
CSM	10,56	3,66	23,07	1,95	60,76

Média de três determinações

CRU: Feijão cru; CCAM: Feijão cozido com água de maceração; CSAM: Feijão cozido sem água de maceração; CSM: Feijão cozido sem maceração. OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Já o TL teve um comportamento contrário diminuindo o teor de cinzas após todos os cozimentos, esta diminuição foi de 0,3% (cozimento com água de maceração) e 4% (cozimento sem água de maceração e cozimento sem

maceração). Esta diminuição após o cozimento também foi observada por BARAMPAMA e SIMARD (1995), com feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, cultivar Dore de Kirundo) após cozimento sem água de maceração (20%) e sem maceração (12%). Estes autores consideram que a diminuição poderia ser explicada pela perda de minerais por difusão na água e o incremento no conteúdo de cinzas devido possivelmente à acumulação de alguns minerais no substrato como acontece durante a fermentação. O cozimento provavelmente favorece a liberação mineral de alguns complexos presentes nos feijões, como o complexo ácido fítico-mineral que substituiu as perdas minerais por difusão na água (BARAMPAMA e SIMARD, 1995).

Como consta na Tabela 1, o teor de proteína para o feijão cru variou de 22,57 (PER) a 24,42 g/100g (TL). No feijão cozido com água de maceração os valores estiveram na faixa de 23,25 (PER) a 26,29 g/100g (OB). Quando não foi utilizada a água de maceração para o cozimento o conteúdo protéico esteve entre 22,59 (TL) e 24,67 g/100g (BRS).

Quando não houve maceração e o feijão foi cozido diretamente a proteína esteve na faixa de 22,24 (PER) a 26,09 g/100g (DN). Dentro de cada cultivar quando comparado com o teor de proteína dos cultivares crus, o OB cozido com água de maceração e cozido sem maceração aumentou em 13 e 1% respectivamente, diminuindo 1% no cozimento sem água de maceração. O DN aumentou no cozimento com água de maceração (0,2%) e no cozimento sem maceração (7%) diminuindo também quando foi cozido sem água de maceração em 1%. O BRS aumentou o conteúdo de proteína após os três tipos de cozimento, sendo este aumento de 10% (cozimento com água de maceração), 6% (cozimento sem água de maceração) e 2% (cozimento sem maceração). O PER aumentou em 3 e 6% quando foi cozido com água de maceração e cozido sem água de maceração respectivamente e diminuiu o teor de proteína em 1% quando foi cozido sem maceração. Finalmente o feijão TL aumentou só quando foi cozido com água de maceração (2%) diminuindo nos outros dois tipos de cozimento, sem água de maceração (7%) e sem maceração (6%). No presente estudo os processamentos administrados afetaram de diferente forma o conteúdo protéico dependendo do cultivar, o que foi também observado por outros autores. Assim, feijão do cultivar IAC-Carioca apresentou um aumento de 8% quando foi cozido sem maceração (COSTA DE OLIVEIRA *et al.*, 2001). MARQUES MENDEZ

et al. (1993) avaliando 5 cultivares de feijão reportaram um aumento no conteúdo de proteína de 3-25% também em feijões cozidos sem maceração. LOMBARDI-BOCCIA *et al.* (1998) observaram uma diminuição de 1,30% em feijão branco cozido com água de maceração. BRESSANI *et al.* (1981) reportaram um aumento de 5 a 10% no teor de proteína em três cultivares de feijões cozidos sem água de maceração. Já em pesquisa desenvolvida por BARAMPAMA e SIMARD (1995) os processamentos não afetaram o conteúdo de proteína.

O conteúdo de proteína dos feijões é influenciado por vários fatores como fertilização do solo com nitrogênio, genótipos e fatores ambientais, tais como localização geográfica e estação do ano (SATHE *et al.*, 1984; SGARBIERI, 1989).

O conteúdo de lipídios é geralmente baixo em feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) em comparação com outros macronutrientes (SGARBIERI, 1989). Nos cultivares estudados (Tabela 1) o teor de lipídios no feijão cru variou de 1,27 (PER) a 1,94 g/100g (TL). Após todos os tipos de cozimento administrados o DN apresentou a maior concentração e o BRS a menor concentração, tendo igual teor de lipídios que o TL quando foram cozidos com água de maceração. Em 4 cultivares o teor de lipídios aumentou após os três tipos de cozimento quando comparado com os cultivares crus, tendo o máximo valor quando foram cozidos com água de maceração (OB, DN, BRS e PER), observando-se um aumento de 13, 28, 42 e 61%, respectivamente. Um aumento do 9% no teor de lipídios também foi observado por COSTA DE OLIVEIRA *et al* (2001) com feijão do cultivar IAC-Carioca cozido sem maceração. No presente estudo o TL foi o único cultivar que diminuiu em 3% o teor de lipídios quando foi cozido com água de maceração em relação ao feijão cru, já no cozimento sem água de maceração e sem maceração aumentou em 10 e 1% respectivamente. Este efeito de aumento e diminuição no conteúdo de lipídios após o cozimento no mesmo cultivar foi observado também por BARAMPAMA e SIMARD (1995) com feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, cultivar Dore de Kirundo) que apresentou um teor de lipídios de 1,42 g/100g em feijão cru, cozido sem água de maceração diminuiu em 18% e quando foi cozido sem maceração aumentou em 6%. A diminuição no conteúdo de lipídios poderia ser devido à interferência durante a análise provocada pela formação de um complexo lipídio-proteína (BARAMPAMA e SIMARD, 1995). Os lipídios do feijão são predominantemente insaturados, sendo mais ricos nos

ácidos graxos essenciais linolênico (80%) e linoléico (SATHE *et al.*, 1984; SGARBIERI, 1989; GEIL e ANDERSON, 1994).

Proteínas e carboidratos são os dois principais componentes de todos os feijões secos (SATHE, 2002). O conteúdo de carboidratos para o feijão cru esteve entre 56,37 (BRS) e 61,09 g/100g (PER). Usando a água de maceração para o cozimento a máxima concentração foi apresentada pelo PER (57,19 g/100g), quando se descartou a água de maceração o DN apresentou o maior teor (59,04 g/100g) e quando o feijão foi cozido sem maceração o TL teve o maior teor (60,76 g/100g). Após os três tipos de cozimento o BRS foi o que apresentou o menor teor de carboidratos. Os resultados refletem uma diferente influência dos tipos de processamento no conteúdo de carboidratos que depende de cada cultivar.

Os conteúdos de proteína, cinzas, lipídios e carboidratos nos cultivares tanto na forma crua quanto cozida estão de acordo aos reportados por outros autores (SGARBIERI, 1989; SATHE, 2002).

O feijão comum apresenta um conteúdo elevado de muitos minerais essenciais e pouca quantidade de sódio (SGARBIERI, 1989). A concentração de ferro, zinco, cálcio, cobre e manganês nos cultivares estudados é mostrada na Tabela 2.

No que se refere ao ferro, o teor no feijão cru variou de 4,81 (BRS) a 9,16 mg/100g (DN). Após todos os tipos de cozimento o TL foi o de maior conteúdo de ferro e o BRS o de menor teor. O conteúdo elevado de ferro nos cultivares estudados confirma o fato de que o feijão seja considerado uma boa fonte de ferro, entretanto, sua importância qualitativa é menor, com uma absorção de apenas 10% (ANGELIS e CTENAS, 1993).

De todos os cultivares os feijões crus apresentaram um conteúdo de zinco que variou de 2,51 (TL) a 3,56 mg/100g (OB). O OB também apresentou a maior concentração de zinco nas três formas de cozimento. O BRS apresentou a menor concentração em comparação com os outros cultivares quando os feijões foram cozidos após maceração, e o TL teve a menor concentração quando os feijões foram cozidos sem maceração.

Tanto no feijão cru quanto no feijão submetido aos diferentes cozimentos o BRS foi o que apresentou o menor teor de cálcio e de manganês e o feijão TL foi o de maior concentração destes dois minerais. No feijão cru, o teor de cálcio

variou de 108,56 a 178,64 mg/100g e o teor de manganês de 1 a 2,63 mg/100g para o BRS e TL, respectivamente. PER e BRS apresentaram igual influência dos processamentos administrados no conteúdo de cálcio, e tiveram o menor teor quando foram cozidos com água de maceração e o máximo valor na forma crua. Nos outros três cultivares a influência dos processamentos administrados no conteúdo de cálcio dependeu de cada cultivar.

Tabela 2- Concentração de minerais (mg/100g) em base seca, para os cultivares de feijão

Cultivar/ Processamento	Umidade (g/100g)	Ferro (mg/100g)	Zinco (mg/100g)	Cálcio (mg/100g)	Cobre (mg/100g)	Manganês (mg/100g)
1. OB						
CRU	10,74	6,07	3,56	115,04	0,74	2,01
CCAM	20,77	5,13	4,09	124,92	0,66	2,02
CSAM	12,79	5,03	4,36	123,68	0,70	2,29
CSM	12,36	5,41	4,31	127,84	0,70	2,01
2. DN						
CRU	10,69	9,16	3,32	163,25	0,92	1,51
CCAM	14,26	6,03	3,61	175,00	0,94	1,44
CSAM	10,58	5,93	3,55	166,49	0,90	1,52
CSM	20,52	6,58	4,00	162,06	0,90	1,60
3. BRS						
CRU	15,38	4,81	2,72	108,56	0,66	1,00
CCAM	22,89	4,87	3,03	104,83	0,63	1,02
CSAM	21,77	4,42	2,78	106,28	0,46	0,88
CSM	20,00	4,52	3,35	105,51	0,62	1,00
4. PER						
CRU	11,19	7,35	3,19	171,11	0,61	1,61
CCAM	13,59	5,17	3,15	133,22	0,59	1,55
CSAM	15,26	5,68	3,44	161,94	0,55	1,64
CSM	12,47	5,28	3,49	137,84	0,55	1,60
5. TL						
CRU	13,22	7,82	2,51	178,64	1,36	2,63
CCAM	14,14	8,18	3,17	194,79	1,41	2,76
CSAM	12,84	8,36	3,56	184,98	1,72	2,80
CSM	10,56	7,77	2,99	192,68	1,69	2,90

Média de três determinações

CRU: Feijão cru; CCAM: Feijão cozido com água de maceração; CSAM: Feijão cozido sem água de maceração; CSM: Feijão cozido sem maceração. OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

De todos os cultivares o TL apresentou a maior concentração de cobre tanto cru quanto após os três tipos de cozimento. Enquanto o PER apresentou a menor concentração cru, cozido com água de maceração e cozido sem maceração e o BRS o mínimo teor quando foi cozido sem água de maceração. No feijão cru o teor de cobre esteve na faixa de 0,61 (PER) a 1,36 mg/100g (TL).

Os teores de ferro, zinco, cálcio, manganês e cobre quantificados neste estudo são similares aos obtidos em outras pesquisas (AGUSTIN *et al.*, 1981; SGARBIERI, 1989; BARAMPAMA e SIMARD, 1995) com poucas variações, assim, apresentaram um teor ligeiramente superior o DN no referente ao conteúdo de ferro na forma crua e feijão TL em relação ao conteúdo de cobre após o cozimento e de manganês tanto cru quanto cozido. Porém a composição mineral dos alimentos de origem vegetal está influenciada e controlada pela fertilidade do solo, características genéticas da planta e do ambiente no qual cresce (MILLER, 1996), isto justificaria as diferenças observadas entre o teor de minerais em diferentes estudos.

Avaliando o conteúdo de ferro, zinco, manganês e cobre dentro de cada cultivar foi observado que os processamentos administrados influenciaram no teor destes minerais de diferente forma dependendo do cultivar. Isto também foi observado por BARAMPAMA e SIMARD (1995) que reportaram em relação ao feijão cru (*Phaseolus vulgaris*, cultivar Dore de Kirundo) uma diminuição no teor de alguns minerais (sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro e manganês) em feijão macerado, cozido sem maceração e cozido sem água de maceração, sendo que estes cozimentos não afetaram o conteúdo de zinco e cobre no mesmo cultivar; apesar de que se considera que certas vitaminas e minerais nutricionalmente importantes podem também ser perdidos na água de molho, se esta é descartada (REYES-MORENO e PAREDES-LOPEZ, 1993).

Embora o feijão comum apresente um conteúdo elevado de muitos minerais essenciais (SGARBIERI, 1989) a biodisponibilidade é menor que nos produtos de origem animal em virtude da presença de fatores antinutricionais (SATHE *et al.*, 1984; GEIL e ANDERSON, 1994), como compostos fenólicos, fitatos e fibras que têm habilidade de reagir com minerais sob certas condições contribuindo à baixa biodisponibilidade (SGARBIERI, 1989).

Na Tabela 3 são apresentados os teores de taninos expressos como mg de catequina/100g de feijão.

Tabela 3- Teores de taninos (mg catequina/100gfeijão) em base seca, para os cultivares de feijão

Cultivar/ Processamento	Umidade (g/100g)	Taninos (mg catequina/ 100g feijão)
1. OB		
CRU	9,87	33,38
CCAM	17,39	8,69
CSAM	11,22	8,02
CSM	10,94	10,73
2. DN		
CRU	9,60	61,01
CCAM	12,29	18,61
CSAM	7,75	17,66
CSM	18,02	22,10
3. BRS		
CRU	12,01	182,60
CCAM	20,18	34,94
CSAM	18,90	33,24
CSM	17,47	37,11
4. PER		
CRU	11,36	102,45
CCAM	12,75	18,43
CSAM	14,41	16,92
CSM	12,07	20,07
5. TL		
CRU	13,97	94,60
CCAM	14,56	16,57
CSAM	11,75	15,74
CSM	10,58	17,65

Média de três determinações

CRU: Feijão cru; CCAM: Feijão cozido com água de maceração; CSAM: Feijão cozido sem água de maceração; CSM: Feijão cozido sem maceração. OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Verificou-se que o OB apresentou a menor concentração e o BRS a maior concentração, tanto crus quanto após os diferentes cozimentos. Quando todos os cultivares foram cozidos sem maceração os teores estiveram na faixa de 10,73 a 37,11 mg catequina/100 g de feijão sendo estes resultados inferiores aos mencionados por WELCH *et al* . (2000) que reportaram valores entre 35 a 265

mg catequina/100 g de feijão avaliando 24 cultivares, porém são superiores aos teores encontrados por PIRES (2002) nos cultivares OB, DN e PER (3,21; 15,65; 16,97 mg catequina/100 g de feijão, respectivamente). Nos cultivares coloridos crus o teor de taninos esteve na faixa de 61,01 (DN) a 182,60 (BRS) mg de equivalentes catequina/100g, sendo similar ao reportado por outros autores (DESHPANDE *et al.*, 1982; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000).

DESHPANDE *et al.* (1982) verificaram que o conteúdo de taninos em feijões depende, em grande parte, da presença ou não do tegumento e de sua coloração, como também varia dependendo da espécie do feijão (CHIARADIA e GOMES, 1997). O conteúdo de taninos do feijão pigmentado inteiro é maior que no feijão descascado (DESHPANDE *et al.*, 1982) e o feijão branco possui quantidades muito baixas (WELCH *et al.*, 2000) enquanto o vermelho e o preto têm níveis significativamente maiores, portanto, a maior concentração de polifenóis é encontrada em cascas de sementes coloridas, porém os feijões vermelhos apresentam maior concentração que os pretos (BRESSANI *et al.*, 1981; BRESSANI *et al.*, 1991).

Em todos os cultivares o cozimento promoveu acentuada redução no conteúdo de taninos; esta redução esteve na faixa de 64 a 83% em relação ao feijão cru, como é apresentado na Tabela 4.

O cozimento sem água de maceração promoveu uma redução ligeiramente superior à redução conseguida quando o feijão foi cozido com água de maceração e cozido sem maceração. Em pesquisa desenvolvida por COSTA DE OLIVEIRA *et al.* (2001) o processamento doméstico do cultivar IAC-Carioca promoveu uma redução de 88% para feijão cozido sem água de maceração, 87% para feijão cozido com água de maceração e 84% para feijão cozido sem maceração. BARAMPAMA e SIMARD (1994) obtiveram reduções de 84,64% (cozimento sem água de maceração) e 59,81% (cozimento sem maceração). Perdas aparentes de 61 a 98% também foram relatadas após o cozimento por BRESSANI *et al.* (1982) e de 80 a 90% por GOYCOOLEA *et al.* (1990). Tanto a maceração prévia quanto o cozimento têm um papel importante na redução deste fator antinutricional, devido a que durante o processamento os taninos podem migrar à água de maceração e ao caldo de cocção (GOYCOOLEA *et al.*, 1990), sendo possível que alguns taninos se difundam para o endosperma do cotilédone ligando-se às proteínas (REYES-MORENO e PAREDES-LÓPEZ, 1993).

Tabela 4- Redução nos teores de taninos (mg catequina/100gfeijão) em base seca, para os cultivares de feijão

Cultivar	Feijão cru (mg catequina/100g feijão)	Redução após cozimento (%)		
		CCAM	CSAM	CSM
OB	33,38	74	76	68
DN	61,01	69	71	64
BRS	182,60	81	82	80
PER	102,45	82	83	80
TL	94,60	82	83	81

Média de três determinações

CRU: Feijão cru; CCAM: Feijão cozido com água de maceração; CSAM: Feijão cozido sem água de maceração; CSM: Feijão cozido sem maceração. OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Porém, alguns autores coincidem em afirmar que a perda aparente de taninos induzida pela cocção se deve não a uma destruição química senão a mudanças na solubilidade e na reatividade das moléculas que dificultam sua extração (GOYCOOLEA *et al.*, 1990). Após o cozimento, a maior concentração de taninos está no caldo de cozimento e menores teores na casca e cotilédones, observando-se uma relação inversa entre o tempo de cozimento e o conteúdo de taninos residuais no caldo, o que poderia estar associado, segundo os autores, à formação de complexos moleculares insolúveis entre taninos condensados e compostos afins que se vão depositando no caldo durante a cocção (proteínas, oligossacarídeos e lipídios) os quais não podem ser extraídos e quantificados mediante técnicas analíticas (GOYCOOLEA *et al.*, 1990; BARAMPAMA e SIMARD, 1994). Uma diminuição no valor nutritivo dos feijões (PER) também foi verificada quando o caldo de cozimento foi adicionado para a obtenção das farinhas na elaboração das dietas de animais experimentais, sendo que a maceração prévia ao cozimento não influenciou nestes parâmetros (GOYCOOLEA *et al.*, 1990).

Contudo, os resultados obtidos conferem aos processamentos utilizados eficácia na redução deste componente capaz de interferir no valor nutritivo desta leguminosa. Os taninos formam complexos com proteínas diminuindo a digestibilidade, inibindo o crescimento e aumentando a excreção de nitrogênio fecal em animais (COSTA DE OLIVEIRA *et al.*, 2001). Os taninos também afetam a digestibilidade de carboidratos e a biodisponibilidade de minerais (KHOKHAR e CHAUHAN, 1986).

Os teores de hexafosfato de inositol (IP6), pentafofato de inositol (IP5), tetrafofato de inositol (IP4) e trifosfato de inositol (IP3) (mol/g) para os cultivares submetidos a diferentes processamentos em base seca são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5- Teores de hexafosfato de inositol (IP6), pentafofato de inositol (IP5), tetrafofato de inositol (IP4), trifosfato de inositol (IP3) (mol/g) em base seca, para os cultivares de feijão.

Cultivar/ Processamento	IP6 molg ⁻¹	IP5 molg ⁻¹	IP4 molg ⁻¹	IP3 molg ⁻¹	IP5+IP6 molg ⁻¹
1. OB					
CRU	22,57	4,16	0,28	0,00	26,73
CCAM	16,37	7,07	1,96	0,26	23,44
CSAM	15,52	6,66	1,99	0,21	22,18
CSM	17,76	6,44	1,31	0,13	24,20
2. DN					
CRU	20,16	4,71	0,13	0,00	24,87
CCAM	14,22	8,03	1,98	0,39	22,25
CSAM	13,26	7,46	1,87	0,31	20,72
CSM	15,93	6,56	1,93	0,15	22,49
3. BRS					
CRU	22,35	2,82	0,00	0,00	25,17
CCAM	16,03	6,32	1,79	0,21	22,35
CSAM	15,06	5,90	1,65	0,19	20,96
CSM	18,23	4,48	1,44	0,16	22,71
4. PER					
CRU	18,29	2,66	0,00	0,00	20,96
CCAM	12,88	5,01	2,78	0,31	17,90
CSAM	12,00	4,76	2,54	0,30	16,77
CSM	14,98	4,16	1,34	0,13	19,14
5. TL					
CRU	21,03	3,07	0,00	0,00	24,10
CCAM	15,24	6,31	2,03	0,32	21,55
CSAM	14,38	5,97	1,94	0,32	20,35
CSM	17,31	4,63	1,46	0,12	21,94

Média de três determinações

CRU: Feijão cru; CCAM: Feijão cozido com água de maceração; CSAM: Feijão cozido sem água de maceração; CSM: Feijão cozido sem maceração. OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Em todos os cultivares crus e em todos os cultivares após o cozimento o PER apresentou o menor teor e o OB o maior teor tanto de IP6 quanto de IP6+IP5. Os teores de IP6+IP5 são similares aos reportados por WELCH *et al.* (2000) e HOUSE *et al.* (2002) para feijão cozido sem maceração, porém são superiores aos citados por VILLAVICENCIO *et al.* (2000) para feijão carioca cru e cozido com água de maceração e aos reportados por LOMBARDI-BOCCIA *et al.* (1998) para feijão branco cru e cozido com água de maceração. Observa-se que após o cozimento aconteceu uma redução de IP6 e um aumento dos outros inositol fosfatos (IP5, IP4, IP3), como é mostrado na Tabela 6. A maior redução de IP6 para todos os cultivares foi obtida quando os feijões foram cozidos sem água de maceração e a menor redução quando foram cozidos sem maceração, mas tanto nos cultivares crus quanto cozidos o IP6 representou a maior porcentagem dos inositol fosfatos, sendo de 81 a 89% nos cultivares crus e de 58 a 75% nos cultivares cozidos, concordando com o reportado por outros pesquisadores (LOMBARDI-BOCCIA *et al.*, 1998; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000). Este aumento de IP5 após o cozimento provocou que a redução máxima de IP5+IP6 fosse só de 20%, enquanto a máxima redução de IP6 foi de 34% nos cultivares cozidos sem água de maceração.

Tabela 6- Redução nos teores de IP6 e IP5+IP6 (mol/g) em base seca, para os cultivares de feijão

Cultivar	IP6				IP5+IP6			
	CRU molg ⁻¹	Redução após o cozimento (%)			CRU molg ⁻¹	Redução após o cozimento (%)		
		CCAM	CSAM	CSM		CCAM	CSAM	CSM
OB	22,57	27,47	31,24	21,31	26,73	12,31	17,02	9,47
DN	20,16	29,46	34,23	21,00	24,87	10,53	16,67	9,57
BRS	22,35	28,28	32,61	18,43	25,17	11,20	16,73	9,77
PER	18,29	29,58	34,39	18,10	20,96	14,60	20,00	8,68
TL	21,03	27,53	31,62	17,69	24,10	10,58	15,56	8,96

Média de três determinações

CRU: Feijão cru; CCAM: Feijão cozido com água de maceração; CSAM: Feijão cozido sem água de maceração; CSM: Feijão cozido sem maceração. OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

IP6 e IP5 reduzem a biodisponibilidade de zinco e ferro enquanto IP4 e IP3 não apresentam esta característica (LOMBARDI-BOCCIA *et al.*, 1998). O grau de ação inibitória dos inositol fosfatos na absorção mineral depende do grau de

fosforilação (LÖNNERDAL, 1989; BRUNE *et al.*, 1992; HAN *et al.*, 1994). Deste modo, a determinação só de IP6 não permite uma informação completa da inibição de zinco e ferro, conseqüentemente a quantificação dos inositol fosfatos é de importância nutricional (LOMBARDI-BOCCIA *et al.*, 1998).

A diminuição observada no conteúdo de fitatos durante a maceração pode ser atribuída a uma lixiviação dos íons fitatos na água sob a influência de um gradiente de concentração que provoca a difusão deste nutriente para a água de maceração (KHOKHAR e CHAUHAN, 1986; COSTA DE OLIVEIRA *et al.*, 2001). Porém estas perdas também podem ser devido a mudanças na permeabilidade da membrana da cobertura dos grãos (KHOKHAR e CHAUHAN, 1986). A absorção de água em sementes pode também ativar a fosfatase intrínseca resultando na hidrólise e aumentando a perda de ácido fítico (KHOKHAR e CHAUHAN, 1986; PLAAMI, 1997). A redução deste fator antinutricional é de grande importância, uma vez que altos níveis de ingestão de fitatos podem estar associados com efeitos nutricionais adversos ao homem (KHOKHAR e CHAUHAN, 1986), como redução da biodisponibilidade mineral e inibição de enzimas proteolíticas e amilolíticas (MARTINEZ DOMINGUEZ *et al.*, 2002).

Durante o cozimento e processamento, fundamentais mudanças podem acontecer na estrutura da matriz da fibra (MARQUES MENDEZ *et al.*, 1993; PEREZ-HIDALGO, 1997; REHMAN e SHAH, 2004) especialmente na composição e nas propriedades físico-químicas (KUTOS *et al.*, 2003). Os teores de fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) no feijão cru e cozido com água de maceração nos cinco cultivares estudados encontram-se na Tabela 7.

Observa-se que com relação à FAT o OB apresentou a menor concentração e o DN apresentou a maior concentração tanto crus quanto após o cozimento. Observou-se um incremento na FAT nos cultivares cozidos em relação aos cultivares crus. Este aumento foi de 8% no OB, 10% em DN, BRS e PER e de 11% no TL.

O DN apresentou a maior concentração de FAI e o BRS a menor, tanto crus quanto após o cozimento. Todos os cultivares apresentaram um aumento no teor de FAI quando foram cozidas quando comparados aos cultivares crus, sendo este aumento de 16, 19, 20, 22 e 25% em OB, PER, DN, TL e BRS, respectivamente. Ao contrário das duas fibras anteriores, o teor da FAS diminuiu

em todos os cultivares após o cozimento. Esta diminuição foi de 25% (DN), 28% (BRS), 30% (TL), 31% (PER) e 37% (OB). O OB apresentou o menor teor e o BRS a maior concentração de FAS tanto crus quanto cozidos.

Tabela 7- Teores de umidade, fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) em base seca, para os cultivares de feijão

Cultivar/ Processamento	Umidade (g/100g)	FAT (g/100g)	FAI (g/100g)	FAS (g/100g)
1. OB				
CRU	10,62	21,60	18,31	3,29
CCAM	4,57	23,40	21,32	2,08
2. DN				
CRU	10,28	26,07	20,40	5,67
CCAM	6,33	28,69	24,45	4,24
3. BRS				
CRU	11,05	22,90	16,61	6,29
CCAM	5,55	25,22	20,68	4,54
4. PER				
CRU	11,08	23,72	19,36	4,36
CCAM	4,29	26,09	23,09	3,00
5. TL				
CRU	11,40	24,40	19,18	5,22
CCAM	6,21	27,03	23,36	3,67

Média de duas determinações

CRU: Feijão cru; CCAM: Feijão cozido com água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Os teores de FAT, FAI e FAS obtidos neste estudo são similares aos reportados por PEREZ-HIDALGO *et al.* (1997) para feijão cru e ligeiramente superiores aos reportados por ALFONZO (2000) para feijão cozido. O aumento no teor de FAT e FAI e a diminuição de FAS após cozimento também foi observado em outras pesquisas (VIDAL-VALVERDE e FRIAS, 1991; VIDAL-VALVERDE *et al.*, 1993; PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997; ALFONZO, 2000). No entanto, COSTA *et al.* (2006) reportaram em feijão Carioca aumento na FAI e FAS e KUTOS *et al.* (2003) reportaram uma pequena diminuição na FAT e FAI e um aumento na FAS em feijão Pinto.

As bases químicas para as alterações no conteúdo da fibra alimentar nos alimentos durante o cozimento permanecem ainda incertas (PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997). Tem sido proposto que a formação de amido resistente e produtos das reações de Maillard junto com produtos da complexação de proteínas com outros componentes como ligninas, cutinas, polissacarídeos e taninos possam contribuir com o aumento da FAT (MARQUES MENDEZ *et al.*, 1993; PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997). Todos estes complexos se caracterizam por ser insolúveis e indigeríveis e são quantificados como parte da fibra insolúvel (MARQUES MENDEZ *et al.*, 1993). O aumento nos valores de amido resistente seria principalmente devido à retrogradação de amilose (PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997; RATNAYAKE *et al.*, 2001; THARANATHAN e MAHADEVAMMA, 2003) e o amido das leguminosas tem alto conteúdo de amilose comparado com o amido de outros alimentos (PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997).

A determinação de nitrogênio protéico nos resíduos da FAI sugere a interação das proteínas e aminoácidos com os componentes da fração fibra insolúvel e dos complexos tanino-proteína formados durante o cozimento (MARQUES MENDEZ *et al.*, 1993; PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997).

Quanto à FAS, o tratamento térmico (cozimento) melhora a solubilidade das substâncias pécticas (PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997). A molécula de protopectina apresenta uma estrutura tridimensional formada por cadeias de poligaracturonatos ligadas a grupos carboxílicos livres com cadeias de celulose e minerais bivalentes, como o cálcio. Esta estrutura confere à molécula uma solubilidade mínima (DERIVI *et al.*, 1988). O tratamento térmico provoca despolimerização nas cadeias de poligaracturonatos aumentando sua solubilidade e reduzindo seu conteúdo (DERIVI *et al.*, 1988; VIDAL-VALVERDE e FRIAS, 1991; PEREZ-HIDALGO *et al.*, 1997).

Nos 5 cultivares estudados, prevaleceu o componente insolúvel da fibra, que representou de 72 a 91% da FAT (Tabela 7), resultados consistentes com os reportados na literatura (BEDNAR *et al.*, 2001; ALFONZO, 2000).

Os grãos de leguminosas constituem na dieta humana uma importante fonte de proteína para grupos de baixa renda no mundo inteiro (HUGHES *et al.*, 1996). Todos os cultivares estudados tiveram um alto conteúdo de proteína (22,57-26,29 g/100g), o que justifica o fato das leguminosas serem consideradas boas fontes de proteína e serem utilizadas como substitutas da proteína animal de

alto custo nas dietas humanas (REHMAN e SHAH, 2004). A Tabela 8 mostra a composição aminoacídica dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, observando-se que os cultivares são caracterizados pelo baixo conteúdo de metionina, e alto conteúdo de aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina), leucina, lisina, ácido aspártico e ácido glutâmico o que concorda com a literatura (CHANG e SATTERLEE, 1981; SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

Porém, um dos maiores problemas do feijão é representado pelo baixo valor nutricional de suas proteínas, decorrente, por um lado, da sua baixa digestibilidade e, dos reduzidos teores e biodisponibilidade de aminoácidos sulfurados, metionina e cisteína (BODWELL *et al.*, 1980; HUGHES, 1991; NIELSEN, 1991; BRESSANI, 1993) além de triptofano, valina e treonina em ordem decrescente (BLANCO e BRESSANI, 1991). No presente estudo não foram determinados os teores de triptofano, por ser destruído durante o processo de hidrólise e a cisteína, pela instabilidade do PTC-cisteína durante a determinação o que impede a quantificação correta.

Tabela 8- Composição aminoacídica para os cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base úmida

Aminoácidos	Cultivares de feijão				
	OB	DN	BRS	PER	TL
g aminoácidos/100g amostra					
Essenciais					
Fenilalanina+tirosina	1,19	1,57	1,42	1,36	1,62
Histidina	0,39	0,36	0,37	0,42	0,44
Isoleucina	0,43	0,55	0,56	0,48	0,62
Leucina	0,84	1,15	1,16	1,00	1,20
Lisina	0,67	0,97	1,05	0,79	0,94
Metionina	0,20	0,24	0,22	0,20	0,27
Cisteína	nd	nd	nd	nd	nd
Treonina	0,48	0,59	0,51	0,50	0,53
Triptofano	nd	nd	nd	nd	nd
Valina	0,56	0,64	0,64	0,59	0,72
Não essenciais					
Alanina	0,61	0,67	0,64	0,63	0,69
Arginina	0,80	0,79	0,70	0,92	0,93
Ácido aspártico	1,70	1,75	1,66	1,61	1,78
Ácido glutâmico	2,15	2,12	1,99	1,96	2,26
Glicina	0,49	0,51	0,47	0,49	0,51
Prolina	0,62	0,65	0,63	0,73	0,72
Serina	0,76	0,84	0,74	0,76	0,82

Média de três determinações

nd: não determinado (destruído no processo de hidrólise) OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Os feijões contêm alto conteúdo de lisina, sendo complemento protéico excelente para os cereais, que são pobres em lisina e com adequado teor de aminoácidos sulfurados (SGARBIERI e WHITAKER, 1982; BRESSANI, 1989).

A Tabela 9 apresenta os valores de escore químico e PDCAAS nos cultivares de feijão cozidos com água de maceração. Os resultados do escore químico demonstram que no OB a metionina e lisina foram os aminoácidos limitantes, sendo que a metionina foi o primeiro aminoácido limitante, por ter um escore químico menor. O processamento doméstico pode ter influenciado na biodisponibilidade de lisina, considerando que todos os cultivares foram cozidos pelo mesmo tempo e o OB apresentou o maior grau de amolecimento. O cozimento melhora a digestibilidade de proteínas, porém quando prolongado, pode reduzir sua qualidade nutricional por redução da biodisponibilidade de aminoácidos como a lisina e sulfurados (BRESSANI, 1989; BLANCO e BRESSANI, 1991; BARAMPAMA e SIMARD, 1995). Com base nos escores químicos o OB foi a fonte protéica de mais baixa qualidade, em razão do maior número de aminoácidos limitantes, sendo que nos outros cultivares a metionina foi o único aminoácido limitante. A metionina é considerada um aminoácido limitante do valor biológico das proteínas do feijão, por ser nutricionalmente essencial para o organismo humano. Apesar de cisteína e cistina não serem aminoácidos essenciais, têm a metionina como um intermediário na sua biossíntese, tornando assim esse aminoácido ainda mais limitante (SGARBIERI e WHITAKER, 1982).

Os valores de digestibilidade verdadeira determinados por LUJAN (2004) nos mesmos cultivares estudados cozidos sem maceração e em ensaio biológico paralelo ao presente estudo indicam a menor digestibilidade para o PER (78,70%) e a maior para o OB (84,88%) (Tabela 9). A medida da digestibilidade sugere o quanto das proteínas é hidrolisado pelas enzimas digestivas e absorvido pelo organismo, constituindo o primeiro fator que afeta a eficiência da utilização protéica da dieta (MONTEIRO *et al.*, 2004). Quando certas ligações peptídicas não são hidrolisadas no processo digestivo, parte da proteína é excretada nas fezes ou metabolizada pelos microrganismos do intestino grosso (STIPANUK, 2000).

O escore químico corrigido pela digestibilidade (PDCAAS) tem sido considerado um parâmetro recomendado pela *Food and Agriculture Organization*

(1991) para avaliar a qualidade da proteína em humanos (SARWAR, 1997). Os valores de PDCAAS estiveram na faixa de 50,37 (PER) a 61,48% (TL). Sendo, portanto, o TL o cultivar que apresentou a melhor qualidade protéica por ter 61,48% de adequação em relação ao padrão da FAO. Porém nenhum dos cultivares teve um PDCAAS igual ou superior a 1,0 (100%) que foi convencionado para considerar uma proteína como de boa qualidade (HENLEY e KUSTER, 1994). No entanto, os valores de PDCAAS encontrados no presente estudo podem estar subestimados em virtude de que foi quantificada só metionina e o padrão da FAO considera o valor de 25 mg/g proteína para Metionina + Cisteína.

Alguns teores de aminoácidos foram similares aos encontrados por CHANG e SATTERLEE (1981), BLANCO e BRESSANI (1991), BARAMPAMA e SIMARD (1995) e PIRES (2005). Porém outros teores de aminoácidos foram superiores e outros foram inferiores aos teores reportados pelos mesmos autores, o que provocaria também diferenças com os valores de PDCAAS. O valor de PDCAAS encontrado para o feijão PER cozido com água de maceração é inferior ao determinado por PIRES (2005) para este mesmo cultivar cozido sem maceração. Processamentos diferentes podem ser a causa destas diferenças.

O PDCAAS é considerado como o método mais apropriado para avaliar a qualidade das proteínas além de mais exato que os ensaios biológicos por basear-se em requerimentos humanos, considerando o perfil aminoacídico da proteína testada, digestibilidade e capacidade para fornecer os aminoácidos em suficiente quantidade (MENSA-WILMOT *et al.*, 2001).

Numerosas teorias têm sido propostas para explicar por que as proteínas dos feijões secos têm mais baixo valor nutricional quando comparadas com as proteínas animais. Tem-se sugerido, entre outras causas, a deficiência de aminoácidos sulfurados (especialmente metionina), e a presença de fibras e de fatores antinutricionais como fitatos e taninos. Esses fatores antinutricionais interagem com as proteínas formando complexos insolúveis ou diminuindo a susceptibilidade à proteólise (ASQUITH e BUTLER, 1986; HUGGES, 1996; RICKARD e THOMPSON, 1997; SATHE, 2002). Os cultivares estudados apresentaram diferentes teores de taninos, fitatos e fibras que em conjunto estariam determinando a diferença na qualidade protéica determinada através do PDCAAS.

Tabela 9- Valores de PDCAAs nos cultivares de feijão cozidos com água de maceração

I Aminoácidos Essenciais	II mg aminoácidos /g proteína					III Padrão FAO/ WHO 2-5 anos mg/g protein	IV Escore químico de aminoácidos					V PDCAAS (%)				
	OB	DN	BRS	PER	TL		OB	DN	BRS	PER	TL	OB	DN	BRS	PER	TL
Fenilalanina +Tirosina	100,00	117,08	111,11	109,41	115,30	63	1,59	1,86	1,76	1,74	1,83					
Histidina	32,77	26,85	28,95	33,79	31,32	19	1,72	1,41	1,52	1,78	1,65					
Isoleucina	36,13	41,01	43,82	38,62	44,13	28	1,29	1,46	1,57	1,38	1,58					
Leucina	70,59	85,76	90,77	80,45	85,41	66	1,07	1,30	1,38	1,22	1,29					
Lisina	56,30	72,33	82,16	63,56	66,90	58	0,97	1,25	1,42	1,10	1,15					
Metionina*	16,81	17,90	17,21	16,09	19,22	25	0,67*	0,72*	0,69*	0,64*	0,77*	56,87	58,97	55,63	50,37	61,48
Treonina	40,34	44,00	39,91	40,23	37,72	34	1,19	1,29	1,17	1,18	1,11					
Triptofano	nd	nd	nd	nd	nd	11	nd	nd	nd	nd	nd					
Valina	47,06	47,73	50,08	47,47	51,25	35	1,34	1,36	1,43	1,36	1,46					
Digestib. verdadeira (%)							84,88	81,90	80,62	78,70	79,84					

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

nd: não determinado (destruído no processo de hidrólise)

Escore químico de aminoácidos = Coluna II/Coluna III

* aminoácido limitante (<1,0)

PDCAAS = 1° aminoácido limitante (coluna IV) x Digestibilidade verdadeira do experimento com ratos

Digestib. verdadeira = Digestibilidade verdadeira (Fonte: LUJAN, 2004)

4. CONCLUSÃO

Os dados referentes ao feijão após o processamento (com ou sem maceração e cozimento) são mais relevantes que a caracterização do alimento cru, por ser um alimento consumido cozido.

Após o mesmo tempo de cozimento o cultivar OB (em todos os processamentos) e aqueles cultivares previamente macerados, apresentaram após o cozimento um maior grau de amolecimento que o DN (em todos os processamentos) e os cultivares não macerados que tiveram uma textura mais dura.

Sendo que os efeitos observados na composição centesimal mudam com os cultivares de feijão comum e a maneira em que os processamentos foram aplicados, generalizações não devem ser feitas para todos os tipos de feijões e áreas geográficas.

Embora o feijão comum tenha apresentado um conteúdo elevado dos minerais estudados (ferro, zinco, cálcio, cobre e manganês), a presença de fatores antinutricionais exige o estudo profundo da biodisponibilidade mineral.

Em relação ao teor de taninos o OB apresentou a menor concentração e o BRS a maior concentração, tanto crus quanto após os diferentes cozimentos. Dentro dos cultivares coloridos crus, o DN apresentou o mínimo teor e após os diferentes cozimentos o teor de taninos foi muito próximo a PER e TL, sendo o BRS o de maior teor em todos os casos. Em todos os cultivares o cozimento promoveu acentuada redução no conteúdo de taninos, esta redução esteve na faixa de 64 a 83% em relação ao feijão cru. O cozimento sem água de maceração promoveu uma redução ligeiramente superior à redução conseguida quando o feijão foi cozido com água de maceração e cozido sem maceração.

Em todos os cultivares crus e após o cozimento o PER apresentou o menor teor e o OB o maior teor tanto de IP6 quanto de IP6+IP5. Os processamentos administrados ocasionaram uma redução de IP6 e um aumento dos outros inositol fosfatos (IP5, IP4, IP3). A maior redução de IP6 para todos os cultivares foi obtida quando os feijões foram cozidos sem água de maceração e a menor redução quando foram cozidos sem maceração, mas tanto nos cultivares crus quanto cozidos o IP6 representou a maior porcentagem dos inositol fosfatos. Sendo que

de todos os inositol fosfatos o IP6 e IP5 reduzem a biodisponibilidade mineral sua quantificação é de importância nutricional.

Com relação à FAT o OB apresentou a menor concentração e o DN a maior concentração tanto crus quanto após o cozimento com água de maceração. O DN teve a maior concentração de FAI e o BRS a menor tanto crus quanto após o cozimento. O OB apresentou o menor teor e o BRS a maior concentração de FAS tanto crus quanto cozidos.

Em todos os cultivares o cozimento com água de maceração provocou um aumento no teor de FAT em relação aos cultivares crus influenciado pelo aumento no teor de sua fração insolúvel, sendo que o conteúdo da FAS diminuiu.

A relação entre o valor das frações insolúvel/solúvel demonstrou que prevaleceu o componente insolúvel da fibra, que representou de 72 a 91% da FAT e a FAS representou só uma pequena parte do total.

Todos os cultivares estudados de feijão apresentaram bons valores nutricionais com um conteúdo de proteína de aproximadamente 22,57 a 26,29 g/100g. Com base nos escores químicos o OB foi a fonte protéica de mais baixa qualidade, em razão do maior número de aminoácidos limitantes (metionina e lisina), sendo que nos outros cultivares a metionina foi o único aminoácido limitante. Os valores de PDCAAS estiveram na faixa de 50,37 (PER) a 61,48% (TL). Portanto, o TL foi o cultivar que apresentou a melhor qualidade protéica por ter o 61,48% de adequação em relação ao padrão da FAO. Porém nenhum dos cultivares teve um PDCAAS igual ou superior a 1,0 (100%) que foi convencionado para considerar a uma proteína de boa qualidade.

No entanto, os valores de PDCAAS encontrados no presente estudo podem estar subestimados em virtude de que foi quantificada só metionina e o padrão da FAO considera o valor de 25 mg/ g proteína para Metionina + Cisteína.

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) apresenta componentes e características que tornam seu consumo vantajoso do ponto de vista nutricional. Os grãos de leguminosas constituem na dieta humana uma importante fonte de proteína para grupos de baixa renda no mundo inteiro substituindo em muitos casos a proteína animal de alto custo, o que sugere a necessidade de mais estudos da qualidade nutricional em feijões como também do efeito positivo ou negativo dos fatores antinutricionais, assim como dos efeitos funcionais deste alimento na dieta humana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFONZO, G.G.C. Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 50, n. 3, p. 281-285, 2000.

ASQUITH, T.N.; BUTLER, L.G. Interactions of condensed tannins with selected proteins. **Phytochem.**, v. 25, n. 7, p. 1591-1593, 1986.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Washington, D.C; 1990, p. 800-801; 1105-1106.

BARAMPAMA, Z.; SIMARD, R.E. Effects of soaking, cooking and fermentation on composition, in-vitro starch digestibility and nutritive value of common beans. **Plant Foods for Human Nutrition**. v. 48, p. 349-365, 1995.

BARAMPAMA, 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.

BEDNAR, G.I.; PATIL, A.B.; MURRAY, S.; GRIESHOP, C.M.; MERCHEN, N.R.; FAHEY, G.C. Starch and fiber fractions in selected food and feed ingredients affect their small intestinal digestibility and fermentability and their large bowel fermentability in vitro in a canine model. **J. Nutr.**, . v. 131, p. 276-286, 2001.

BERRIOS, J.D.J.; SWANSON, B.G.; CHEONG, W.A. Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Res. Int.**, v. 32, p. 669-676, 1999.

BIDLINGMEYER, B.A.; COHEN, S.A.; TARVIN, T.L. Rapid analysis of aminoacids using pre-column derivatization. **J. Cromatogr.**, v.336, n.1, p.93-104, 1984.

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.

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

BRESSANI, R. Revisión sobre la calidad del grano de frijol. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. XXXIX, n. 3, p. 419-442, 1989.

BRESSANI, R.; ELIAS, L.G.; BRAHAM, J.E. Reduction of digestibility of legume proteins by tannins. **J. Plant Foods**. v. 4, n. 43, 1982.

BRESSANI, R.; ELÍAS, L.G.; ESPAÑA, M. E. Posibles relaciones entre medidas físicas, químicas y nutricionales en frijol comum (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. XXXI, n. 3, p. 551-570, 1981.

BRESSANI, R.; MORA, D.R.; FLORES, R.; GOMEZ-BRENES, R. Evaluación de dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido, y efecto que estos provocan en la digestibilidad de la proteína. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. XLI, n. 4, p. 570-583, 1991.

BRUNE, M.; ROSSANDER-HULTEN, L.; HALLBERG, L.; GLEERUP, A.; SANDBERG, A. Iron absorption from bread in humans: inhibition effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. **J. Nutr.**, v. 122, p. 442-449, 1992.

CARBONARO, M.; VIRGILI, F.; CARNOVALE, E. Evidence for protein–tannin interaction in legumes: implications in the antioxidant properties of Faba bean tannins. **Lebens-Wiss. U.- Technol.** v. 29, p. 743-750, 1996.

CARNOVALE, E.; LINTAS, C. Dietary fibre: effect of processing an nutrient interactions. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 53, p. 307-311, 1995.

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

CHIARADIA, A.C.N.; GOMES, J.C. **Feijão: Química, Nutrição e Tecnologia**. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1997. 180 p.

COELHO, J. V.; LAJOLO, F. M. Evolução dos fenólicos totais e taninos condensados (proantocianidinas) durante o desenvolvimento das sementes do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 43, n. 1, p. 61-65, 1993.

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

COSTA DE OLIVEIRA, A.; QUEIROZ, K.S; HELBIG, E.; REIS, S.M.P.M.; CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 51, No. 3, p. 276-283, 2001.

COSTA, G.E.A.; QUEIROZ-MONICI, K.S.; REIS, S.M.P.M.; OLIVEIRA, A. C.; Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food Chem.**, v. 94, n. 3, p. 327-330, 2006.

DE ANGELIS, R.C.; CTENAS, M.L.B. **Biodisponibilidade de ferro na alimentação infantil**. São Paulo: Serviço de Informação Científica Nestlé. (Temas de Pediatria, 52), 1993. 53 p.

DE-LEON, L.; ELIAS, L.G.; BRESSANI, R. Effect of salt solutions on the cooking time, nutritional and sensory characteristic of common beans. **Food Res. Int.**, v. 25, p. 131-136, 1992.

DERIVI, S.C.N.; MENDEZ, M.H.M.; RODRIGUES, M.C.R.; FERNANDES, M.L. A fração "fibra da dieta" em alimentos crus e processados. **Arch Latinoamer Nutr.**, v. 38, No. 4, p. 965-978, 1988.

DESHPANDE, S.S.; SATHE, S.K., SALUNKE, D. K.; et al. Effects of Dehulling on Phytic Acid, Polyphenols and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.** v. 47, n. 6, p. 1846-1850, 1982.

FERREIRA, J.; GOMES, J.C. **Gerenciamento de Laboratórios de Análises Químicas**. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1995. 378p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Energy and protein requirements**. Geneva; 1985. 724p.

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

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

GOMES, J. C. **Análise de Alimentos**. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos, 1996.126 p.

GOYCOOLEA, F.; MEJIA, E.G; BARRÓN, J.M; VALENCIA, M.E. Efecto de los tratamientos caseros en la preparación de frijol pinto (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre el contenido de taninos y valor nutritivo de las proteínas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. XL, No. 2, p. 263-274, 1993.

HAN, O.; FAILA, M.L.; HILL, A.D.; MORRIS, E.R.; SMITH JR, J.C. Inositol phosphates inhibit uptake and trans-port of iron and zinc by human intestinal cell line. **J. Nutr.** v. 124, p. 580-587, 1994.

HARLAND, B.F.; NARULA, G. Foods phytate and its hydrolysis products. **Nutr. Res.**, v. 19, n. 6, p. 947-961, 1999.

HENLEY, E.C.; KUSTER, J.M. Protein quality evaluation by protein digestibility corrected amino acid scoring. **Food Technol.**, v. 48, p. 74-77, 1994.

HOUSE, W.A.; WELCH, R.M.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Potential for increasing the amounts of bioavailable zinc in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L) through plant breeding. **J. Sci. Food Agric.** v. 82. p. 1452-1457, 2002.

HUGHES, J. S. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. **Food Technol.**, 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.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas**. 3. ed. São Paulo: 1985. v.1,533p.

JOOD, S.; MEHTA, U.; SINGH, R. Effect of processing on available carbohydrates in legumes. **J. Agric. Food Chem.**, v. 34, p. 417-420, 1986.

KHOKHAR, S.; CHAUHAN, B. M. Antinutritional factors in Moth Bean (*Vigna aconitifolia*): Varietal differences and effects of methods of domestic processing and cooking. **J Food Sci.**, v. 51, n. 3, p. 591-594, 1986.

KUTOS, T.; GOLOB, T.; KAC, M.; PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chem.**, v. 80, p. 231 -235, 2003.

LOLAS, G. M.; MARKAKKIS, P. Phytic acid and other phosphorus compounds of beans (*Phaseolus Vulgaris*, L.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 23. p. 13, 1975.

LOMBARDI-BOCCIA, G.; SCHLEMMER, U.; CAPPELLONI, M.; DI LULLO, G. The inhibitory effect of albumin extracts from white beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) on *in vitro* iron and zinc dialysability: role of phytic acid. **Food Chem.**, v. 63, n. 1, p. 1-7, 1998.

LÖNNERDAL, B.; SANDBERG, A-S.; SANDSTRÖM, B.; KUNZ, C.J. Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. **J. Nutr.**, v. 119, p. 211-214, 1989.

LUJAN, D.L.B. **Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade protéica, na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos**. Viçosa, MG:UFV, 2004. 108p. Tese (Mestrado em Ciência da Nutrição)- Universidade Federal de Viçosa, 2004.

MARQUES MÉNDEZ, M.H; DERIVI, S.C.N.; FERNANDES, M.L; OLIVEIRA, A.M.G. Insoluble dietary fiber of grain food legumes and protein digestibility. **Arch. Latinoam. Nutr.** v. 43, No. 1, p. 66-72, 1993.

MARTINEZ DOMINGUEZ, B.; IBAÑEZ, M.B; RINCÓN, F. Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 52, n. 3, p. 219-231, 2002.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 50, No. 1, p. 5-18, 2000.

MENSA-WILMOT, Y.; PHILLIPS, R.D.; HARGROVE, J.L. Protein quality evaluation of cowpea-based extrusion cooked cereal/legume weaning mixtures. **Nutr. Res.**, v. 21, p. 849-857, 2001.

MILLER, D.D. Minerals. In: FENNEMA, O.R. **Food Chem.**, 3.ed. New York: Marcel Dekker, Inc. 1996. p. 641- 645.

MONTEIRO, M.R.P.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V.; MOREIRA, M.A. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do Inibidor de Tripsina Kunitz e das isoenzimas Lipoxigenases. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 195-205, 2004.

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

PEREZ-HIDALGO, M.A.; GERRA-HERNANDEZ, E.; BARCÍA-VILLANOVA, B. Dietary fiber in three raw legumes and processing effect on Chick Peas by an enzymatic-gravimetric method. **J. Food Composition and analysis**. v. 10, p. 66-72, 1997.

PIRES, C.V. **Caracterização bromatológica e digestibilidade *in vitro* de proteínas de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Viçosa, MG:UFV, 2002. 68p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)- Universidade Federal de Viçosa, 2000.

PIRES, C.V. **Otimização de técnicas de determinação da digestibilidade *in vitro* para a substituição da digestibilidade *in vivo* no cálculo do escore químico corrigido pela digestibilidade proteica – PDCAAS**. Viçosa, MG:UFV, 2005. 70p. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola)- Universidade Federal de Viçosa, 2005.

PLAAMI, S. Myoinositol Phosphates: analysis, content in foods and effects in nutrition. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 30, p. 633–647,1997.

PRICE, M.L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **J. Agric. Food Chem.**, v. 26, n. 5, p. 1214-1218,1978.

PROSKY, L.; ASP, N.-G.; SCHWEIZER, T.F.; DEVRIES, J.W.; FURDA, I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. Interlaboratory study. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 71,n. 5, p.1017-1023, 1988.

RATNAYAKE, W.S.; HOOVER, R.; SHAHIDI, F.; PERERA, C.; JANE, J. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of starches from four field peas (*Pisum sativum*) L. cultivars. **Food Chem.**, v. 74, p. 189-202, 2001.

REHMAN, Z.; SALARIYA, A.M.; ZAFAR, S.I. Effect of processing on available carbohydrate content and starch digestibility of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*, L) **Food Chem.**, v. 73, p. 351-355, 2001.

REHMAN, Z-U.; SHAH, W.H. Domestic processing effects on some insoluble dietary fibre components of various food legumes. **Food Chem.**, v. 87, p. 613–617, 2004.

REYES-MORENO, C.; PAREDEZ-LÓPEZ, O. Hard-to-cook phenomenon in common beans – A Review. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 33, n.3, p.227-286, 1993.

RICKARD, S.E.; THOMPSON, L.U. Interactions and biological effects of phytic acid. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 294-312.

RINCON, F.; ROS, G.; COLLINS, J. Mineral loss in cowpeas (*vigna unguiculate* L.) by pressure heating in water. **J. Food Sci.**, v. 58, p. 856-859, 1993.

ROSA, J.C.; IZUMI, C; BELTRAMINI-SABBAG, L.M.; GREENE, L.J. Quantitative HPLC analysis of phenylisothio-carbamyl-amino acids at picomol levels. XVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica (SBBq) – Caxambu/MG, 22 a 25/04/87 – **Arq. Biol. Technol.**, 30:1, p. 35, 1987.

SANDBERG, A.; AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, hexaphosphates in foods and intestinal contents. **J. Food Sci.**, v. 51, p. 547-550, 1986.

SARWAR G. The protein digestibility-corrected aminoacid score method overestimates quality of proteins containing antinutritional factors and of poorly digestible proteins supplemented with limiting amino acids in rats. **J. Nut.**, v.127, p. 758-64,1997.

SATHE, S.K. Dry Bean Protein Functionality. **Crit. Rev. Biotechnol.**, v. 22, n. 2, p. 175-223, 2002.

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.

SGARBIERI, V.C. Composition and nutritive value of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **World Rev. Nutr. Diet. Basel, Karger**. v. 60, p. 132-198, 1989.

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.

SHAHIDI, F. Beneficial health effects and drawbacks of antinutrients. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997b. p. 1-9.

STIPANUK, M.H. **Biochemical and physiological aspects of human nutrition**. Philadelphia: Saunders Company, 2000. 950p.

THARANATHAN, R.N.; MAHADEVAMMA, S. Grain legumes –a boon to human nutrition. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 14, p. 507-518, 2003.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 1, n.1, p.1-22, 1991.

VIDAL-VALVERDE, C; FRÍAS, J.; VALVERDE, S. Changes in the carbohydrate composition of legumes after soaking and cooking. **J. Am. Diet Assoc.**, v. 93, p. 547-550, 1993.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J. Legume processing effects on dietary fiber components. **J Food Sci.**, v. 56, n. 5, p. 1350-1352.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCEÉ, H. Efect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics Chem.**, v.57, p. 289-293, 2000.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48. p. 3576- 3580, 2000.

CAPITULO 3

BIODISPONIBILIDADE DE ZINCO DE DIFERENTES CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM SUBMETIDOS A TRATAMENTO DOMÉSTICO

RESUMO

O Brasil é o segundo produtor mundial de feijoeiros do gênero *Phaseolus* e o primeiro na espécie *Phaseolus vulgaris*, constituindo um dos alimentos básicos da população brasileira. Os feijões são boa fonte de nutrientes, como o zinco que é um dos elementos traços essenciais mais importantes para o homem. Porém, a biodisponibilidade mineral pode ser afetada pelo conteúdo de antinutrientes e o processo de cozimento. Este estudo avaliou a biodisponibilidade de zinco de 5 cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.): Branco (Ouro Branco), Negro (Diamante Negro) e marrom-rajado (BRS Radiante, Pérola e Talismã) cozidos com e sem água de maceração. Após o cozimento, os feijões foram secos junto com o caldo de cocção e moídos, sendo as farinhas adicionadas às dietas dos ratos, de modo a fornecer 15 mg Zn/kg de dieta. Uma dieta padrão forneceu a mesma concentração de zinco a partir do ZnCO_3 . Ratos machos Wistar, recém desmamados, divididos em 11 grupos (n=10/grupo), foram alimentados por 42 dias com as dietas experimentais. Foi utilizado um modelo fatorial (5x2+1), sendo os tratamentos dispostos no delineamento em blocos casualizados. Após o sacrifício dos animais, foram coletadas amostras de sangue e o fêmur, para

análise de zinco plasmático e eritrocitário, retenção mineral e crescimento ósseo, respectivamente. O feijão Ouro Branco cozido com água de maceração apresentou a mais alta biodisponibilidade, similar à dieta controle. O feijão Talismã cozido com água de maceração apresentou as médias mais baixas na maioria dos parâmetros analisados. A biodisponibilidade de Zn não dependeu do processo de cozimento, desde que este efeito variou de acordo com o cultivar de feijão. O conteúdo de fitatos, taninos e fibra alimentar também não estiveram associados com a biodisponibilidade de zinco nos feijões. Porém, a razão milimolar fitatoxcálcio:zinco mostrou ser uma boa ferramenta para predizer a sua biodisponibilidade.

1. INTRODUÇÃO

O zinco é um dos elementos traços essenciais mais importantes para o homem (JACKSON *et al.*, 1982; SCHWEDT *et al.*, 1998). Atua como estabilizador de estruturas de membranas e componentes celulares sendo fundamental para o crescimento, desenvolvimento, divisões e diferenciações celulares, expressão genética e síntese de DNA (PRASAD, 1991; SHERMAN, 1992, CHESTERS, 1997; SANDSTRÖM, 1997). Está envolvido, ainda, em outros processos, como a síntese do hormônio do crescimento, da fosfatase alcalina e do colágeno (CHESTERS, 1997; FEDERICO *et al.*, 2001) e na resposta e regulação do sistema imune (KOURY e DONANGELO, 2003). É componente essencial de um grande número de enzimas zinco-dependentes, que participam em processos antioxidantes e na síntese e degradação de carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (JACKSON *et al.*, 1982; HARRIS, 1992; SANDSTRÖM, 1997; KOURY e DONANGELO, 2003). O zinco influencia também o tato, o olfato, o apetite e o consumo de alimentos (CHESTERS, 1997).

O zinco está presente em todos os órgãos, tecidos, fluidos e secreções do corpo (KING e KEEN, 1994). O corpo humano contém cerca de 2 a 2,5 g de zinco, dos quais 55% estão localizados nos músculos e 30% nos ossos (CHESTERS, 1997), que junto com a pele e fígado são os maiores *pools* (HOUSE, 1999).

A ingestão recomendada de zinco na dieta é de 8 mg/dia para mulheres e de 11 mg/dia para homens (TRUMBO *et al.*, 2001). O conteúdo de zinco nos alimentos é variável sendo abundante em carnes, fígado, ovos, frutos do mar e no germe de alguns cereais (KING e KEEN, 1994; AMAYA *et al.*, 1997) e em menor concentração, em produtos lácteos, tubérculos e leguminosas (AMAYA *et al.*, 1997).

Os grãos de leguminosas constituem na dieta humana uma importante fonte de proteína especialmente nos países em desenvolvimento (HUGHES *et al.*, 1996; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000). O Brasil é o segundo produtor mundial de feijoeiros do gênero *Phaseolus* e o primeiro na espécie *Phaseolus vulgaris*, constituindo um dos alimentos básicos da população brasileira (EMBRAPA, 2003). O feijão, embora represente uma importante fonte de proteínas, amido, vitaminas, minerais e fibras (GEIL e ANDERSON, 1994; BARAMPANA e SIMARD, 1994; MARTINEZ *et al.*, 1998), a presença de fatores antinutricionais é uma das principais desvantagens que limitam a utilização de todo o seu potencial nutritivo pelo organismo (KHOKHAR e CHAUHAN, 1986). Os polifenóis, fitatos e alguns dos produtos de degradação de fitatos são reconhecidos como antinutrientes de distintos minerais essenciais da dieta, em particular do ferro não-heme e zinco (MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000; SANDBERG, 2002). As fibras dos feijões também podem interferir negativamente na absorção mineral (SATHE *et al.*, 1984; GEIL e ANDERSON, 1994). O zinco é um nutriente limitante em muitas dietas de populações que dependem de feijões como alimento principal (WELCH *et al.*, 2000).

São vários os fatores dietéticos que influenciam a biodisponibilidade do zinco. Os aminoácidos cisteína, glicina e lisina e os quelantes naturais ou sintéticos (citrato, EDTA) parecem favorecer a biodisponibilidade, enquanto fibras, oxalatos, fitatos, polifenóis e alguns minerais como cobre, ferro e cálcio tendem a diminuir (AMAYA *et al.*, 1997; DUTRA DE OLIVEIRA e MARCHINI, 1998).

A importância do estudo da biodisponibilidade de zinco em alimentos se dá devido ao fato das quantidades ingeridas não atenderem às doses recomendadas para alguns grupos populacionais. A presença de fatores que reduzem sua absorção contribui para desenvolver a deficiência (HOUSE *et al.*, 2002).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a biodisponibilidade de zinco de cinco cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), em ratos, com ênfase nos seus teores de taninos, fitatos e fibra alimentar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde, e Laboratório de Espectrofotometria de Absorção Atômica do Departamento de Solos, da Universidade Federal de Viçosa. A determinação de fitatos foi feita no Centro de Biologia Molecular no Federal Research Centre for Nutrition and Food (Alemanha, Dr. Ralph Greiner).

2.1. Cultivares de feijão

As amostras de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizadas foram dos cultivares Ouro Branco (OB), Diamante Negro (DN), BRS Radiante (BRS), Pérola (PER), fornecidas pela EMBRAPA – Arroz e Feijão, localizada em Santo Antônio de Goiás, GO e Talismã (TL), fornecida pela Universidade Federal de Viçosa.

Para a obtenção das farinhas respectivas os grãos de cada cultivar foram selecionados e submetidos à maceração (proporção feijão: água de 1:2) por 15 h à temperatura ambiente e cozidos em panela de pressão doméstica, durante 40 minutos depois da saída constante de vapor pela válvula de pressão. Uma parte destes feijões foi cozida com a água de maceração não absorvida pelos grãos e a outra sem a água de maceração, sendo acrescentado 400 mL de água da torneira para o cozimento. Em ambos os casos os feijões cozidos foram secos, juntamente com o caldo de cocção, em estufa de ar circulante por 17 h a 60°C, sendo posteriormente moídos em microprocessador e peneirados (20 mesh) o número suficiente de vezes até a obtenção de um pó homogêneo.

2.6.1. Caracterização físico-química

Nos feijões cozidos com água de maceração e cozidos sem água de maceração foram determinados os teores de umidade (INSTITUTO ADOLFO

LUTZ, 1985), proteínas e lipídios (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984).

A determinação do teor de taninos foi realizada de acordo com o método de PRICE *et al.* (1978) com modificações.

A quantificação de fitatos foi realizada segundo a metodologia descrita pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990) e o método cromatográfico (Par iônico, Ultrasep ES 100 RP18, 2x250mm) proposto por SANDGERG e AHDERINNE (1986).

A concentração de zinco e cálcio foi quantificada por espectrofotometria de absorção atômica usando espectrofotômetro GBC 908 AA (GBC/ Alemanha; Analítica São Paulo Brasil), após a digestão das amostras com mistura de ácido nítrico e ácido perclórico (3:1 v/v) (GOMES, 1996). Diluições apropriadas foram realizadas utilizando água deionizada e para o cálcio adicionou-se solução de cloreto de estrôncio hexahidratado ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) após a digestão e antes da leitura (GOMES, 1996).

Nos feijões cozidos com água de maceração foi quantificado também o teor de fibra alimentar total (FAT) de acordo com o método enzimático gravimétrico (PROSKY *et al.*, 1988; AOAC, 1990).

Todas as determinações foram realizadas em triplicata com exceção do teor de fibras que foi realizado em duplicata. Os métodos utilizados em todas as determinações foram descritos no capítulo 2.

2.7. Ensaio Biológico

Foram utilizados 110 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*), da linhagem Wistar, recém desmamados, pesando entre 57 e 65 g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em ambiente de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e luz controladas, em ciclo claro-escuro de 12 h.

Os animais foram divididos em 10 blocos experimentais com 11 animais cada um, de acordo com o peso, sendo mantidos em suas respectivas dietas por 42 dias, tempo durante o qual os animais receberam água deionizada *ad libitum*, e ingestão de dieta controlada variando entre 10 e 18 g diários. Os pesos dos animais foram monitorados semanalmente, bem como a ingestão alimentar,

calculando-se assim o ganho de peso e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA = ganho de peso (g) / consumo alimentar (g) x 100).

2.2.1. Composição e preparo das dietas experimentais

A composição das dietas experimentais foi baseada na dieta AIN-93G (REEVES *et al.*, 1993), com mistura mineral sem zinco. As dietas foram devidamente ajustadas para fornecerem 15 mg Zn/kg de dieta, procedente do carbonato de zinco (ZnCO_3 , dieta padrão) ou dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração e cozidos sem água de maceração (dietas testes) (Tabela 1).

Nas dietas testes, a partir do teor de zinco nos cultivares de feijão cozidos com água de maceração e cozidos sem água de maceração estabeleceu-se a quantidade necessária para fornecer a concentração de zinco planejada. Na quantidade de feijão calculada foi então determinado o teor de proteína adicionando-se caseína para completar em cada dieta o requerimento de proteína (17%), a fim de obter dietas isoprotéicas. No entanto, não foi ajustado o teor de óleo, devido ao baixo conteúdo de lipídios do feijão, e por ser esta leguminosa boa fonte de fibra não foi adicionado celulose, sendo o feijão a única fonte de fibra nas dietas testes.

Os ingredientes das dietas foram misturados em batedeira semi-industrial (LIEME), com baixa rotação, por 30 min. As dietas prontas foram acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas a 10°C.

Tabela 1 – Composição das dietas experimentais (g/kg de dieta)

Cozimento	DIETAS EXPERIMENTAIS										
	CCAM						CSAM				
Ingredientes(g)	Padrão	OB	DN	BRS	PER	TL	OB	DN	BRS	PER	TL
Caseína ¹	206,94	89,56	83,65	52,62	71,97	63,29	110,36	83,53	44,98	80,23	90,96
Maltodextrina ²	132	132	132	85,04	132	132	132	132	45,15	132	132
Sacarose ³	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Óleo de soja ⁴	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
Fibra (Celulose microfina) ⁵	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Minerais sem Zn ⁶	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35
Vitaminas ⁷	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
L-cistina ⁸	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Bitartarato de Colina ⁹	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Amido de milho q.s.p. ¹⁰	390,54	94,98	79,51	-	23,65	32,74	142,41	91,98	-	52	72,67
ZnCO ₃ ¹¹	0,0178	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Feijão Ouro Branco	-	462,96	-	-	-	-	394,73	-	-	-	-
Feijão Diamante Negro	-	-	484,34	-	-	-	-	471,99	-	-	-
Feijão BRS Radiante	-	-	-	641,84	-	-	-	-	689,37	-	-
Feijão Pérola	-	-	-	-	551,88	-	-	-	-	515,29	-
Feijão Talismã	-	-	-	-	-	551,74	-	-	-	-	483,87

Fonte: Adaptado de REEVES *et al.*, 1993; isenta de zinco

CCAM: feijão cozido com água de maceração

CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

q.s.p.: quantidade suficiente para completar 1 K g.

Marca/Fornecedor:

1 Wenda Company Ltda. /Agroquímica SP Comercial Ltda.. 2 Amidex 182 / Corn products Brasil. 3 Açúcar União/ Comércio de Viçosa. 4 SOYA/ Comércio de Viçosa.

5 Comprecel/ Minjtaí Chemical Company Ltda. Taiwan. 6. Laboratório de Nutrição Experimental- UFV-MG-Brasil. 7, 8, 9 Rhoster/ Rhoster- Indústria e Comércio Ltda..

10 Pink Alimentos-Belo Horizonte/Comércio de Viçosa.11. Veteck/Veteck.

- **Análises químicas**

Ao final do experimento, os animais foram sacrificados sob atmosfera de dióxido de carbono. Procedeu-se a incisão das cavidades abdominal e torácica para coleta de sangue por punção cardíaca, utilizando-se seringas descartáveis de 10 mL para cada animal. Foi separado o plasma e a massa eritrocitária, para determinação de zinco. Foi ainda retirado o fêmur direito para posteriores análises.

Utilizou-se a espectrofotometria de absorção atômica, em aparelho GBC 908 AA (GBC/ Alemanha; Analítica São Paulo Brasil), para determinação do teor de zinco. No plasma após diluição em água MILLI-Q; Na massa eritrocitária segundo o método de WHITEHOUSE *et al* (1982). No fêmur direito após digestão em mistura nitroperclórica (3:1 v/v) e diluições adequadas com água MILLI-Q. No fêmur ainda foram quantificados cálcio e magnésio adicionando-se solução de cloreto de estrôncio hexahidratado ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) após a digestão e antes da leitura (GOMES, 1996).

Foi quantificada também a concentração de hemoglobina na massa eritrocitária sendo expresso o zinco eritrocitário em gZn/g Hb. A hemoglobina foi determinada segundo o método do cianeto de metahemoglobina (HiCN), proposto pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984), utilizando o kit para diagnóstico colorimétrico *in vitro* da DOLES REAGENTES E EQUIPAMENTOS PARA LABORATÓRIOS LTDA (Goiânia-GO).

Os ossos foram pesados em balança analítica digital da marca OHAUS, com precisão de 0,0001g. O comprimento, largura e espessura externa do fêmur foram medidos utilizando um paquímetro (marca Mituyoyo).

2.2.3. Retenção Mineral

Foi calculada a retenção mineral de zinco, cálcio e magnésio, considerando a quantidade de mineral depositado no fêmur e a quantidade de mineral ingerido no total de dieta consumida durante o experimento. Assim:

Retenção Mineral = mg Mineral (fêmur) x100/ mg Mineral ingerido total

2.4.3. Delineamento experimental

Utilizou-se um modelo fatorial 5x2+1 correspondente à combinação de cinco cultivares de feijão submetidos a dois tipos de cozimento (com água de maceração e sem água de maceração) e uma dieta padrão. Os 11 tratamentos foram dispostos no delineamento em blocos casualizados com 10 repetições.

Os dados foram interpretados por meio de análise de variância, e as médias testadas pelos testes de Dunnett e Tukey, ao nível de 5% de significância. Para essas análises, foi utilizado o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, versão 8.0, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Cultivares de feijão

O teor de proteínas, lipídios, zinco e cálcio dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração e cozidos sem água de maceração encontra-se na Tabela 2. Estes resultados serviram de base para o cálculo das dietas experimentais usadas no ensaio biológico e no caso do zinco também para o cálculo das razões milimolares junto com o cálcio.

Tabela 2- Teor de proteínas, lipídios, zinco e cálcio dos cultivares de feijão submetidos a dois tipos de cozimento, em base seca.

Cozimento	Cultivares	Umidade (mg/100g)	Proteínas (g/100g)	Lipídios (g/100g)	Zn (mg/100g)	Ca (mg/100g)
CCAM	OB	20,77	26,29	1,92	4,09	124,92
	DN	14,26	24,39	2,44	3,61	175,00
	BRS	22,89	25,61	1,88	3,03	104,83
	PER	13,59	23,25	2,05	3,15	133,22
	TL	14,14	24,92	1,88	3,17	194,79
CSAM	OB	12,79	23,05	1,85	4,36	123,68
	DN	10,58	24,02	2,26	3,55	166,49
	BRS	21,77	24,67	1,66	2,78	106,28
	PER	15,26	23,84	1,96	3,44	161,94
	TL	12,84	22,59	2,13	3,56	184,98

Média de três determinações

CCAM: feijão cozido com água de maceração

CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

Na Tabela 3 estão apresentados os valores de fitatos, taninos e fibra alimentar total utilizados na avaliação da biodisponibilidade de zinco.

Tabela 3- Teor de taninos e fitatos (IP5+IP6) dos cultivares de feijão submetidos a dois tipos de cozimento e fibra alimentar total (FAT) dos cultivares submetidos a um tipo de cozimento, em base seca

Cozimento	Cultivares	Taninos ¹ (mg catequina/100g de feijão)	IP5+IP6 ¹ (mol/g)	FAT ² (g/100g)
CCAM	OB	8,69	23,44	23,40
	DN	18,61	22,25	28,69
	BRS	34,94	22,35	25,22
	PER	18,43	17,90	26,09
	TL	16,57	21,55	27,03
CSAM	OB	8,02	22,18	n.d.
	DN	17,66	20,72	n.d.
	BRS	33,24	20,96	n.d.
	PER	16,92	16,77	n.d.
	TL	15,74	20,35	n.d.

1 Média de três determinações; 2 Média de duas determinações

n.d. não determinado

CCAM: feijão cozido com água de maceração

CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

3.2. Ensaio biológico

É amplamente reconhecido que o zinco é geralmente menos biodisponível em alimentos de origem vegetal do que em alimentos de origem animal ou de sais inorgânicos de zinco (FORDYCE *et al.*, 1987). Como se observa na Tabela 4, a dieta de feijão TL cozido com água de maceração apresentou a menor concentração de zinco no plasma em relação à dieta padrão ($P < 0,05$). No cozimento sem água de maceração as dietas de feijão DN e TL foram inferiores à dieta padrão ($P < 0,05$). A dieta de feijão TL foi inferior às demais dietas de feijão nos dois tipos de cozimento, porém dentro desta dieta não houve diferença estatística ($P > 0,05$). A dieta de feijão OB cozido com água de maceração apresentou a maior concentração de zinco no plasma. O tipo de cozimento influenciou nas dietas de feijão OB, DN e BRS, obtendo médias maiores no cozimento com água de maceração ($P < 0,05$).

Tabela 4- Concentração de zinco no plasma (Zn-P) e zinco nos eritrócitos (Zn-erit) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

DT	Zn-P (gZn/dL)		Zn-erit (gZn/gHb)	
	Dieta Padrão 73,66±4,80 COZIMENTO		Dieta Padrão 47,05±1,34 COZIMENTO	
	CCAM	CSAM	CCAM	CSAM
OB	82,09 ± 4,70 A a	68,18 ± 4,59 Ab	42,27 ± 1,29Aa	35,88 ± 2,06 Ab*
DN	72,56 ± 4,55 A a	50,50 ± 6,90 Bb*	38,98 ± 1,77Aa*	35,13 ± 1,64 Aa*
BRS	75,66 ± 6,00 A a	61,15 ± 4,98 ABb	37,85 ± 1,29 ABa*	33,90 ± 0,59 Ab*
PER	70,80 ± 5,13 A a	60,72 ± 4,65 ABa	35,65 ± 1,52 BCa*	32,70 ± 0,69 Aa*
TL	51,43 ± 4,46 Ba*	49,16 ± 3,84 Ba*	31,81 ± 0,80 Ca*	31,52 ± 1,77Aa*

Média ± desvio padrão

Para cada característica avaliada as médias com asteriscos diferem da dieta padrão a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

DT: Dietas Testes

CCAM: feijão cozido com água de maceração; CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Aproximadamente 10 a 20% do zinco no sangue está no plasma; o restante está dentro dos eritrócitos. A quantificação do zinco no plasma ou no soro é o índice mais amplamente utilizado para definir o estado nutricional deste elemento. Em pessoas com severa deficiência de zinco, as concentrações de zinco no plasma/soro são freqüentemente baixas (GIBSON, 1990). Porém, concentrações baixas de zinco plasmático não podem ser consideradas como único diagnóstico de deficiência, já que a concentração de zinco no plasma pode ser influenciada por outras variáveis, incluindo algumas doenças (infecção ou inflamação), medicamentos, e jejum (KASARSKIS e SCHUNA, 1980).

A deficiência de zinco pode ser deduzida por uma baixa concentração de zinco no plasma/soro associada com manifestações clínicas como retardo de crescimento, alopecia, diarreia, acrodermatite enterohepática (KASARSKIS e SCHUMA, 1980). A técnica do plasma tem sido usada para medir a biodisponibilidade de zinco, mas existe controvérsia quanto à sua avaliação. SANDSTRÖM (1997) considera que níveis de zinco presentes em uma refeição não mudam as concentrações totais de zinco no plasma. Pelo contrário, zinco no

plasma freqüentemente está em baixíssimas concentrações especialmente depois de uma refeição rica em proteína, devido a um rápido ingresso do zinco no fígado provocado pelos aminoácidos transportadores. Já outros autores consideram que a quantificação do zinco no plasma permite medir a biodisponibilidade por responder rapidamente a mudanças no conteúdo de zinco na dieta, diminuindo ao reduzir a ingestão deste mineral e aumentando com a sua suplementação (PRASAD, 1991; RUZ *et al.*, 1991).

Outros autores afirmam que o procedimento mais específico para estabelecer o estado nutricional de zinco no organismo é sua quantificação nas células sanguíneas (AMAYA *et al.*, 1997). Assim, como se observa na Tabela 4 para o zinco eritrocitário só a dieta de feijão OB cozido com água de maceração não diferiu da dieta padrão ($P > 0,05$). Dentro das dietas testes no cozimento com água de maceração houve diferença significativa entre as dietas, sendo que a dieta de feijão OB apresentou a maior concentração e a dieta de feijão TL a menor concentração. No cozimento sem água de maceração não houve diferença significativa entre as dietas. O tipo de cozimento só influenciou nas dietas de feijão OB e BRS apresentando maiores médias no cozimento com água de maceração.

Entretanto, devido a ao fato da vida média dos eritrócitos ser de apenas 120 dias, GIBSON (1990) considera que as concentrações de zinco eritrocitário não refletem as recentes mudanças do zinco nos locais de armazenamento do corpo.

Em modelos animais, o crescimento e a avaliação de tecidos, por exemplo, a incorporação de zinco no fêmur em ratos, codornas e leitões têm sido usados para avaliar a biodisponibilidade de zinco (SANDSTRÖM, 1997). A fosfatase alcalina é uma enzima produzida principalmente por osteoblastos, cuja principal função é promover a deposição de cálcio na diáfise óssea (BRANDÃO-NETO *et al.*, 1995; DIMAI *et al.*, 1998). A atividade de fosfatase alcalina diminui rapidamente em animais submetidos a dietas zinco-deficientes (CHESTERS, 1997), sendo também o íon magnésio um forte ativador da enzima (CHEN *et al.*, 2000). Como consequência menores teores de zinco e magnésio provocaria uma menor retenção de cálcio. No entanto, isto não foi observado no presente estudo em todos os casos (Tabela 5), o que pode ser devido a outros fenômenos bioquímicos envolvidos no processo de calcificação (LEONE *et al.*, 1998). Apesar

das dietas testes diferirem da dieta padrão na retenção de zinco e magnésio, isto não foi suficiente para provocar uma diferença na retenção de cálcio. Observou-se que só a dieta de feijão DN cozido com água de maceração teve uma retenção de cálcio no fêmur que diferiu da dieta padrão ($P < 0,05$) (Tabela 5). Dentro das dietas testes foi verificado que a retenção de zinco e magnésio nos ossos dos animais foi influenciada pelo cultivar de feijão e pelo tipo de cozimento. Na retenção de cálcio não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as dietas no cozimento sem água de maceração. Em geral, as dietas de feijão OB cozido com água de maceração e cozido sem água de maceração promoveram melhor retenção de minerais nos ossos dos animais (Tabela 5).

Os primeiros sintomas da deficiência de zinco na maioria das espécies são crescimento deficiente e redução na ingestão de alimentos por causar supressão do olfato e paladar (KUDO *et al.*, 2000). Foi verificado que só a dieta de feijão BRS cozido sem água de maceração diferiu da dieta padrão ($P < 0,05$), em relação ao peso do fêmur. As outras dietas testes em todos os parâmetros ósseos avaliados não diferiram da dieta padrão ($P > 0,05$) (Tabela 6). Entre as dietas testes, como se observa também na Tabela 6, em relação ao comprimento do fêmur, no cozimento com água de maceração não houve diferença significativa entre as dietas ($P > 0,05$). Já no cozimento sem água de maceração, a dieta de feijão BRS diferiu das dietas de feijão DN, PER e TL, com média inferior. O tipo de cozimento só influenciou na dieta de feijão DN. A largura do fêmur não foi influenciada nem pelo cultivar nem pelo tipo de cozimento. A espessura do fêmur foi influenciada pelo cultivar só nas dietas no cozimento sem água de maceração, apresentando o feijão PER a maior espessura e o feijão DN a menor, e só houve influência do cozimento na dieta de feijão DN. No peso do fêmur a dieta de feijão BRS cozido sem água de maceração diferiu ($P < 0,05\%$) dos outros grupos, com média inferior, e o tipo de cozimento influenciou nas dietas de feijão BRS e Pérola. A dieta de feijão OB cozido sem água de maceração apresentou a maior média.

Tabela 5- Retenção de zinco no fêmur (Zn-fêmur), retenção de cálcio no fêmur (Ca-fêmur) e retenção de Magnésio no fêmur (Mg-fêmur) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

DT	Zn-fêmur (mg/100mg)		Ca-fêmur (mg/100mg)		Mg-fêmur (mg/100mg)	
	Dieta padrão 2,30 ± 0,08		Dieta padrão 4,00 ± 0,15		Dieta padrão 0,69 ± 0,03	
	COZIMENTO		COZIMENTO		COZIMENTO	
	CCAM	CSAM	CCAM	CSAM	CCAM	CSAM
OB	1,29 ± 0,04 Aa*	1,19 ± 0,03 Aa*	4,42 ± 0,11 Aa	4,06 ± 0,14Aa	0,35 ± 0,01 Aa*	0,34 ± 0,01 Aa*
DN	1,18 ± 0,03 ABa*	1,05 ± 0,03 Bb*	3,22 ± 0,10 Cb*	4,08 ± 0,22 Aa	0,23 ± 0,01 Cb*	0,32 ± 0,01 ABa*
BRS	1,10 ± 0,04 Ba*	0,91 ± 0,01 Bb*	3,82 ± 0,19 Bb	4,32 ± 0,10 Aa	0,27 ± 0,01 BCa*	0,29 ± 0,01 BCa*
PER	1,06 ± 0,03 Ba*	0,94 ± 0,01 Bb*	4,07 ± 0,12ABa	3,80 ± 0,08 Aa	0,26 ± 0,01 BCa*	0,27 ± 0,01 Ca*
TL	0,90 ± 0,04 Cb*	1,04 ± 0,03 Ba*	3,79 ± 0,15 Ba	3,86 ± 0,08 Aa	0,28 ± 0,01 Bb*	0,32 ± 0,01 ABa*

Média ± desvio padrão

Para cada característica avaliada as médias com asteriscos diferem da dieta padrão a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

DT: Dietas Testes

CCAM: feijão cozido com água de maceração; CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Retenção Mineral = mg Mineral (fêmur) x100/ mg Mineral ingerido total

Tabela 6-Comprimento do fêmur (Comp-F), largura do fêmur (Larg-F), espessura do fêmur (Esp-F) e peso do fêmur (Peso-F) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

	Comp-F (cm)		Larg-F (cm)		Esp-F (cm)		Peso-F (g)	
	Dieta Padrão 2,8784 ± 0,02		Dieta Padrão 0,4453 ± 0,01		Dieta Padrão 0,3299 ¹		Dieta Padrão 0,4973 ± 0,01	
DT	COZIMENTO		COZIMENTO		COZIMENTO		COZIMENTO	
	CCAM	CSAM	CCAM	CSAM	CCAM	CSAM	CCAM	CSAM
OB	2,8731±0,03Aa	2,8789±0,02ABa	0,4408 ¹ Aa	0,4417 ¹ Aa	0,3293 ¹ Aa	0,3294 ¹ ABa	0,5133±0,01Aa	0,5175±0,02Aa
DN	2,8302±0,02Ab	2,8863±0,01Aa	0,4424 ¹ Aa	0,4379 ¹ Aa	0,3325 ¹ Aa	0,3240 ¹ Bb	0,4910±0,01Aa	0,5060±0,01Aa
BRS	2,8618±0,02Aa	2,8100±0,02Ba	0,4350 ¹ Aa	0,4358 ¹ Aa	0,3293 ¹ Aa	0,3256 ¹ ABa	0,4849±0,01Aa	0,4481±0,01Bb*
PER	2,8707±0,02Aa	2,9013±0,02Aa	0,4413 ¹ Aa	0,4417 ¹ Aa	0,3295 ¹ Aa	0,3305 ¹ Aa	0,4872±0,01Ab	0,5371±0,01Aa
TL	2,8733±0,01Aa	2,9214±0,02Aa	0,4430 ¹ Aa	0,4411 ¹ Aa	0,3290 ¹ Aa	0,3300 ¹ ABa	0,4877±0,01Aa	0,5160±0,01Aa

Média ± desvio padrão

¹ Não houve variabilidade entre as oito medições

Para cada característica avaliada as médias com asteriscos diferem da dieta padrão a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

DT: Dietas Testes

CCAM: feijão cozido com água de maceração; CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Foi verificado que só a dieta de feijão BRS cozido sem água de maceração diferiu da dieta padrão ($P < 0,05$), em relação a ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar, tendo média inferior. Em relação ao consumo alimentar as dietas testes não diferiram da dieta padrão ($P > 0,05$) (Tabela 7).

Dentro das dietas testes (Tabela 7) foi observado em relação ao ganho de peso que a dieta de feijão BRS cozido sem água de maceração teve a menor média e apresentou diferença significativa ($P > 0,05$). O tipo de cozimento só influenciou nas dietas de feijão BRS e TL, obtendo-se dentro destas dietas o maior ganho de peso no cozimento com água de maceração para a dieta de feijão BRS e no cozimento sem água de maceração para a dieta de feijão TL. O coeficiente de eficiência alimentar foi influenciado pelo cultivar sendo que as dietas de feijão BRS cozido com água de maceração e cozido sem água de maceração apresentaram os menores valores. O cozimento só influenciou no feijão BRS e TL que apresentaram maior coeficiente de eficiência alimentar quando foram cozidos com água de maceração e sem água de maceração respectivamente. O consumo alimentar não foi influenciado nem pelo cultivar de feijão nem pelo tipo de cozimento, o que sugere que os parâmetros avaliados respondem unicamente a fatores presentes no feijão que estariam influenciando na biodisponibilidade de zinco.

Tabela 7- Ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

	GP (g)		CA (g)		CEA (%)	
	Dieta Padrão 213,60 ± 3,86		Dieta Padrão 596,10±10,18		Dieta Padrão 35,84±0,25	
DT	COZIMENTO		COZIMENTO		COZIMENTO	
	CCAM	CSAM	CCAM	CSAM	CCAM	CSAM
OB	220,40 ± 6,74 Aa	223,20 ± 1,67 Aa	607,11 ± 9,23 Aa	614,02 ± 2,45 Aa	36,23 ± 0,69 Aa	36,36 ± 0,35 Aa
DN	218,30 ± 3,24 Aa	212,40 ± 2,09 Aa	616,32 ± 0,98 Aa	614,48 ± 3,55 Aa	35,42 ± 0,48 ABa	34,57 ± 0,26 Ba
BRS	209,30 ± 2,47 Aa	192,40 ± 1,64 Bb*	612,46 ± 1,81 Aa	597,68 ± 3,83 Aa	34,17 ± 0,36 Ba	32,19 ± 0,22 Cb*
PER	210,40 ± 3,50 Aa	218,80 ± 3,55 Aa	606,28 ± 5,53 Aa	612,55 ± 0,60 Aa	34,71 ± 0,54 ABa	35,71 ± 0,49 ABa
TL	211,50 ± 3,30 Ab	224,90 ± 1,92 Aa	602,84 ± 6,11 Aa	615,50 ± 0,96 Aa	35,10 ± 0,51 ABb	36,54 ± 0,34 Aa

Média ± desvio padrão

Para cada característica avaliada as médias com asteriscos diferem da dieta padrão a 5% de probabilidade pelo teste Dunnett.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

DT: Dietas Testes

CCAM: feijão cozido com água de maceração; CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Em todas as dietas testes adicionou-se a quantidade de feijão que proporcionasse uma concentração de zinco igual a 15 mg/kg de dieta. O OB apresentou a maior concentração de zinco e o BRS a menor concentração nos dois tipos de cozimento (Tabela 2); adicionando-se, portanto, maior quantidade de BRS por kg de dieta (641,84 g cozido com água de maceração e 689,37 g cozido sem água de maceração) e menor quantidade de OB por kg de dieta (462,96 g cozido com água de maceração e 394,73 g cozido sem água de maceração). As quantidades de DN, PER e TL estiveram entre os dois cultivares mencionados.

Existindo diferença na quantidade de feijão entre as dietas testes é diferente também a quantidade de taninos, fitatos e fibras. Além disso, os cultivares apresentaram diferentes concentrações de taninos, fitatos e fibras (Tabela 3) os quais tendem a diminuir a biodisponibilidade de zinco (AMAYA *et al.*, 1997; DUTRA DE OLIVEIRA e MARCHINI, 1998). A Tabela 8 apresenta o consumo de taninos, fitatos e fibras dos animais durante todo o experimento.

Tabela 8- Consumo de taninos, fitatos (IP6+IP5) e fibra alimentar total (FAT) nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante todo o experimento (42 dias)

DT	Consumo de taninos (mg de catequina/42 dias)		Consumo de IP6+IP5 (mol/42dias)		Consumo de FAT (g)
	COZIMENTO		COZIMENTO		COZIMENTO
	CCAM	CSAM	CCAM	CSAM	CCAM
OB	20,18±0,31Ea	17,26±0,07Eb	6588,24± 100,14Ca	5375,81±20,63Cb	62,76±0,96 D
DN	48,72± 0,08Ca	47,25± 0,27Bb	6641,77± 10,58Ca	6009,35± 34,70Bb	80,21±0,13C
BRS	109,82± 0,32Ab	111,08±0,71Aa	8800,13± 25,57Aa	8636,04± 55,34Ab	93,79±0,27A
PER	53,81±0,49Ba	45,71± 0,28Cb	5989,23± 54,65Da	5293,27±32,52Cb	83,55±0,76B
TL	47,08± 0,48Da	41,37± 0,06Db	7164,20± 72,66Ba	6060,63± 9,44Bb	84,28±0,85B

Média ± desvio padrão

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

DT: Dietas Testes

CCAM: feijão cozido com água de maceração; CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

O consumo de taninos e fitatos dependeu do cultivar e do tipo de cozimento. Os animais que receberam a dieta de feijão OB cozido sem água de maceração consumiram o menor conteúdo de taninos, e os animais alimentados com a dieta de feijão BRS cozido sem água de maceração ingeriram a maior

quantidade. Em relação ao consumo de fitatos, os animais que receberam as dietas de feijão PER e OB cozidos sem água de maceração consumiram a menor quantidade e os animais alimentados com a dieta de feijão BRS cozido com água de maceração ingeriram a maior quantidade. O consumo de fibras foi avaliado unicamente no cozimento com água de maceração observando-se que a menor quantidade de fibras foi ingerida pelos animais alimentados com a dieta de feijão OB e maior quantidade pelos animais que receberam a dieta de feijão BRS. Portanto, taninos, fitatos e fibra alimentar não estiveram associados com a biodisponibilidade de zinco nos feijões já que a dieta de feijão OB cozido com água de maceração apresentou as maiores médias na maioria dos parâmetros sanguíneos e ósseos avaliados, e a dieta de feijão TL cozido com água de maceração as menores médias ($P < 0,05$), o que não tem relação com o consumo destes fatores antinutricionais que afetam a biodisponibilidade de zinco.

Os feijões comuns (*Phaseolus vulgaris* L.) contêm principalmente taninos condensados (SATHE, 2002), que são compostos fenólicos que consistem de oligômeros de catequinas ou leucoantocianidinas e resíduos flavonóides (MANGAN, 1988; CARMONA *et al.*, 1996). De forma geral os polifenóis podem ser ordenados da seguinte maneira com relação a seu efeito sobre a biodisponibilidade mineral: ácido gálico > ácido clorogênico = ácido cafeíco > catequinas (BRUNE *et al.*, 1989). Os polifenóis são reconhecidos como antinutrientes de distintos minerais, devido à sua capacidade de quelar cátions divalentes, principalmente ferro não heme e zinco, através da união a grupos hidroxilas e carboxílicos, reduzindo a biodisponibilidade dos mesmos no intestino (MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000). O efeito dos polifenóis sobre a absorção de zinco tem recebido pouca atenção, porém alguns autores como COUDRAY *et al.* (1998) e SHAHIDI (1997) sugerem que estes compostos podem quelar o zinco afetando sua biodisponibilidade.

Os fitatos existem como um complexo mineral que é insolúvel no pH do intestino (SANDBERG, 2002). A natureza aniônica do grupo hexafosfato dá aos fitatos um potencial para ligar cátions mono e divalentes (HARLAND e MORRIS, 1995; HARLAND e NARULA, 1999). Os sais formados são pouco solúveis e pobremente absorvidos no trato gastrointestinal. O zinco, por formar complexos muito estáveis e insolúveis com o ácido fítico, parece ser um dos minerais mais

afetados com altas concentrações do ácido fítico (RICKARD e THOMPSON, 1997).

O hexafosfato de inositol (IP6) e pentafofato de inositol (IP5) são as formas de ácido fítico que reduzem a biodisponibilidade de zinco e ferro enquanto os fitatos com menor grau de fosforilação como tetrafofato de inositol (IP4) e trifosfato de inositol (IP3) exercem um mínimo ou nenhum efeito (LOMBARDI-BOCCIA *et al.*, 1998; LÖNNERDAL, 2000). Isto foi observado em pesquisa desenvolvida por LÖNNERDAL *et al.* (1989) quando IP3 e IP4 não exerceram efeito negativo na absorção de zinco em ratos, e o efeito do IP5 foi significativamente menos pronunciado que o efeito do IP6. Porém, para SANDSTRÖM (1997), o IP5 tem efeito depressivo similar na absorção como o IP6.

Deste modo, o grau de ação inibitória dos inositol fosfatos na absorção mineral depende do grau de fosforilação (LÖNNERDAL, 1989; BRUNE *et al.*, 1992; HAN *et al.*, 1994). Ainda não são conhecidas as razões para isto, mas é possível que sejam exigidos muitos grupos fosfato para formar a forte associação entre o íon mineral e o inositol fosfato (LÖNNERDAL *et al.*, 1989). Deste modo, a determinação só de IP6 não permite uma informação completa da inibição de zinco e ferro, conseqüentemente a quantificação dos inositol fosfatos é de importância nutricional (LOMBARDI-BOCCIA *et al.*, 1998).

Os alimentos que apresentam elevado conteúdo de fitatos são, na maioria das vezes, também boas fontes de fibra alimentar, como é o caso do feijão comum. A capacidade da fibra alimentar para ligar íons de minerais polivalentes como foi observado em estudos *in vitro* pode ter um efeito negativo na biodisponibilidade de minerais (CARRAZZA, 1988; TORRE *et al.*, 1991). Especificamente, os ácidos urônicos são os responsáveis por essa ligação, mas em muitos casos não é possível separar os efeitos dos fitatos que existem nessas preparações. Estudos *in vivo* são limitados e as conclusões são difíceis (CARRAZZA, 1988). Segundo REINHOLD *et al.* (1976), a fibra em grande parte determina a disponibilidade de zinco, já para DAVIES *et al.* (1977), o fitato em lugar da fibra é o determinante principal na disponibilidade de zinco.

Algumas pesquisas indicam que a absorção de zinco em humanos geralmente não é prejudicada pelas concentrações de cálcio ou fósforo não-fítico encontradas nas dietas alimentícias (HOUSE, 1999). O cálcio só não interage

significativamente com zinco, mas há uma interação múltipla muito forte de zinco, cálcio e fitato. Assim, altas concentrações de cálcio incrementam o efeito antinutricional do ácido fítico sobre a biodisponibilidade de zinco devido à coprecipitação e formação do complexo insolúvel Ca-Zn-ácido fítico no intestino. Dessa forma, o zinco não está disponível para a absorção (O'DELL, 1997; RICKARD e THOMPSON, 1997; RIMBACH *et al.*, 1998; HOUSE, 1999).

A predição da biodisponibilidade mineral de alimentos que contêm fitatos é complicada pelas interações complexas entre os minerais e o ácido fítico, atividade de fitase no alimento e/ou no intestino, condições do processamento do alimento (especialmente pH), digestibilidade do alimento como também estado fisiológico do consumidor, sendo sugerido que a razão milimolar fitatoxcálcio/zinco é a melhor ferramenta para predizer a biodisponibilidade de zinco (BINDRA *et al.*, 1986; FORDYCE *et al.*, 1987). Nos cultivares estudados na presente pesquisa, como se observa na Tabela 9, a mais baixa razão milimolar apresentou o OB cozido sem água de maceração e a mais alta razão milimolar apresentou o TL cozido com água de maceração. Apesar de que o teor de fitatos foi menor no cozimento sem água de maceração para todos os cultivares em relação ao cozimento com água de maceração (Tabela 3) como foi observado também por COSTA DE OLIVEIRA *et al.* (2001). O teor de zinco e cálcio foi influenciado pelo tipo de cozimento dependendo de cada cultivar (Tabela 2). Por isto é de esperar-se que as razões milimolares de fitatoxcálcio:zinco no cozimento sem água de maceração apresentem diferente comportamento de aumento ou diminuição em relação ao cozimento com água de maceração, dependendo do cultivar. Porém, estas razões milimolares nos cultivares estiveram na faixa de 103,07 a 216,59 mM/100g matéria seca, e segundo FORDYCE *et al* (1987) uma razão milimolar acima de 50 mM/100g de matéria seca do alimento pode ser de grande preocupação para humanos com um baixo nível de zinco.

Tabela 9- Razões milimolares fitatoxcálcio:Zn nos cultivares cozidos com água de maceração e cozidos sem água de maceração e porcentagem de aumento ou redução em relação ao cozimento com água de maceração, base seca

Cozimento	Cultivares	Razões milimolares Fitatoxcálcio:zinco mM/100g	Porcentagem de aumento (+) ou redução (-)
CCAM	OB	115,64	
	DN	176,51	
	BRS	126,46	
	PER	123,97	
	TL	216,59	
CSAM	OB	103,07	-10,87
	DN	158,55	-10,18
	BRS	131,04	+3,62
	PER	129,23	+4,24
	TL	173,02	-20,12

Média de três determinações

CCAM: feijão cozido com água de maceração

CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

No presente estudo houve diferença significativa na ingestão de razões milimolares fitatoxcálcio:zinco durante todo o experimento (42 dias) nos ratos que foi influenciada pelo cultivar e pelo tipo de cozimento ($P < 0,05$) (Tabela 10), sendo que o cozimento só não influenciou na dieta de feijão PER. Os ratos alimentados com a dieta de feijão OB consumiram a menor quantidade e dentro desta dieta no cozimento sem água de maceração a ingestão foi ainda menor. A maior ingestão apresentaram os animais que receberam a dieta de feijão TL no cozimento com água de maceração e os que receberam a dieta de feijão BRS no cozimento sem água de maceração.

A menor ingestão de razões milimolares fitatoxcálcio/zinco, pelos animais que receberam a dieta de feijão OB tanto cozido com água de maceração quanto cozido sem água de maceração pode ser a causa destes animais apresentarem os melhores níveis na maioria dos parâmetros avaliados. Sendo que os animais que receberam a dieta de feijão OB cozido com água de maceração tiveram ainda níveis maiores muito parecidos aos animais que receberam a dieta padrão.

Tabela 10- Ingestão de razões milimolares fitatoxcálcio:zinco nos ratos durante todo o experimento segundo as dietas testes recebidas

Dietas Testes	Razões milimolares fitatoxcálcio:zinco	
	(mM/42 días) COZIMENTO	
	CCAM	CSAM
OB	325,05 ± 4,94 Ea	249,78 ± 0,96 Eb
DN	526,89 ± 0,84 Ba	466,57 ± 2,69 Cb
BRS	497,88 ± 1,45 Cb	539,95 ± 3,46 Aa
PER	414,82 ± 3,79 Da	407,89 ± 2,50 Da
TL	720,08 ± 7,31 A a	515,29 ± 0,80 Bb

Média ± desvio padrão

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula nas linhas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

CCAM: feijão cozido com água de maceração; CSAM: feijão cozido sem água de maceração

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

O consumo mais alto destas razões milimolares pelos animais que receberam a dieta de feijão TL cozido com água de maceração pode ser a causa dos níveis mais baixos na maioria dos parâmetros ósseos e sanguíneos avaliados, porém, o ganho de peso destes animais não foi influenciado em relação às outras dietas experimentais, mas foi menor que na dieta de feijão TL cozido sem água de maceração.

Além da alta ingestão das razões milimolares os animais que receberam as dietas de feijão BRS consumiram a maior quantidade de taninos, fitatos e fibras (Tabela 8) o que em conjunto seria a causa do menor ganho de peso registrado nos animais que receberam a dieta de feijão BRS sem água de maceração. Deve-se considerar também que ao adicionar feijão nas dietas testes (cultivares de feijão) foram substituídos na dieta original (dieta padrão) os macronutrientes por ela fornecidos como carboidratos e fibras (Tabela 1). A proteína da dieta padrão foi fornecida pela caseína, uma proteína de alto valor biológico enquanto a proteína das dietas testes foi fornecida em parte pelo próprio feijão e por uma porção da caseína. A dieta de feijão BRS cozido sem água de maceração teve a menor quantidade de caseína adicionada, porém apresentou a maior quantidade de feijão e com isso um valor calórico menor que as outras dietas devido ao elevado teor de fibras do feijão. Assim, a densidade calórica e de nutrientes entre

as dietas não era equivalente, o que pode ter afetado o padrão de ganho de peso dos animais e, portanto, o coeficiente de eficiência alimentar.

Muitos estudos têm demonstrado que o ácido fítico reduz a absorção no intestino de minerais essenciais como ferro não heme, zinco e cálcio, tanto em animais quanto em humanos, reduzindo sua biodisponibilidade (TORRE *et al.*, 1991; ZHOU *et al.*, 1992; HARLAND e NARULA, 1999; SANDBERG, 2002). FRANZ *et al.* (1980) após ensaio em ratos determinaram que cultivares de cereais e leguminosas como o feijão branco, com níveis altos de ácido fítico apresentaram diminuição da relativa utilização líquida de zinco e cultivares com baixas concentrações de ácido fítico apresentaram maiores valores deste mineral.

Por outro lado, HOUSE *et al.* (2002) estudando 18 cultivares de feijão que foram cultivados por métodos hidropônicos, avaliaram a biodisponibilidade de zinco em ratos utilizando a técnica da medida da retenção do isótopo ^{65}Zn no corpo inteiro. Entre os feijões dos grupos branco, preto, vermelho e marrom que foram autoclavados e liofilizados, a melhor biodisponibilidade foi do feijão preto e a mais baixa do feijão vermelho. Nesta pesquisa também os autores consideraram que, embora os cultivares continham teores relativamente altos de taninos, nem taninos nem IP5+IP6 afetaram marcadamente a biodisponibilidade de zinco.

WELCH (2002) observou que sob condições experimentais, o ácido fítico não apresentou um marcado efeito negativo na biodisponibilidade de zinco e ferro em humanos, sugerindo que a atividade de microrganismos no intestino poderia ativar a fitases para hidrolisar fitato, tornando-o inativo frente à absorção do zinco no intestino. Portanto, a composição da dieta e a população de microrganismos presentes no intestino são importantes fatores que determinam os efeitos de fitatos na biodisponibilidade de ferro e zinco. Estudos adicionais são necessários para esclarecer esta hipótese (WELCH, 2002).

Contudo, os ratos têm uma fitase intestinal com maior atividade que nos humanos e, conseqüentemente, têm maior capacidade para absorver ferro ou zinco de alimentos com alto conteúdo de fitatos. Porém, apesar desta limitação, tem sido sugerido que o rato pode ser útil para classificar alimentos com diferentes combinações de zinco e teores de ácido fítico (RUEL e BOUIS, 1998). Os ratos não são o modelo quantitativo ideal para a avaliação da biodisponibilidade de zinco em humanos, mas podem ser usados para obter estimativas qualitativas da biodisponibilidade (HOUSE *et al.*, 2002).

Diferenças nas enzimas intestinais e atividade microbiana, anatomia intestinal e fisiologia são provavelmente as limitações para extrapolar a biodisponibilidade de modelos animais para humanos. A quantidade total absorvida nos ratos é geralmente muito mais elevada que em humanos, o que poderia indicar que os mecanismos de absorção diferem (SANDSTRÖM, 1997).

4. CONCLUSÃO

A dieta de feijão OB cozido com água de maceração apresentou os melhores níveis na maioria dos parâmetros avaliados, indicando que o zinco fornecido por esta dieta tem uma biodisponibilidade parecida com a dieta padrão, além de que também foi a melhor em comparação às outras dietas testes.

As dietas testes DN, BRS, PER e TL tiveram um comportamento que variou com o parâmetro avaliado. As dietas de feijão TL nos dois tipos de cozimento e DN cozido sem água de maceração foram as que mais diferiram da dieta padrão. Porém, a dieta de feijão TL cozido com água de maceração foi na maioria de parâmetros a que apresentou as médias mais baixas diferindo das outras dietas testes, apresentando a mais baixa biodisponibilidade de zinco.

A dieta de feijão BRS cozido sem água de maceração apresentou as menores médias em relação ao ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar devido à menor quantidade de caseína e alto teor de fibra como consequência da alta quantidade de feijão adicionado para alcançar a concentração de zinco planejada.

O consumo alimentar não foi influenciado pelo cultivar, e nenhuma dieta teste diferiu da dieta padrão, o que indica que a variação dos parâmetros avaliados não respondeu ao consumo de alimento, mas sim a outros fatores nos quais o zinco participa.

Os resultados obtidos em todos os parâmetros considerados não apresentaram um comportamento uniforme para os processamentos nos diferentes cultivares. Portanto, a biodisponibilidade de Zn não dependeu do processo de cozimento.

A razão milimolar fitato/cálcio/zinco foi a melhor ferramenta para prever a biodisponibilidade de zinco. O conteúdo de fitatos, taninos e fibra alimentar não

estiveram associados com a biodisponibilidade de zinco nos feijões. Contudo, não se pode descartar sua contribuição já que quando em um alimento confluem diferentes constituintes capazes de exercer uma ação antinutritiva, como no caso do feijão, a biodisponibilidade mineral não é devido a um único fator, mas sim a um conjunto de características.

Os ratos não são o modelo quantitativo ideal para a avaliação da biodisponibilidade de zinco em humanos, mas podem ser usados para obter estimativas qualitativas da biodisponibilidade.

O zinco é um nutriente limitante em muitas dietas de populações que dependem de feijões como alimento principal, sendo de fundamental importância o estudo da biodisponibilidade deste mineral para planejamento de estratégias a fim de combater deficiências minerais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAYA , D.; URRIETA, R.; GIL, N.M.; MOLANO, N.C.; MEDRANO, I.; CASTEJÓN, H.V. Valores de zinc plasmático en una población infantil marginal de Maracaibo, Venezuela. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.47, n.1, p.23-28, 1997.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Washington, D.C; 1990, p. 800-801; 1105-1106.

BARAMPAMA, 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.

BINDRA, G.S.; GIBSON, R.S.; THOMPSON, L.U. Phytatexcium/zinc ratios in asian immigrant lacto-ovo-vegetarian diets and their relationship to zinc nutriture. **Nutr. Res.**, v. 6, p. 475-483, 1986.

BRANDÃO-NETO, J.; STEFAN, V.; MENDONÇA., B.; BLOISE, W.; CASTRO, A.V.B. The essential role of zinc in growth. **Nutr. Res.**, v. 15, n. 3, p. 335-358,1995.

BRUNE, M.; ROSSANDER, L.; HALLBERG, L. Iron absorption and phenolic compounds: Importance of different phenolic structures. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 43, p. 547-558, 1989.

BRUNE, M.; ROSSANDER-HULTEN, L.; HALLBERG, L.; GLEERUP, A.; SANDBERG, A. Iron absorption from bread in humans: inhibition effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. **J. Nutr.**, v. 122, p. 442-449, 1992.

CARMONA, A.; BORGUDD, L.; BORGES, G.; LEVY-BENSHIMOL, A. Effect of black bean tannins on in vitro carbohydrate digestion and absorption. **J. Nutr. Biochem.**, v. 7, p. 445-450, 1996.

CARRAZA, F. R. Minerales en dietas latinoamericanas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 38, n. 3, p. 599 – 621, 1988.

CHEN, Q-X.; ZHENG, W-Z.; LIN, J-Y.; SHI, Y.; XIE, W-Z.; ZHOU, H-M. Effect of metal ions on the activity of green crab (*Scylla serrata*) alkaline phosphatase. **IJBCB**. v. 32, p. 879-885, 2000.

CHESTERS, J.K. Zn. In: O'DELL, B. L, SUNDE, R.A. (Eds). **Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements**. Missouri, 1997. p.185-230.

COSTA DE OLIVEIRA, A.; QUEIROZ, K.S; HELBIG, E.; REIS, S.M.P.M.; CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 51, No. 3, p. 276-283, 2001.

COUDRAY C.; BOUSSET C.; TRESSOL J.; PEPIN, D.; RAYSSIGUIER, Y. Short-term ingestion of chlorogenic or caffeic acids decreases zinc but not copper absorption in rats, utilization of stable isotopes and inductively-coupled plasma mass spectrometry technique. **British J. Nutr.**, v. 80, p. 574-584, 1998.

DAVIES, N.T.; HRISTIC, V.; FLETT, A. Phytate rather than fibre in bran as the major determinant of zinc availability to rats. **Nutr. Rep. Int.**, v. 15, p. 207-214, 1977.

DIMAI, H.P.; HALL, S.L.; STILT-COFFING, B.; FARLEY, J.R. Skeletal response to dietary zinc in adult female mice. **Calcif. Tissue Int.**, v. 62, n. 4, p. 309-315, 1998.

DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo:Savier, 1998. 403 p.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Arroz e Feijão. URL: <http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/feijão/vereda>, 2003. Consultado em novembro de 2003.

FEDERICO, A.; IODICE, P.; FEDERICO, P.; DEL RIO, A.; MELLONE, M.C, CATALANO, G.; FEDERICO, P. Effects of selenium and zinc supplementation on nutritional status in patients with cancer of digestive tract. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 55, p. 293-297, 2001.

FORDYCE, E.J.; FORBES, R.M.; ROBBINS, K.R.; ERDMAN, J.W. Phytate x calcium/zinc molar ratios: are they predictive of zinc bioavailability? **J. Food Sci.**, v. 52, n. 2, p. 440-444, 1987.

FRANZ, K.B; KENNEDY, B.M.; FELLERS, D. A. Relative bioavailability of zinc from selected cereals and legumes using rat growth. **J. Nutr.**, v. 110, p. 2273-2283, 1980.

GEIL, P.B., ANDERSON, J.W. Nutrition and health implications of dry beans: A review. **J. Am. College Nutr.**, v. 13, n.6, p. 549-558, 1994.

GIBSON, R.S. **Principles of Nutritional Assessment**. Oxford. Estados Unidos. Primeira edição, 1990.

GOMES, J. C. **Análise de Alimentos**. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos, 1996.126 p.

HAN, O.; FAILA, M.L.; HILL, A.D.; MORRIS, E.R.; SMITH JR, J.C. Inositol phosphates inhibit uptake and trans-port of iron and zinc by human intestinal cell line. **J. Nutr.**, v. 124, p. 580-587, 1994.

HARLAND, B.F.; MORRIS, E.R. A good or a bad food component? **Nutr. Res.**, v. 15, n. 5, p. 733-754, 1995.

HARLAND, B. F.; NARULA, G. Foods phytate and its hydrolysis products. **Nutr. Res.**, v. 19, n. 6, p. 947-961, 1999.

HARRIS, D. Copper as a cofactor and regulator of copper, zinc superoxide dismutase. **J. Nutr.**, v. 122, n. 35, p. 636-640, 1992.

HOUSE, W.A. Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. **Field Crops Res.**, v. 60, p. 115-141, 1999.

HOUSE, W.A.; WELCH, R.M.; BEEBE, S., CHENG, Z. Potential for increasing the amounts of bioavailable zinc in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L) through plant breeding. **J. Sci. Food Agric.**, v. 82. p. 1452-1457, 2002.

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

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas**. 3. ed. São Paulo: 1985. v.1,533p.

JACKSON, M.J.; JONES, D.A.; EDWARDS, R.H.T. Tissue zinc levels as an index of body zinc status. **Clinical Physiology**. v. 2, p. 333-343, 1982.

KASARSKIS, E.J.; SCHUMA, A. Serum alkaline phosphatase after treatment of zinco deficiency in humans. **Am. J. Clinical Nutr.**, v. 33, p. 2609-2612, 1980.

KHOKHAR, S.; CHAUHAN, B. M. Antinutritional factors in Moth Bean (*Vigna aconitifolia*): Varietal differences and effects of methods of domestic processing and cooking. **J Food Sci.**, v. 51, n. 3, p. 591-594, 1986.

KING, J.C; KEEN, C. Zinc. In: SHILLS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. **Modern Nutrition in health and disease**. 8.ed. Philadelphia: Lea-Febiger, 1994. p.214-230.

KOURY, J.C; DONANGELO, C.M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 433-441, out/dez., 2003.

KUDO, H.; DOI, Y.; NISHINO, T.; NARA, S.; HAMASAKI, K.; FUJIMOTO, S. Dietary zinc deficiency decreases glutathione S-transferase expression in the rat olfactory epithelium. **J. Nutr.**, v. 130, n. 1, p. 38-44, 2000.

LEONE, F.A.; REZENDE, L.A.; CIANCAGLINI, P.; PIZAURO, J.M. Allosteric modulation of pyrophosphatase activity of rat osseous plate alkaline phosphatase by magnesium ions. **IJBCB**. v. 30, p. 89-97, 1998.

LOMBARDI-BOCCIA, G.; SCHLEMMER, U.; CAPPELLONI, M.; DI LULLO, G. The inhibitory effect of albumin extracts from white beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) on *in vitro* iron and zinc dialysability: role of phytic acid. **Food Chem.**, v. 63, n. 1, p. 1-7, 1998.

LONNERDAL, B. Dietary factors influencing zinc absorption. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1378S-1383S, 2000.

LÖNNERDAL, B.; SANDBERG, A-S.; SANDSTRÖM, B.; KUNZ, C.J. Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. **J. Nutr.**, v. 119, p. 211-214, 1989.

MANGAN, J. L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutr. Res. Rev.**, v. 1, p. 209-231, 1988.

MARTÍNEZ, C.; ROS, G.; PERIAGO, M. J.; ORTUÑO, J.; LÓPEZ, G.; RINCÓN, F. *In vitro* protein digestibility and mineral availability of greenbeans (*Phaseolus vulgaris* L) as influenced by variety and size. **J. Sci. Food Agric.**, v.77, p. 414-420, 1998.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 50, No. 1, p. 5-18, 2000.

O'DELL, B. L. Mineral-Ion Interaction. In: O'DELL, B. L, SUNDE, R. (Eds). **Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements**. Missouri, 1997. p.231-273.

PRASAD, A. Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 53, p. 403-412, 1991.

PRICE, M.L.; SCOYOC, S.; BUTLER, L. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **J. Agric. Food Chem.**, v. 26, n. 5, p. 1214-1218, 1978.

PROSKY, L.; ASP, N.-G.; SCHWEIZER, T.F.; DEVRIES, J.W.; FURDA, I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. Interlaboratory study. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 71, n. 5, p. 1017-1023, 1988.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN - 76 A Rodent Diet. **J. Nutr.**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

REINHOLD, J.; FARADJI, B.; ABADI, P.; ISMAIL-BEIGI, F. Decreased absorption of calcium, magnesium, zinc and phosphorus due to increased fiber and phosphorus consumption as wheat bread. **J. Nutr.**, v. 106, p. 493-503, 1976.

RICKARD, S.E.; THOMPSON, L.U. Interactions and biological effects of phytic acid. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 294-312.

RIMBACH, G.; WALTER, A.; MOST, E.; PALLAUF, J. Effect of microbial phytase on zinc bioavailability and Cadmium and Lead Accumulation in Growing Rats. **Food Chem. Toxic.**, v. 36, p. 7-12, 1998.

RUEL, M.T.; BOUIS, H.E. Plant breeding: a long-term strategy for the control of zinc deficiency in vulnerable populations. **Am. J. Clin. Nutr.**, suppl. 68, p. 488S-494S, 1998.

RUZ, M.; CAVAN, K.; BETTGER, W.; THOMPSON, L.; BERRY, M.; GIBSON, R. Development of a dietary model for the study of mild zinc deficiency in humans and evaluation of some biochemical and functional indices of zinc status. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 53, p. 1295-1303, 1991.

SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 8.0. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. (Software).

SANDBERG, A.-S. Bioavailability of minerals in legumes. **Brit. J. Nutr.**, v. 88. Suppl. 3. S281-S285, 2002.

SANDBERG, A.; AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, hexaphosphates in foods and intestinal contents. **J. Food Sci.**, v. 51, p. 547-550, 1986.

SANDSTRÖM, B. Bioavailability of zinc. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 51, Suppl. 1, S17-S19, 1997.

SATHE, S.K. Dry bean protein functionality. **Crit. Rev. Biotechnol.**, v. 22, n. 2, p. 175-223, 2002

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.

SCHWEDT, G.; TAWALI, A.; KOCH, K. Strategy of analysis for the estimation of the bioavailability of zinc in foodstuffs. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 360, p. 589–594, 1998.

SHAHIDI, F. Beneficial health effects and drawbacks of antinutrients. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 1-9.

SHERMAN, A. Zinc, copper and iron nutrition and immunity. **J. Nutr.**, v. 122, n. 35, p. 604-609, 1992.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 1, n.1, p.1-22, 1991.

TRUMBO, P.; YATES, A.A.; SCHLICKER, A.; POOS, M. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. **J. Am. Diet. Assoc.**, v. 101, p. 294-301, 2001.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCEÉ, H. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics Chem.**, v.57, p. 289-293, 2000.

WELCH, R.M. Breeding Strategies for Biofortified staple plant foods to reduce micronutrient malnutrition globally. **J. Nutr.**, v. 132, p. 495S-499S, 2002.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 3576- 3580, 2000.

WHITEHOUSE, R. Zinc in plasma neutrophils, lymphocytes and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. **Clin. Chem.**, v. 28, n. 3, p. 475-80, 1982.

ZHOU J.; FORDYCE, E.; RABOY, D.; DICKINSON, M.; WONG, M.; BURNS, R.; ERDMAN, J. Reduction of phytic acid in soy products improves zinc bioavailability in rats. **J Nutr.**, v. 122, p. 2466-2473, 1992.

CAPITULO 4

BIODISPONIBILIDADE DE FERRO DE DIFERENTES CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM SUBMETIDOS A TRATAMENTOS DOMÉSTICOS

RESUMO

A baixa ingestão e a baixa biodisponibilidade de ferro constituem as principais causas da anemia ferropriva nos países em desenvolvimento onde as dietas têm por base os grãos e cereais. A presença de fatores antinutricionais nestes alimentos pode afetar a biodisponibilidade mineral. Este estudo avaliou a biodisponibilidade de ferro de cinco cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.): Branco (Ouro Branco), Negro (Diamante Negro) e marrom-rajado (BRS Radiante, Pérola e Talismã) cozidos com água de maceração. Ratos machos Wistar recém desmamados foram submetidos a um período de depleção, de 21 dias com dieta isenta de ferro. Posteriormente, os ratos anêmicos foram divididos em 18 grupos (n=8/grupo) e alimentados por 14 dias com as dietas experimentais. Os feijões foram cozidos e secos junto com o caldo de cocção e moídos, sendo as farinhas adicionadas às dietas dos ratos (AIN-93 G sem ferro) para prover 3 diferentes níveis de ferro (6,12, 24 mg/kg de dieta). Uma dieta padrão forneceu as mesmas concentrações de ferro a partir do FeSO_4 . Foi utilizado um modelo fatorial (6x3),

sendo as dietas dispostas no delineamento em blocos casualizados. Através da análise de regressão foi avaliado o efeito dos níveis de ferro fornecidos sobre o ganho de hemoglobina e hematócrito e por comparação de médias foi avaliada a influência do tipo de cultivar. O feijão Ouro Branco teve biodisponibilidade similar à da dieta padrão e superior aos demais cultivares, enquanto a dieta de feijão BRS Radiante apresentou a menor biodisponibilidade. Fitatos, fibra alimentar e as razões milimolares fitatos:ferro não influenciaram na biodisponibilidade. Porém, o teor de taninos mostrou ser determinante na biodisponibilidade de ferro nos cultivares de feijão estudados.

1. INTRODUÇÃO

A composição de ferro no corpo é de aproximadamente 40 mg/kg nas mulheres e 50 mg/kg nos homens (BAYNES e STIPANUK, 2000). Está distribuído em dois compartimentos principais, constituindo o ferro funcional e o ferro de reserva (BEARD e DAWSON, 1997). O ferro funcional é composto predominantemente pelo ferro na hemoglobina das células vermelhas do sangue, o ferro na mioglobina nos tecidos musculares e o ferro constituinte de proteínas com atividade enzimática. Essas enzimas podem ser agrupadas em heme e não-heme, de acordo com a estrutura do ferro que contêm (FAIRBANKS, 1994; BAYNES e STIPANUK, 2000), conferindo propriedades oxidativas importantes no metabolismo energético e no funcionamento do sistema imune (ZIJP *et al.*, 2000). Ferritina e hemossiderina constituem a reserva de ferro do organismo, que pode ser mobilizado de acordo com as necessidades (BEARD e DAWSON, 1997; ZIJP *et al.*, 2000). No sangue e em outros fluidos corporais, o ferro é transportado pela transferrina (FAIRBANKS, 1994; ZIJP *et al.*, 2000).

A deficiência de ferro é a desordem nutricional provavelmente mais freqüente no mundo (ZIJP *et al.*, 2000) constituindo um sério problema de saúde pública (DEEGAN *et al.*, 2005). Acontece quando a quantidade de ferro total do organismo está diminuída e pode ser causada por ingestão inadequada, absorção deficiente, perda sangüínea crônica ou aumento das necessidades, como na infância, adolescência, e gravidez. Geralmente, é caracterizada por três estágios: Depleção de ferro, Eritropoiese deficiente e Anemia ferropriva, cada um mudando

gradativamente para o outro, de acordo com a gravidade da deficiência (FAIRBANKS, 1994; LYNCH e BAYNES, 1996; BEARD e DAWSON, 1997; SIMÕES *et al.*, 1999). Em países pobres, mais da metade de mulheres grávidas e mais de 40% de mulheres não-grávidas e crianças pré-escolares são anêmicas. A deficiência férrea durante a infância e adolescência prejudicam o crescimento físico, desenvolvimento mental, e a capacidade de aprendizagem e, em adultos, reduz a capacidade para executar trabalho físico, sendo também uma das principais causas de morte durante o parto (BOUIS, 2000).

A Organização Panamericana de Saúde apontou o Brasil como o terceiro país com maior prevalência (35%) de anemia entre as crianças de 1 a 4 anos (NEUMAN *et al.*, 2000). Este problema tem sido motivo de preocupação para o governo brasileiro. Assim, a Portaria N° 710, de 10 de junho de 1999, estabelece uma política decisiva quanto à alimentação e nutrição. Considerando problemas relacionados com deficiência de vitamina A, deficiência de ferro, deficiência de iodo, manutenção de índices ainda insatisfatórios de aleitamento materno exclusivo, obesidade, dislipidemias assim como também diferenciações regionais. A Resolução - RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002, estabelece o Regulamento Técnico para fortificação das farinhas de trigo e das farinhas de milho com ferro e ácido fólico. Devendo cada 100g de farinha de trigo e de farinha de milho fornecerem no mínimo 4,2 mg de ferro e 150 mcg de ácido fólico (ANVISA, 2006).

O ferro dos alimentos é classificado em duas formas, de acordo com seu mecanismo de absorção: a forma orgânica, denominada ferro heme, está presente em tecidos animais e a forma inorgânica ou ferro não heme, está presente tanto em alimentos de origem animal quanto nos alimentos de origem vegetal (DE ANGELIS e CTENAS, 1993; ZIJP *et al.*, 2000). O ferro heme tem elevada absorção, variando de 15 a 35% em humanos sem deficiência férrea e não é influenciado pelos fatores que interferem na absorção do ferro não heme, como a ionização e a capacidade de se ligar a outras substâncias. A biodisponibilidade do ferro não heme varia de 2 a 20% (CARPENTER e MAHONEY, 1992; DE ANGELIS e CTENAS, 1993; ZIJP *et al.*, 2000), dependendo do estado nutricional e da presença na dieta de facilitadores ou inibidores da absorção (TAPIERO *et al.*, 2001).

A baixa ingestão e a baixa biodisponibilidade de ferro constituem as principais causas da anemia ferropriva nos países em desenvolvimento (HURREL, 1997b; MARX, 1997) onde as dietas têm por base os grãos e cereais (MACPHAIL, 2001). O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é especialmente importante para o Brasil, não só, porque o país é o maior produtor mundial, mas também porque é uma das principais fontes de proteína para a população, sendo o consumo atual de cerca de 16 kg/hab/ano (EMBRAPA, 2005; BRIGIDE e CANNIATTI-BRAZACA, 2005). Além de proteína esta leguminosa provê carboidratos complexos, fibra, vitaminas e minerais (MARTINEZ *et al.* 1998; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000), sendo uma das fontes mais abundantes de ferro, variando entre 5 e 6,5 mg/100 g; entretanto, sua importância qualitativa é menor, com uma absorção de apenas 10% (DE ANGELIS e CTENAS, 1993; CHIARADIA e GOMES, 1997). Vários fatores incluindo fibras (BOSSCHER *et al.*, 2001), antinutrientes como certos compostos fenólicos, fitatos e alguns dos produtos de degradação de fitatos contribuem ao baixo valor nutricional das leguminosas devido à redução da biodisponibilidade mineral especialmente de zinco e ferro não-heme (GUSTAFSSON e SANDBERG, 1995; MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000; SANDBERG, 2002). Por outro lado, também são atribuídos efeitos positivos pelo consumo de compostos fenólicos (RICHARD-FORGET *et al.*, 1995), fitatos (FRÜHBECK *et al.*, 1995) e fibras (BIRKETVEDT *et al.*, 2002).

Outros fatores dietéticos que podem deprimir a absorção do ferro não-heme em humanos ou animais de experimentação incluem interações com elementos minerais por causa de propriedades físico-químicas similares ou por ter vias comuns de absorção (HOUSE, 1999). Embora ainda não se saiba com precisão os mecanismos envolvidos na interação cálcio e ferro, vários estudos (COOK *et al.*, 1991; GLEERUP *et al.*, 1995; HALLBERG *et al.*, 1992a,b; MARTINEZ *et al.*, 1999) indicaram que cálcio inibe a absorção de ferro quando ambos são ingeridos concomitantemente, sendo este efeito observado tanto para ferro heme quanto não-heme. A interação poderia ocorrer em nível luminal, com a formação de compostos pouco absorvíveis (MONSEN e COOK, 1976; PRATHER e MILLER, 1992) embora a maioria dos autores sugira que o efeito seria em nível celular (BARTON *et al.*, 1983; HALLBERG *et al.*, 1991), como alteração no nível de borda em escova da membrana na absorção de ferro não-heme (YBARRA *et al.*, 2001). O fato de ter sido observada redução na absorção de ferro heme levou

à sugestão de que a interação também ocorreria em algum estágio posterior, comum ao transporte de ferro-heme e não-heme (HALLBERG *et al.*, 1992a; MARTINEZ *et al.*, 1999), como a inibição na saída do ferro do enterócito (HALLBERG *et al.*, 1992b) e/ou competição pela mobilferrina (VAN DE VIJVER *et al.*, 1999). Por outro lado, estudos confirmaram que a proteína de soja e de outras leguminosas, são importantes inibidores da absorção férrea (HURRELL, 1997a).

Certas substâncias promotoras, como “meat factors”, encontradas na carne animal, o ácido ascórbico e a vitamina A, facilitam a biodisponibilidade de ferro não-heme de alimentos vegetais como o feijão, que contêm altas concentrações de antinutrientes como ácido fítico e taninos (DE ANGELIS e CTENAS, 1993; HOUSE, 1999; WELCH *et al.*, 2000).

Sendo o feijão um dos alimentos básicos da população brasileira o estudo da sua biodisponibilidade é de fundamental importância. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a biodisponibilidade de ferro de cinco cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), com ênfase nos seus teores de taninos, fitatos e fibra alimentar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde, e Laboratório de Espectrofotometria de Absorção Atômica do Departamento de Solos, da Universidade Federal de Viçosa. A determinação de fitatos foi feita no Centro de Biologia Molecular no Federal Research Centre for Nutrition and Food (Alemanha, Dr. Ralph Greiner).

2.1. Cultivares de feijão

As amostras de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizadas foram dos cultivares Ouro Branco (OB), Diamante Negro (DN), BRS Radiante (BRS), Pérola (PER), fornecidas pela EMBRAPA – Arroz e Feijão, localizada em Santo Antônio de Goiás, GO e Talismã (TL), fornecido pela Universidade Federal de Viçosa.

Para a obtenção das farinhas respectivas, os grãos de cada cultivar foram selecionados e submetidos à maceração (proporção feijão: água de 1:2) por 15 h

a temperatura ambiente e cozidos em panela de pressão doméstica, durante 40 minutos depois da saída constante de vapor pela válvula de pressão. Os feijões cozidos foram secos, juntamente com o caldo de cocção, em estufa de ar circulante por 17 h a 60°C, sendo posteriormente moídos em microprocessador e peneirados (20 mesh) o número suficiente de vezes até a obtenção de um pó homogêneo.

- **Caracterização físico-química**

Nos feijões cozidos com água de maceração foram determinados os teores de umidade (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985), proteínas e lipídios (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984).

A determinação do teor de taninos foi realizada de acordo com o método de PRICE *et al.* (1978) com modificações.

A quantificação de fitatos foi realizada segundo a metodologia descrita pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990) e o método cromatográfico (Par iônico, Ultrasep ES 100 RP18, 2x250mm) proposto por SANDGERG e AHDERINNE (1986).

A concentração de ferro foi quantificada por espectrofotometria de absorção atômica usando espectrofotômetro GBC 908 AA (GBC/ Alemanha; Analítica São Paulo Brasil), após a digestão das amostras com mistura de ácido nítrico e ácido perclórico (3:1 v/v) (GOMES, 1996). Diluições apropriadas foram realizadas utilizando água deionizada.

O teor de fibra alimentar total (FAT) foi quantificado de acordo com o método enzimático gravimétrico (PROSKY *et al.*, 1988; AOAC, 1990).

Todas as determinações foram realizadas em triplicata com exceção do teor de fibras que foi realizado em duplicata. Os métodos utilizados em todas as determinações foram descritos no capítulo 2.

- **Ensaio Biológico**

Foram utilizados 144 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*), da linhagem Wistar, recém desmamados, pesando entre 55 e 70 g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em ambiente de temperatura (25±2°C) e luz controladas, em ciclo claro-escuro de 12 h.

O ensaio foi realizado em duas fases: Fase de depleção e Fase de repleção de hemoglobina, segundo metodologia da AOAC (1984). Um grupo de 16 animais foi avaliado no início da fase de depleção a fim de determinar os níveis basais de hemoglobina e hematócrito. Nesta fase, os animais receberam a dieta controle (Tabela 1), baseada na dieta AIN-93G (REEVES *et al.*, 1993), com mistura mineral sem ferro, para induzir anemia ferropriva. Esta dieta e água deionizada foram oferecidas *ad libitum*. Os pesos dos animais e seu consumo alimentar foram registrados semanalmente. Após o período de 21 dias de depleção, foi quantificada a hemoglobina e os animais anêmicos foram divididos, de acordo com o peso e a concentração de hemoglobina de maneira que as médias dos grupos fossem as mais próximas possíveis, iniciando-se a fase de repleção. Nesta fase os animais foram mantidos em suas respectivas dietas experimentais por 14 dias, tempo durante o qual receberam água deionizada *ad libitum*, e ingestão de dieta controlada de aproximadamente 18 g por dia. Os pesos dos animais foram monitorados semanalmente, bem como a ingestão alimentar, calculando-se assim o ganho de peso e o coeficiente de eficiência alimentar ($CEA = \text{ganho de peso (g)} / \text{consumo alimentar (g)} \times 100$).

Ao final deste período, foram realizadas novas dosagens de hemoglobina, e hematócrito, calculando-se o ganho de hemoglobina pela diferença entre os valores obtidos nas fases de repleção e depleção.

A composição das dietas experimentais (Tabela 2) foi baseada também na dieta AIN-93G (REEVES *et al.*, 1993), com mistura mineral sem ferro. As dietas foram devidamente ajustadas para fornecerem três níveis de ferro (6, 12, 24 mg Fe/kg de dieta) procedente do sulfato ferroso (FeSO_4 , dieta padrão) ou dos cultivares de feijão (dietas testes).

Nas dietas testes, a partir do teor de ferro nos cultivares de feijão estabeleceu-se a quantidade de feijão necessária para fornecer os níveis de ferro planejados. Nesta quantidade foi então calculado o teor de proteína adicionando-se caseína para completar em cada dieta o requerimento de proteína (17%), a fim de obter dietas isoprotéicas. No entanto, não foi ajustado o teor de óleo, devido ao baixo conteúdo de lipídios do feijão, e por ser esta leguminosa boa fonte de fibra não foi adicionado celulose, sendo o feijão a única fonte de fibra nas dietas testes. Os ingredientes das dietas foram misturados em bateadeira semi-industrial

(LIEME), com baixa rotação, por 30 min. As dietas prontas foram acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas a 10°C.

Tabela 1 – Composição da dieta controle (Fase de depleção)

Ingredientes	g/kg
Caseína ¹	200
Maltodextrina ²	132
Sacarose ³	100
Óleo de soja ⁴	70
Fibra (celulose microfina) ⁵	50
Mistura de Minerais sem ferro ⁶	35
Mistura de Vitaminas ⁷	10
L-cistina ⁸	3
Bitartarato de Colina ⁹	2,5
Amido de milho q.s.p. ¹⁰	397,50

Fonte: Adaptado de REEVES *et al.*, 1993; isenta de ferro
q.s.p.: quantidade suficiente para completar 1 kg

Marca/Fornecedor:

1 Wenda Company Ltda. /Agroquímica SP Comercial Ltda.. 2 Amidex 182 / Corn products Brasil. 3 Açúcar União/ Comércio de Viçosa. 4 SOYA/ Comércio de Viçosa. 5 Comprecel/ Minjtai Chemical Company Ltda. Taiwan. 6. Laboratório de Nutrição Experimental- UFV-MG-Brasil. 7, 8, 9 Rhoster/ Rhoster- Indústria e Comércio Ltda.. 10 Pink Alimentos-Belo Horizonte/Comércio de Viçosa.

Tabela 2 – Composição das dietas experimentais (g/kg de dieta) (Fase de repleção)

Níveis de ferro	Dietas experimentais																	
	Padrão			OB			DN			BRS			PER			TL		
	6	12	24	6	12	24	6	12	24	6	12	24	6	12	24	6	12	24
Ingrediente (g)																		
Caseína ¹	205,7	205,7	205,7	168,4	131,2	56,8	176,3	147	88,3	167,5	129,3	53,0	173	140,4	75,1	183,6	161,4	117,2
Maltodextrina ²	132	132	132	132	132	131,9	132	132	132	132	132	87,4	132	132	132	132	132	132
Sacarose ³	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Óleo de soja ⁴	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
Fibra (Celulose microfina) ⁵	50	50	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Minerais sem ferro ⁶	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35	35
Vitaminas ⁷	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
L-cistina ⁸	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Bitartarato de Colina ⁹	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Amido de milho q.s.p. ¹⁰	391,8	391,8	391,7	331,4	220,9	-	355,2	268,6	95,25	320,2	198,6	-	340,2	238,5	35,24	378,6	315,3	188,7
Sulfato ferroso ¹¹	0,025	0,050	0,100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OB	-	-	-	147,7	295,4	590,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DN	-	-	-	-	-	-	116	232	464	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	159,8	319,6	639,2	-	-	-	-	-	-
PER	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	134,3	268,6	537,2	-	-	-
TL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	85,4	170,8	341,6

Fonte: Adaptado de REEVES *et al.*, 1993; isenta de ferro

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

q.s.p.: quantidade suficiente para completar 1 kg

Marca/Fornecedor: 1 Wenda Company Ltda. /Agroquímica SP Comercial Ltda.. 2 Amidex 182 / Corn products Brasil. 3 Açúcar União/ Comércio de Viçosa. 4 SOYA/ Comércio de Viçosa. 5 Comprecel/ Minjtai Chemical Company Ltda. Taiwan. 6. Laboratório de Nutrição Experimental- UFV-MG-Brasil. 7, 8, 9 Rhoster/ Rhoster- Indústria e Comércio Ltda.. 10 Pink Alimentos-Belo Horizonte/Comércio de Viçosa. 11. Veteck/Veteck.

- **Análises químicas**

A hemoglobina foi determinada segundo o método do cianeto de metahemoglobina (HiCN), proposto pela AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984), utilizando o kit para diagnóstico colorimétrico *in vitro* da DOLES REAGENTES E EQUIPAMENTOS PARA LABORATÓRIOS LTDA (Goiânia-GO). Nesse método, após a secção de um pequeno segmento da porção terminal da cauda de cada animal, e gotejamento em vidro de relógio, 20

L de sangue foram misturados a 5 mL de uma solução de cianeto e ferricianeto de potássio (solução de Drabkin), sendo o íon ferroso (Fe^{2+}) da hemoglobina oxidado para o estado férrico (Fe^{3+}) pelo ferricianeto de potássio, formando a metahemoglobina, que se combina com o cianeto de potássio originando o cianeto de metahemoglobina, cuja concentração foi medida a 540 nm em espectrofotômetro SHIMADZU UV-1601. A cor resultante nesta reação é de intensidade proporcional ao teor da hemoglobina no sangue (NELSON e MORRIS, 1995).

Para a determinação de hematócrito, o sangue foi coletado diretamente do extremo terminal da cauda por capilaridade. O hematócrito foi quantificado segundo o micrométodo (NELSON e MORRIS, 1995) e conforme as instruções do fabricante do aparelho utilizado (Centrífuga de bancada – Microhematócrito, SIGMA 1-15).

- **Delineamento experimental**

Na fase de repleção, utilizou-se um modelo fatorial 6 x 3 (dietas *versus* níveis de ferro). Os 18 tratamentos foram dispostos no delineamento em blocos casualizados com 8 repetições.

Para o fator qualitativo (dietas) as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para o fator quantitativo (níveis) utilizou-se análise de regressão. Para essas análises, foi utilizado o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, versão 8.0, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Cultivares de feijão

O teor de proteínas, lipídios e ferro dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração encontra-se na Tabela 3. Estes resultados serviram de base para o cálculo das dietas experimentais usadas no ensaio biológico e no caso do ferro também para o cálculo das razões milimolares.

Tabela 3- Teor de proteínas, lipídios e ferro dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base seca.

Cultivares	Umidade (g/100g)	Proteínas (g/100g)	Lipídios (g/100g)	Fe (mg/100g)
OB	20,77	26,29	1,92	5,13
DN	14,26	24,39	2,44	6,03
BRS	22,89	25,61	1,88	4,87
PER	13,59	23,25	2,05	5,17
TL	14,14	24,92	1,88	8,18

Média de três determinações

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Na Tabela 4 estão apresentados os valores de taninos, fitatos, razões milimolares (fitatos:ferro) e fibra alimentar total utilizados na avaliação da biodisponibilidade de ferro.

Tabela 4- Teor de taninos, fitatos (IP5+IP6) e fibra alimentar total (FAT) dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base seca

Cultivares	Taninos ¹ (mg catequina/100g)	IP5+IP6 ¹ (mol/g)	Razões milimolares ¹ (Fitato:ferro/100g)	FAT ² (g/100g)
OB	8,69	23,44	31,77	23,40
DN	18,61	22,25	24,00	28,69
BRS	34,94	22,35	33,24	25,22
PER	18,43	17,90	22,38	26,09
TL	16,57	21,55	17,13	27,03

1 Média de três determinações; 2 Média de duas determinações

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

3.2. Ensaio biológico

Ao início do experimento os dados basais de hemoglobina foram de 12,51 g/dL e 49% de hematócrito. A condição anêmica dos ratos ao final da fase de depleção foi confirmada pela queda no nível de hemoglobina em relação à hemoglobina basal variando entre 7,61 a 8,38 g/dL de hemoglobina as médias dos 18 grupos.

Na Tabela 5 encontram-se as médias dos parâmetros sanguíneos nas diferentes dietas nos respectivos níveis de ferro.

Tabela 5- Ganho de hemoglobina (GHb) e hematócrito (HEM) nos ratos em função de diferentes dietas nos diferentes níveis de ferro.

NF	GHb (g/dL)			HEM (%)		
	6	12	24	6	12	24
Dietas						
Padrão	2,55±0,12a	4,23±0,07ab	6,28±0,68a	41,88±1,14a	44,13± 1,33ab	45,13±1,73a
OB	2,51±0,10a	4,27±0,25a	5,76±0,26ab	39,63±1,98ab	45,75± 2,20a	44,25± 2,04a
DN	1,88±0,08ab	3,84±0,08abc	5,20±0,04b	37,13±1,17ab	41,00± 0,78ab	43,75±1,58a
BRS	1,30±0,13b	2,61±0,19d	4,14±0,06c	35,00±1,28b	42,38± 0,60ab	43,75±0,56a
PER	1,79±0,05ab	3,04±0,31cd	4,13±0,51c	38,38±0,91ab	42,38± 0,91ab	44,13±1,03a
TL	1,57±0,06ab	3,29±0,13bcd	4,09±0,21c	37,13±1,86ab	39,38± 0,65b	43,13±0,86a

média ± desvio padrão

NF: Níveis de ferro

Padrão: FeSO₄

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

Dentro de cada nível de ferro, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste TUKEY.

Verifica-se que para ganho de hemoglobina a dieta de feijão OB não diferiu da dieta padrão ($P>0,05$) em nenhum dos níveis. As outras dietas de feijão apresentaram diferença significativa ($P<0,05$) com a dieta padrão em diferentes níveis.

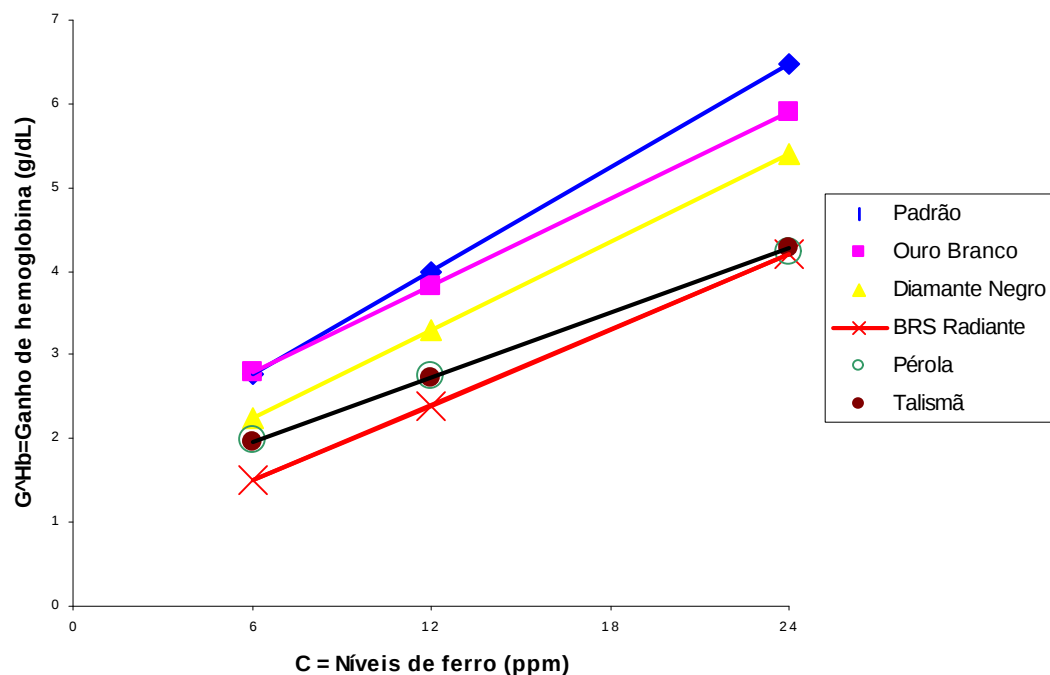
Observa-se também que entre as dietas de feijão houve influência do tipo de cultivar no ganho de hemoglobina nos três níveis de ferro, sendo que as dietas de feijão OB e DN não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) em nenhum dos três níveis, mas sempre o ganho de hemoglobina dos ratos alimentados com a dieta de feijão OB foi superior a todos os outros grupos em todos os níveis. As dietas de feijão BRS, PER e TL apresentaram ganhos de hemoglobina similares

em cada um dos três níveis que não foram significativamente diferentes ($P>0,05$), sendo que os ratos alimentados com a dieta de feijão BRS tiveram o ganho mínimo de hemoglobina nos níveis 6 e 12 em relação a todos os grupos.

SANTOS *et al.* (1996) conseguiram um ganho de hemoglobina de 6,75 g/dL em ratos que receberam 25 mg Fe/kg de dieta procedente de sulfato ferroso, similar ao ganho obtido neste experimento que foi de 6,28 g/dL quando a concentração de ferro foi de 24 mg Fe/kg (Tabela 5).

Com respeito ao hematócrito diferiu da dieta padrão ($P<0,05$) a dieta de feijão BRS só no nível 6. As outras dietas não diferiram da dieta padrão ($P>0,05$) em nenhum dos níveis de ferro. Avaliando o efeito dos cultivares de feijão, só houve diferença significativa ($P<0,05$) entre as dietas de feijão OB e TL no nível 12. Nos demais níveis não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os cultivares (Tabela 5).

A Figura 1 mostra, o efeito dos níveis de ferro sobre o ganho de hemoglobina.



Padrão
 $G^{Hb} = 1,5206 + 0,2064^{**}C$
 $R^2 = 0,9820$

Ouro Branco
 $G^{Hb} = 1,7650 + 0,1723^{**}C$
 $R^2 = 0,9433$

Diamante Negro
 $G^{Hb} = 1,1956 + 0,1746^{**}C$
 $R^2 = 0,9152$

BRS Radiante
 $G^{Hb} = 0,6025 + 0,1502^{**}C$
 $R^2 = 0,9826$

Pérola
 $G^{Hb} = 1,2444 + 0,1245^{**}C$
 $R^2 = 0,9501$

Talismã
 $G^{Hb} = 1,1700 + 0,1294^{**}C$
 $R^2 = 0,8501$

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste F

Figura 1- Estimativa do ganho de hemoglobina (G^{Hb}) em função de níveis de ferro (C) nas dietas experimentais

Na Figura 1, observa-se o incremento no ganho de hemoglobina à medida que aumenta a concentração de ferro em todas as dietas utilizadas tanto padrão quanto testes (cultivares de feijão).

Nos primeiros estudos realizados em pintinhos sobre o método de repleção de hemoglobina foi observado que a resposta da hemoglobina frente a diferentes níveis de sulfato ferroso foi mais consistente que a resposta de hematócrito, embora as diferenças entre ambos foram pequenas (WIENK *et al.*, 1999).

Hemoglobina e hematócrito nem sempre estão completamente inter-relacionados (KIM e ATALLAH, 1992), mas normalmente os resultados são semelhantes (WIENK *et al.*, 1999). As amostras que coagularam no tubo capilar foram descartadas, o que reduziu o tamanho amostral e, provavelmente contribuiu para a grande variabilidade de resultado e baixa correspondência com o teor de hemoglobina assim como para o alto desvio padrão observado no hematócrito (Tabela 5).

A Tabela 6 apresenta os valores médios para ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar das combinações das dietas com os respectivos níveis de ferro. Verifica-se que só a dieta de feijão TL diferiu da dieta padrão ($P < 0,05$) nos níveis 6 e 12 em relação ao ganho de peso, com médias maiores. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as dietas de feijão no referente ao ganho de peso.

Para consumo alimentar nenhuma dieta de feijão diferiu da dieta padrão ($P > 0,05$), mas entre as dietas de feijão houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre a dieta de feijão BRS e as dietas de feijão OB e PER no nível 24, apresentando os animais que receberam a dieta de feijão BRS Radiante o menor consumo de alimento.

Em relação ao coeficiente de eficiência alimentar, diferiram da dieta padrão ($P < 0,05$) a dieta de feijão TL no nível 6 e a dieta de feijão DN no nível 12. Ambas as dietas apresentaram médias maiores que a padrão nos respectivos níveis. Entre as dietas de feijão só se observou diferença significativa ($P < 0,05$) entre a dieta de feijão BRS e TL no nível 24, apresentando média maior os animais alimentados com a dieta de feijão TL.

Tabela 6- Ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) em função de diferentes dietas nos diferentes níveis de ferro (NFe)

NFe	GP (g)			CA (g)			CEA (%)		
	6	12	24	6	12	24	6	12	24
DT									
P	58,00±6,54b	61,13±8,23b	69,25±5,87a	232,96±4,61a	236,67±6,06a	232,22±6,81ab	24,67±2,50b	25,33±2,95b	29,49±1,88ab
OB	70,38±7,45ab	68,00±9,36ab	78,38±2,78a	231,12±7,62a	218,66±13,76a	240,74±1,71a	29,91±2,51ab	30,07±2,75ab	32,55±1,12ab
DN	77,25±3,14ab	79,88±5,37ab	74,50±4,96a	241,47±3,44a	238,11±4,65a	237,82±2,91ab	31,94±1,04ab	33,48±2,10a	31,31±2,04ab
BRS	76,63±5,61ab	67,75±5,83ab	55,88±15,67a	236,17±5,77a	234,02±5,36a	212,49±34,62b	32,41±2,21ab	28,65±2,08ab	25,84±4,36b
PER	74,50±4,66ab	69,00±4,20ab	79,13±4,60a	242,60±2,34a	224,88±9,88a	240,18±3,29a	30,63±1,74ab	30,64±1,32ab	32,90±1,81ab
TL	86,75±3,93a	92,00±12,78a	78,50±4,61a	238,64±4,29a	245,79±1,33a	223,49±10,65ab	36,49±1,92a	33,04±0,82ab	35,26±1,67a
Média ± desvio padrão									

NFe: Níveis de ferro

DT: Dietas

P: Dieta Padrão: FeSO₄

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

Dentro de cada nível de ferro, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste TUKEY.

Como se observa na Tabela 2, para alcançar os níveis de ferro planejados, a quantidade de feijão TL foi menor devido ao fato desse cultivar apresentar alta concentração de ferro (Tabela 3). Sendo o feijão a única fonte de fibra das dietas testes, a dieta de feijão TL teve uma concentração de fibra de 23,08; 46,17 e 92,32 g/kg de dieta nos níveis 6, 12 e 24, respectivamente. A dieta padrão continha 50,00 g de fibra/kg de dieta nos três níveis, o que pode ter provocado maior ganho de peso nos animais que receberam a dieta TL nos níveis 6 e 12. Nas outras dietas só no nível 6 a concentração de fibra foi menor que a dieta padrão mas não o suficiente para provocar diferença no ganho de peso.

A deficiência de ferro vai se estabelecendo lentamente, e a anemia é estabelecida quando o número e o tamanho dos glóbulos vermelhos, assim como a quantidade de hemoglobina, estão modificados em relação ao normal e no caso de anemia ferropriva é caracterizada por ser microcítica e hipocrômica (DE ANGELIS e CTENAS, 1993; DALLMAN, 1996). Sintomas gastrointestinais como falta de apetite, flatulência, incômodo epigástrico, náuseas, vômitos, constipação ou diarreia são comuns na anemia (FAIRBANKS, 1994; MAHAN e ESCOTT-STUMP, 1998). O grupo que recebeu a dieta de feijão BRS se caracterizou por apresentar diarreia e, junto com o menor consumo de alimento, pode-se considerar resultado de uma deficiência férrea, sendo que este grupo conseguiu uma recuperação do estado anêmico da primeira fase do experimento, porém, foi menor em comparação às dietas Padrão, e de feijão OB e DN, mas muito similar às dietas de feijão PER e TL (Figura 1, Tabela 5).

Devido ao fato de o feijão BRS ser o cultivar com menor teor de ferro (Tabela 3), a quantidade de feijão BRS que foi adicionado para alcançar os níveis de ferro foi a mais alta entre todos os cultivares (Tabela 2). Como consequência a quantidade de fibra das dietas com feijão BRS foi também elevada sendo de 40,30; 80,60, e 161,21 g/kg de dieta nos níveis 6, 12 e 24, respectivamente. A recomendação de fibras para os ratos em fase de crescimento segundo dieta AIN-93G (REEVES *et al.*, 1993), é de 50 g de fibra/kg de dieta. Este aumento progressivo de fibra pode ter influenciado no consumo alimentar, ganho de peso e como consequência no coeficiente de eficiência alimentar conforme aumentava a concentração de ferro requerida.

Segundo ADA REPORTS (2002), uma dieta rica em fibra fornece menos densidade calórica e aumenta a saciedade diminuindo a ingestão e a disponibilidade energética da dieta contribuindo para a redução do peso corporal.

Deve-se considerar também que ao adicionar feijão nas dietas testes (cultivares de feijão) foram substituídos na dieta original (dieta padrão) além da fibra os carboidratos por ela fornecidos (Tabela 2). Por outro lado, a proteína da dieta padrão foi fornecida pela caseína, uma proteína de alto valor biológico enquanto a proteína das dietas testes foi fornecida em parte pelo próprio feijão e por uma porção da caseína. Assim, a densidade calórica e de nutrientes entre as dietas não era equivalente.

Entre as dietas testes a dieta de feijão TL teve a maior quantidade de caseína adicionada e a dieta de feijão BRS a menor quantidade. A caseína apresenta efeito inibitório na absorção férrea que poderia ser atribuído ao complexo caseína-fosfopeptídeos formado no processo digestivo que liga o ferro formando um composto insolúvel (HURRELL, 1997a; HURRELL, 1997b).

Considerando que os cultivares apresentaram diferentes concentrações de taninos, fitatos e fibras (Tabela 4) que tendem a diminuir a biodisponibilidade de ferro (ZIJP *et al.*, 2000; BOSSCHER *et al.*, 2001; BOSSCHER *et al.*, 2003) e sendo diferente a quantidade de feijão entre as dietas testes, foi calculado o consumo de fitatos (Tabela 7), taninos e fibras (Tabela 8) e razões milimolares (fitatos:ferro) (Tabela 9) dos animais durante os 14 dias que durou a fase de repleção. Foi observado em todos os casos que este consumo dependeu do cultivar ($P < 0,05$). O consumo de fitatos nos níveis 6 e 12, e de taninos e fibras nos três níveis foi maior para os animais que receberam a dieta de feijão BRS. No nível 24 o consumo de fitatos foi maior para os animais alimentados com a dieta de feijão OB. O menor consumo de taninos nos três níveis tiveram os animais que consumiram a dieta de feijão OB. O menor consumo de fitatos e fibras em todos os níveis foi para os animais alimentados com a dieta de feijão TL.

Tabela 7- Consumo de fitatos (IP6+IP5), nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante a fase de repleção

NFe	Consumo de IP6+IP5 ($\mu\text{mol}/14\text{dias}$)		
	6	12	24
DT			
OB	800,20 $\pm$ 26,38ab	1514,16 $\pm$ 95,31a	3334,03 $\pm$ 23,71a
DN	623,19 $\pm$ 8,89abc	1228,94 $\pm$ 23,97b	2454,93 $\pm$ 30,06c
BRS	843,45 $\pm$ 20,60a	1671,47 $\pm$ 38,27a	3035,42 $\pm$ 174,86b
PER	583,16 $\pm$ 5,63bc	1081,15 $\pm$ 47,52bc	2309,34 $\pm$ 31,64c
TL	439,18 $\pm$ 7,89c	904,6 $\pm$ 4,89c	1645,19 $\pm$ 78,40d

Média $\pm$ desvio padrão

NFe: Níveis de ferro

DT: Dietas Testes

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL

Dentro de cada nível de ferro, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste TUKEY.

Tabela 8- Consumo de taninos e fibra alimentar total (FAT) nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante a fase de repleção

NFe	Consumo de taninos (mg catequina/14dias)			Consumo de FAT (g/14 dias)		
	6	12	24	6	12	24
DT						
OB	2,45 $\pm$ 0,08c	4,64 $\pm$ 0,29c	10,21 $\pm$ 0,07d	7,62 $\pm$ 0,25ab	14,44 $\pm$ 0,91b	31,76 $\pm$ 0,23ab
DN	4,57 $\pm$ 0,06bc	9,02 $\pm$ 0,18b	18,01 $\pm$ 0,22c	7,53 $\pm$ 0,11ab	14,84 $\pm$ 0,29b	29,65 $\pm$ 0,36b
BRS	10,53 $\pm$ 0,26a	20,86 $\pm$ 0,48a	37,90 $\pm$ 2,18a	8,99 $\pm$ 0,22a	17,81 $\pm$ 0,41a	32,35 $\pm$ 1,86a
PER	5,24 $\pm$ 0,05b	9,71 $\pm$ 0,43b	20,75 $\pm$ 0,28b	8,13 $\pm$ 0,08a	15,08 $\pm$ 0,66b	32,27 $\pm$ 0,46a
TL	2,89 $\pm$ 0,05 bc	5,94 $\pm$ 0,03c	10,81 $\pm$,52d	5,17 $\pm$ 0,09b	10,64 $\pm$ 0,06c	19,35 $\pm$ 0,92c

Média $\pm$ desvio padrão

NFe: Níveis de ferro

DT: Dietas Testes

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

Dentro de cada nível de ferro, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste TUKEY.

Os feijões comuns (*Phaseolus vulgaris* L.) contêm principalmente taninos condensados (SATHE, 2002), que são compostos fenólicos que consistem de oligômeros de catequinas ou leucoantocianidinas e resíduos flavonóides (MANGAN, 1988; CARMONA *et al.*, 1996). De forma geral, os polifenóis podem ser ordenados da seguinte maneira com relação a seu efeito sobre a biodisponibilidade mineral: ácido gálico > ácido clorogênico = ácido cafeíco > catequinas (BRUNE *et al.*, 1989). Os compostos fenólicos têm sido categorizados como potentes inibidores da absorção de ferro (BRUNE *et al.*, 1991), presumivelmente durante a digestão, os compostos fenólicos são liberados do alimento unindo-se ao ferro através dos grupos hidroxilas e carboxílicos no lumen gastrointestinal, formando complexos insolúveis, tornando o ferro indisponível para absorção e reduzindo sua biodisponibilidade (BRUNE *et al.*, 1991; HOUSE, 1999; MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000). A quantidade de grupos fenólicos que ligam ferro nos alimentos corresponde ao grau de inibição da absorção de ferro (BRUNE *et al.*, 1989).

Segundo HOUSE e VAN CAMPEN (1994), a concentração de taninos de feijão comum (*Phaseolus Vulgaris*, L.) na dieta deve exceder 0,12% para que a absorção de ferro seja prejudicada. No presente estudo, a máxima concentração de taninos esteve na dieta de feijão BRS, mas em nenhum dos três níveis de ferro chegou a ser maior ao 0,12%. Observou-se, porém, a influência dos taninos na biodisponibilidade de ferro, sendo a maior biodisponibilidade (ganho de hemoglobina) nos animais que consumiram o menor teor de taninos, alimentados com a dieta de feijão OB e a menor biodisponibilidade nos animais que consumiram a maior concentração de taninos, alimentados com a dieta de feijão BRS.

Cereais e leguminosas são freqüentemente ricos em fibra associada a fatores antinutricionais (principalmente fitatos, polifenóis e oxalatos) (FRØLICH, 1995), que reduzem a biodisponibilidade mineral (LESTIENNE *et al.*, 2005). A capacidade da fibra alimentar para ligar íons de minerais polivalentes como foi observado em estudos *in vitro* pode ter um efeito negativo na biodisponibilidade de minerais (CARRAZZA, 1988; TORRE *et al.*, 1991). Especificamente, os ácidos urônicos são os responsáveis por essa ligação, mas em muitos casos não é possível separar os efeitos dos fitatos que existem nessas preparações. Estudos *in vivo* são limitados e

as conclusões são difíceis (CARRAZZA, 1988). Para SANDBERG e SVANBERG (1991), o efeito dos fitatos na biodisponibilidade de ferro é maior do que das fibras, já que a absorção de ferro aumentou consideravelmente em farelo de trigo após a remoção de fitatos, sendo igual em amostras com baixo teor de fibras.

O ácido fítico está extensamente presente nos grãos em cereais e sementes de leguminosas e é o fator principal na baixa biodisponibilidade de ferro destes alimentos (HURRELL, 1997a). O grau em que a absorção mineral é prejudicada vai depender tanto da concentração relativa de ácido fítico e do mineral como também da força da ligação (RICKARD e THOMPSON, 1997; MARTINEZ DOMINGUEZ *et al.*, 2002).

O hexafosfato de inositol (IP6) e pentafofosfato de inositol (IP5) são as formas de ácido fítico que reduzem a biodisponibilidade de zinco e ferro, enquanto os fitatos com menor grau de fosforilação como tetrafosfato de inositol (IP4) e trifosfato de inositol (IP3) exercem mínimo ou nenhum efeito (LOMBARDI-BOCCIA *et al.*, 1998; LONNERDAL, 2000). Já VILLAVICENCIO *et al.* (2000) sugerem que IP3 e IP4 contribuem ao efeito negativo na absorção de ferro de alimentos processados por interação com os inositol fosfatos altamente fosforilados, resultando em um incremento na capacidade da ligação mineral. Considerando que a degradação de fitatos não só de IP5 e IP6, como também de IP3 e IP4 em cereais e produtos de soja, por exemplo, poderia melhorar a absorção de ferro destes alimentos.

Deste modo, o grau de ação inibitória dos inositol fosfatos na absorção mineral depende do grau de fosforilação (LÖNNERDAL *et al.*, 1989; BRUNE *et al.*, 1992; HAN *et al.*, 1994). Ainda não são conhecidas as razões para isto, mas é possível que sejam exigidos muitos grupos fosfato para formar a forte associação entre o íon mineral e o inositol fosfato (LÖNNERDAL *et al.*, 1989). Deste modo, a determinação só de IP6 não permite uma informação completa da inibição de zinco e ferro, conseqüentemente a quantificação dos inositol fosfatos é de importância nutricional (LOMBARDI-BOCCIA *et al.*, 1998).

Para LESTIENNE *et al.* (2005), a relação molar fitatos:Fe está associada com a capacidade de absorção de ferro. No presente estudo, o maior consumo dessa relação molar foi nos animais alimentados com dietas de feijão OB e BRS e menor

no feijão TL (Tabela 9). Segundo LESTIENNE *et al.* (2005), uma relação molar de 70 seria a causa da baixa absorção de ferro reportada em estudos *in vivo* com dietas à base de soja. Já SAHA *et al.* (1994) reportaram que a absorção de ferro em ratos diminuiu significativamente quando a relação molar fitato:Fe foi maior que 14 em dietas contendo farinha de trigo. SANGHA *et al.* (1998), estudando diferentes cultivares de trigo, observaram que aquelas com alta biodisponibilidade de ferro apresentavam também baixas relações molares de fitato:Fe.

Tabela 9- Consumo de razões milimolares (fitato:ferro) nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante a fase de repleção

NFe	Razões milimolares (fitato:ferro/14dias)		
	6	12	24
DT			
OB	10,83 ± 0,36a	20,51±1,29 b	45,19 ±0,32a
DN	6,71 ±0,10b	13,26 ±0,26c	26,49 ±0,32b
BRS	12,54 ±0,31a	24,85 ±0,57a	45,14 ±2,60a
PER	7,30 ±0,07b	13,54 ±0,60c	28,92 ±0,40b
TL	3,48 ±0,06c	7,18 ±0,04d	13,05 ±0,60c

Média ± desvio padrão

NFe: Níveis de ferro

DT: Dietas Testes

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

Dentro de cada nível de ferro, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si, ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste TUKEY.

Embora indicado na literatura que fitatos, razões milimolares (fitatos:Fe) e fibra alimentar estariam influenciando na biodisponibilidade de ferro, no presente estudo isto não foi observado. Similarmente, WELCH *et al.* (2000), estudando 24 cultivares de feijão cultivados por métodos hidropônicos, avaliaram a biodisponibilidade de ferro em ratos utilizando a técnica da medida da retenção do isótopo ⁵⁹Fe no corpo inteiro e concluíram que os teores de fitatos e taninos não influenciaram na biodisponibilidade. Em estudo com humanos, WELCH (2002) observou que, sob condições experimentais, o ácido fítico não apresentou um marcado efeito negativo

na biodisponibilidade de zinco e ferro. O autor relata uma possível adaptação a altas concentrações de fitatos nas refeições, provocando uma mudança no balanço negativo de ferro observado nos primeiros 5 dias para um balanço positivo após 10 dias do experimento. Este autor sugere ainda que a composição da dieta e a população de microrganismos presentes no intestino seriam importantes fatores nos efeitos de fitatos na biodisponibilidade de ferro e zinco e que estudos adicionais seriam necessários para esclarecer esta possibilidade.

O uso do rato como modelo animal para a avaliação da biodisponibilidade de ferro em humanos tem sido questionado. A taxa de absorção de ferro normalmente é muito mais alta em ratos, de forma que promotores e inibidores da absorção que têm um efeito profundo no homem, têm uma resposta limitada em ratos (REDDY e COOK, 1991; HURRELL, 1997a). Os ratos, ao contrário dos humanos, absorvem íons férrico e ferroso de maneira similar (REDDY e COOK, 1991; SANTOS *et al.*, 1996), sintetizam ácido ascórbico que interfere positivamente na biodisponibilidade de ferro, além de possuir fitase, enzima capaz de desfazer quelatos do tipo fitato-minerais, aumentando a biodisponibilidade do mineral para absorção intestinal (WIENK *et al.*, 1999). Portanto, é possível que ao utilizar ratos como modelos, a biodisponibilidade em relação a humanos possa ser superestimada.

Por outro lado, apesar destas considerações, estudos realizados por FORBES *et al.* (1989) não indicaram grandes diferenças nos resultados obtidos com ratos (método de repleção de hemoglobina) e humanos (isótopos), sugerindo que o método de repleção de hemoglobina é um bom modelo para prever a biodisponibilidade de ferro na espécie humana, já que o uso de isótopos radioativos em voluntários, é acompanhado freqüentemente pelo risco da administração, embora seja esta a mais poderosa técnica utilizada para o estudo da biodisponibilidade em humanos (SANTOS *et al.*, 1996). Segundo WELCH *et al.* (2000), os ratos não são o modelo ideal para a determinação da biodisponibilidade de ferro em humanos, mas podem ser usados para obter estimativas qualitativas da biodisponibilidade de ferro dos principais alimentos, que permitiriam classificar genótipos promissores destes alimentos para uso posterior em programas de alimentação com humanos, reduzindo assim o número de genótipos que teriam que ser testados.

4. CONCLUSÃO

O método de repleção de hemoglobina utilizado para avaliar a biodisponibilidade de ferro nos cultivares de feijão permitiu observar que a dieta de feijão OB teve uma biodisponibilidade similar à da dieta padrão e superior a todos os outros cultivares e a dieta de feijão BRS apresentou a menor biodisponibilidade.

Na estimativa da biodisponibilidade de ferro deve ser considerada a presença de promotores e inibidores presentes na dieta. Fitatos, fibra alimentar e as razões milimolares fitatos:ferro não influenciaram na biodisponibilidade. Porém, o teor de taninos mostrou ser determinante na biodisponibilidade de ferro nos cultivares de feijão.

A variação na densidade calórica, no teor de fibras e de outros nutrientes e fatores antinutricionais entre as dietas, devido à diferença de quantidades de feijão que foram adicionadas para chegar aos níveis de ferro planejados, pode ter influenciado no ganho de peso, consumo alimentar e no coeficiente de eficiência alimentar.

O modelo animal, apesar de apresentar algumas limitações, foi capaz de discriminar, com baixos custos, a biodisponibilidade de ferro de diferentes cultivares de feijão comum. Sendo o feijão o alimento básico da dieta brasileira, estudos de biodisponibilidade mineral se tornam fundamentais para planejamento de estratégias para combater problemas nutricionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADA REPORTS. Position of the american dietetic association: health implications of dietary fiber. **J ADA**. v. 102, n. 7, p. 993-1000, 2002.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. URL: <http://www.anvisa.gov.br>. Consultado em março de 2006.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 15. ed. Washington, D.C; 1990, p. 800-801; 1105-1106.

BARTON, J.C; CONRAD, M.E.; PARMLEY, R.T. Calcium inhibition of inorganic iron absorption in rats. **Gastroenterol.**, v. 84., p. 90-101, 1983.

BAYNES, R.D.; STIPANUK, M.H. Iron. In: STIPANUK, M.H. **Biochemical and physiological aspects of human nutrition.** Philadelphia: Saunders Company, 2000. p. 711 – 740.

BEARD, J.L.; DAWSON, H.D. Iron. In: O'DELL, B., SUNDE, R. (Eds.) **Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements.** Missouri, 1997. p. 275 - 334.

BIRKETVEDT, G.S.; TRAVIS, A.; LANGBAKK, B.; FLORHOLMEN, J.R. Dietary supplementation With Bean extract improves lipid profile in overweight and obese subjects. **Nutr.**, v. 18, p. 729 –733, 2002.

BOSSCHER, D.; CAILLIE-BERTRAN, M.V.; DEELSTRA, H. Effect of thickening agents, based on soluble dietary fiber, on the availability of calcium, iron, and zinc from infant formulas. **Nutr.**, v. 17, p. 614-618. 2001.

BOSSCHER, D.; CAILLIE-BERTRAN, M.V.; VAN, R.; DEELSTRA, H. Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutr.**, v. 19, p. 641-645, 2003.

BOUIS, H.E. Enrichment of food staples through plant breeding: A new strategy for fighting micronutrient malnutrition. **Nutr.**, v. 16, n. 7/8, p. 701-704, 2000.

BRIGIDE, P.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Antinutrients and “in vitro” availability of iron in irradiated common beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Chem., In Press**, Corrected Proof, Available online 28 July 2005.

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

BRUNE, M.; ROSSANDER, L.; HALLBERG, L. Iron absorption and phenolic compounds: Importance of different phenolic structures. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 43, p. 547-558, 1989.

BRUNE, M.; ROSSANDER-HULTEN, L.; HALLBERG, L.; GLEERUP, A.; SANDBERG, A. Iron absorption from bread in humans: inhibition effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. **J. Nutr.**, v. 122, p. 442-449, 1992

CARMONA, A.; BORGUDD, L.; BORGES, G.; LEVY-BENSHIMOL, A. Effect of black bean tannins on in vitro carbohydrate digestion and absorption. **J. Nutr. Biochem.** v. 7, p. 445-450, 1996.

CARPENTER, C.E.; MAHONEY, A.W. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 31, n.4, p.333-367, 1992.

CARRAZA, F. R. Minerales en dietas latinoamericanas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 38, n. 3, p. 599 – 621, 1988.

CHIARADIA, A.C.N.; GOMES, J.C. **Feijão: Química, Nutrição e Tecnologia**. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1997. 180 p.

COOK, J.D.; DASSENKO, S.A.; WHITTAKER, P. Calcium supplementation: effect on iron absorption. **Am J Clin Nutr.**, v. 53, n. 1, p. 106-111, 1991.

DALLMAN, P.R. Diagnóstico laboratorial da deficiência de ferro no lactente e na criança pequena. **Anais Nestlé.** v. 52, p. 18-24, 1996.

DE ANGELIS, R.C., CTENAS, M.L.B. **Biodisponibilidade de ferro na alimentação infantil**. São Paulo: Serviço de Informação Científica Nestlé. (Temas de Pediatria, 52), 1993. 53 p.

DEEGAN, H.; BATES, H.M.; McCARGAR, L.J. Assessment of iron status in adolescents: dietary, biochemical and lifestyle determinants. **J Adolescent Health**, v. 37, p. 75.e15–75.e21, 2005.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Arroz e Feijão. URL: <http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/feijão/2005>. Consultado em novembro de 2005.

FAIRBANKS, V.F. Iron in medicine and nutrition. In: SHILLS, M.E., OLSON, J.A., SHIKE, M. **Modern Nutrition in health and disease**. 8.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. p.185–213.

FORBES, A. L., ADAMS, C.E., ARNAUD, M.J. *et al.* Comparison of in vitro, animal and clinical determinations of iron bioavailability: International Nutrition Anemia Consultative Group Task Force report on iron bioavailability. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.49, p.225–238, 1989.

FRØLICH, W. Bioavailability of micronutrients in a fibre-rich diet, especially related to minerals. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 49, n. S3, p. 116-122, 1995.

FRÜHBECK, G.; ALONSO, R.; MARZO, F.; SANTIDRIÁN, S.A. Modified method for the indirect quantitative analysis of phytate in foodstuffs. **Anal. Biochem.**, v. 225, p. 206-212, 1995.

GLEERUP, A.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; GRAMATKOVSKI, E.; HALLBERG, L. Iron absorption from the whole diet: comparison of the effect of two different distributions of daily calcium intake. **Am J Clin Nutr.**, v. 61, n. 1, p. 97-104, 1995.

GOMES, J. C. **Análise de Alimentos**. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos, 1996.126 p.

GUSTAFSSON, E.; SANDBERG, A. Phytate reduction in brown beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.** v. 60, p. 149-152, 1995.

HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ERLANDSSON, M.; SANDBERG, A.S.; ROSSANDER-HULTÉN, L. Calcium: effect of different amounts on nonheme –and heme-iron absorption in humans. **Am J Clin Nutr.**, v. 53, n. 1, p. 112-119, 1991.

HALLBERG, L.; ROSSANDER-HULTÉN, L.; BRUNE, M.; GLEERUP, A. Inhibition of heme-iron absorption in man by calcium. **Br. J. Nutr.**, v. 69, n. 2, p. 533-540, 1992a.

HALLBERG, L., ROSSANDER-HULTÉN, L., BRUNE, M., GLEERUP, A. Calcium and iron absorption: mechanisms of action and nutritional importance. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 46, n. 5, p. 317-327, 1992b.

HAN, O., FAILA, M.L., HILL, A.D., MORRIS, E.R., SMITH JR, J.C. Inositol phosphates inhibit uptake and trans-port of iron and zinc by human intestinal cell line. **J. Nutr.**, v. 124, p. 580-587, 1994.

HOUSE, W.A. Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. **Field Crops Res.**, v. 60, p. 115-141, 1999.

HOUSE, W.A.; VAN CAMPEN, D.R. Iron absorption by rats fed tannins extracted from bean hulls. **Nutr. Res.**, v. 14, p. 1043-1053, 1994.

HURRELL, R. F. Preventing iron deficiency through food fortification. **Nutr. Rev.**, v. 55, n. 6, p.210–222, 1997b.

HURRELL, R.F. Bioavailability of iron. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v.51, Suppl. 1, S4-S8, 1997a.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas**. 3. ed. São Paulo: 1985. v.1,533p.

KIM, M.; ATALLAH, M.T. Structure of dietary pectin, iron bioavailability and hemoglobin repletion in anemic rats. **J Nutr.**, v. 122, p. 2298–2305, 1992.

LESTIENNE, I.; ICARD-VERNIÈRE, C.; MOUQUET, C.; PICQ, C.; TRÈCHE, S. Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chem.**, v. 89, p. 421-425, 2005.

LOMBARDI-BOCCIA, G.; SCHLEMMER, U.; CAPPELLONI, M.; DI LULLO, G. The inhibitory effect of albumin extracts from white beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) on *in vitro* iron and zinc dialysability: role of phytic acid. **Food Chem.**, v. 63, n. 1, p. 1-7, 1998.

LONNERDAL, B. Dietary factors influencing zinc absorption. **J. Nutr.**, v. 130, p. 1378S-1383S, 2000.

LÖNNERDAL, B.; SANDBERG, A-S.; SANDSTRÖM, B.; KUNZ, C. Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. **J. Nutr.**, v. 119, p. 211-214, 1989.

LYNCH, S.R., BAYNES, R.D. Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for iron dietary recommendations. **J. Nutr.**, v. 126, n.9S, p.2404S-2409S, 1996.

MACPHAIL, A.P. Iron deficiency and the developing world. **Arch. Latinoam. Nutr.**, Suppl, v.51, n.1, p.2-6, 2001.

MAHAN, L.K., ESCOTT-STUMP, S. Krause: **Alimentos, nutrição & dietoterapia**. 9. ed. São Paulo: Roca, 1998. 981p.

MANGAN, J. L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutr. Res. Rev.**, v. 1, p. 209-231, 1988.

MARTINEZ DOMINGUEZ, B.; IBAÑEZ, M.B; RINCÓN, F. Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 52, n. 3, p. 219-231, 2002.

MARTÍNEZ, C.; ROS, G.; PERIAGO, M. J.; ORTUÑO, J.; LÓPEZ, G.; RINCÓN, F. *In vitro* protein digestibility and mineral availability of greenbeans (*Phaseolus vulgaris* L) as influenced by variety and pod size. **J. Sci.Food Agric.**, v.77, p. 414-420, 1998.

MARTÍNEZ, C.; ROS, G.; PERIAGO, M.J.; LÓPEZ, G. Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.49, n.2, p.106–113, 1999.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 50, No. 1, p. 5-18, 2000.

MARX, J.J.M. Iron deficiency in developed countries: prevalence, influence of lifestyle factors and hazards of prevention. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 51, n. 8, p. 491– 494, 1997.

MONSEN, E.R.; COOK, J.D. Food iron absorption in human subjects. IV. The effects of calcium and phosphate salts on the absorption of nonheme iron. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 29, n. 10, p. 1142-1148, 1976.

NELSON, D.; MORRIS, M. Exame básico do sangue. In: HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos & tratamento. Por métodos laboratoriais**. Primeira edição brasileira. São Paulo: Editora Manole Ltda., 1995. p. 641 – 699.

NEUMAN, N.; TANAKA, O.; SZARFAC, S. Prevalência e fatores de risco para anemia no sul do Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 56-63, 2000.

PRATHER, T.A.; MILLER, D.D. Calcium carbonate depresses iron bioavailability in rats more than calcium sulfate or sodium carbonate. **J Nutr.**, v. 122, n. 2, p. 327–332, 1992.

PRICE, M.L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **J. Agric. Food Chem.**, v. 26, n. 5, p. 1214-1218, 1978.

PROSKY, L.; ASP, N.-G.; SCHWEIZER, T.F.; DEVRIES, J.W.; FURDA, I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. Interlaboratory study. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 71, n. 5, p. 1017-1023, 1988.

REDDY, M.B.; COOK, J.D. Assessment of dietary determinants of nonheme-iron absorption in humans and rats. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 54, p. 723–728, 1991.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN - 76 A Rodent Diet. **J. Nutr.**, v. 123, p. 1939–1951, 1993.

RICHARD-FORGET, F.; GAUILLARD, F.; HUGUES, M.; JEAN-MARC, T.; BOIVIN, P.; NICOLAS, J. Inhibition of horse bean and germination Barley lipoxygenases by some phenolic compounds. **J. Food Sci.**, v. 60, p. 1325-1329, 1995.

RICKARD, S.E.; THOMPSON, L.U. Interactions and biological effects of phytic acid. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 294-312.

SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 8.0. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. (Software).

SAHA, P.; WEAVER, C.; MASON, A. Mineral bioavailability in rats from intrinsically labeled whole wheat flour of various phytate levels. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, p. 2531-2535, 1994.

SANDBERG, A-S Bioavailability of minerals in legumes. **Brit. J. Nutr.**, v. 88. Suppl. 3. S281-S285, 2002.

SANDBERG, A.; AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, hexaphosphates in foods and intestinal contents. **J. Food Sci.** v. 51, p. 547-550, 1986.

SANDBERG, A.S.; SVANBERG, U. Phytate hidrolyses by phytase in cereals; effects on in vitro estimation of iron availability. **J. Food Sci.**, v. 56, n. 5, p. 1330-1333, 1991.

SANGHA, J.K.; PARMAR, A.K.; SACHDEVA, R. Mineral content of wheat cultivars with reference to their molar ratios. **J. Food Sci. Technol.**, v. 35, n. 2, p. 151-153, 1998.

SANTOS, V.D.; BIANCHI, M.L.P.; LATUNDE-DADA.; DANFLUZZI, J. C. Bioavailability of iron from have prepared weaning foods. **Nutr. Res.**, v. 16, n. 9, p. 1601-1605, 1996.

SATHE, S.K. Dry bean protein functionality. **Crit. Rev. Biotechnol.**, v. 22, n. 2, p. 175-223, 2002.

SIMÕES, M.; MOURA, E.; SGARBIERI, V.; BUENO DE FIGUEIREDO, D. Avaliação do impacto de um suplemento nutricional rico em ferro hematínico. **Cad. Saúde Publ.**, v.15, n.4, p.871–881, 1999.

TAPIERO, H.; GATÉ, L.; TEW, K.D. Iron: deficiencies and requirements. **Biomed Pharmacother.**, n. 55, p. 324-332, 2001.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Food Sci. Nutr.**, v. 1, n. 1, p. 1-22, 1991.

VAN DE VIJVER, L.P.L.; KARDINAAL, A.F.M.; CHARZEWESKA, J.; ROTILY, M.; CHARLES, P.; MAGGIOLINI, M.; ANDO, S.; VÄÄMÄMEM, k.; WAJSZCZYK, B.; JEIKKINEN, J.; DELORAINE, A.; SCHAAFSMA, G. Calcium in take is weakly but consistently negatively associated with iron status in girls and women in six European countries. **J Nutr.**, v. 129, n. 5, p. 963-968, 1999.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J., DELINCEÉ, H. Efect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics Chem.**, v.57, p. 289-293, 2000.

WELCH, R.M. Breeding strategies for biofortified staple plant foods to reduce micronutrient malnutrition globally. **J. Nutr.**, v. 132, p. 495S-499S, 2002.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48. p. 3576- 3580, 2000.

WIENK, K.J.H.; MARX, J.J.M.; BEYNEN, A.C. The concept of iron bioavailability and its assessment. **Eur. J. Nutr.**, v. 38, p. 51–75, 1999.

YBARRA, L.M.; COSTA, N.M.B.; FERREIRA, C.L.L.F. Interação cálcio e ferro: uma revisão. **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 22, p. 85-107, 2001.

ZIJP, I.M.; KORVER ,O.; TIJBURG ,L.B.M. Effect of tea and other dietary factors on iron absorption, **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.40, n.5, p.371-398, 2000.

CAPÍTULO 5

VALOR FUNCIONAL DE DIFERENTES CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM SUBMETIDOS A TRATAMENTO DOMÉSTICO

RESUMO

A inclusão das leguminosas e especificamente de feijões na dieta diária traz muitos efeitos fisiológicos benéficos à saúde. Este estudo avaliou os efeitos funcionais de cinco cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), na glicemia e no colesterol sanguíneo. Ratos machos Wistar, adultos, divididos em 7 grupos (n=8/grupo), foram alimentados por 28 dias com as dietas experimentais, utilizando-se um delineamento em blocos casualizados. A primeira dieta controle (Normal) foi baseada na dieta AIN-93M. As outras dietas experimentais também foram baseadas nesta dieta, porém para elevar o teor de gordura e açúcar foi acrescentado, tanto na segunda dieta controle, *High fat & sucrose* (HFS), quanto nas dietas testes (cultivares de feijão), 11% de banha de porco, 1% de colesterol cristalino e cerca de 40% de sacarose. Nas dietas testes foi ainda adicionado 30% de cada cultivar de feijão na forma de farinha. Para a obtenção das farinhas os cultivares de feijão:

Branco (Ouro Branco), Negro (Diamante Negro) e marrom-rajado (BRS Radiante, Pérola e Talismã) foram cozidos com água de maceração. Após o cozimento os feijões foram secos junto com o caldo de cocção e moídos. Do 21º ao 24º dias foram coletadas todas as fezes dos animais e após o sacrifício, foram retiradas amostras de sangue e o fígado. O feijão Diamante Negro promoveu a maior diminuição de colesterol sérico, menor nível de triglicerídios, maior fator de proteção (média mais alta da relação HDL/CT), menor deposição de lipídios nos fígados e a maior excreção fecal de lipídios. O feijão BRS Radiante promoveu a maior redução nos níveis de glicose sanguínea. O feijão Ouro Branco foi o que apresentou a menor ação hipocolesteremiante, maior índice de lipídios no fígado e a menor excreção de lipídios nas fezes. Além de que foi o único cultivar que não reduziu os níveis de glicose sanguínea. As propriedades funcionais do feijão avaliadas estiveram influenciadas significativamente pela ação da fibra alimentar solúvel, fibra alimentar insolúvel e taninos. Porém, nem fitatos nem o perfil de aminoácidos mostraram ter influenciado significativamente.

1. INTRODUÇÃO

As leguminosas ocupam um lugar importante na nutrição humana especialmente em grupos de baixa renda nos países em desenvolvimento (THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003; SHIMELIS e RAKSHIT, 2005). As leguminosas são boas fontes de carboidratos complexos, proteína e fibra alimentar tendo também significativo teor de vitaminas e minerais (THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003). Contudo alguns estudos revelam baixo valor nutricional das leguminosas devido à baixa digestibilidade de suas proteínas e à presença de fibra alimentar e fatores antinutricionais (COSTA *et al.*, 2006).

Os antinutrientes encontrados nos alimentos, entretanto, têm sido categorizados como tendo tanto efeitos adversos quanto benéficos para a saúde humana. Estes efeitos são dependentes da concentração e podem ser manipulados sendo possível aproveitar seus efeitos benéficos (SHAHIDI, 1997). Vários estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que dietas baseadas em alimentos ricos em fibra alimentar e

fitoquímicos podem reduzir o risco de doenças crônicas (THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003). Porém, fibras e antinutrientes como fitatos e taninos são apontados como inibidores da absorção mineral.

A dieta é um dos componentes em um estilo de vida que pode ter impacto na saúde e no bem-estar (THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003), surgindo o conceito de alimentos funcionais. Os alimentos funcionais incluem alimentos integrais, fortificados, enriquecidos ou melhorados que causam efeitos potencialmente benéficos à saúde quando consumidos regularmente como parte de uma dieta variada e em níveis efetivos (COSTA, 2003). Assim, no Brasil o feijão comum é considerado um dos alimentos básicos de maior importância para a população, nas áreas rurais e urbanas (COSTA *et al.*, 2006), caracterizado por seu alto teor de proteína assim como de fibra tanto solúvel quanto insolúvel e fatores antinutricionais entre estes taninos e fitatos.

A inclusão das leguminosas e especificamente de feijões na dieta diária traz muitos efeitos fisiológicos benéficos no controle e prevenção de doenças metabólicas como diabetes mellitus, doenças coronárias e câncer de cólon (THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003). Com o recente interesse nos benefícios à saúde atribuídos aos compostos fenólicos é importante reconhecer e criticamente avaliar os efeitos potenciais antinutritivos dos compostos fenólicos do feijão (SATHE, 2002). Taninos e outros polifenóis das plantas (antocianinas e flavonóides) despertam interesse crescente como possíveis fatores protetores contra patologias mediadas por radicais livres em humanos como câncer e arteriosclerose (CARBONARO *et al.*, 1996).

A maioria dos relatos da literatura referente aos fitatos enfatiza as propriedades de quelação mineral prejudicando a saúde humana e animal. Porém, o fitato por complexação do ferro pode provocar uma redução favorável na formação de radicais hidroxil no cólon (HARLAND e MORRIS, 1995). Outros efeitos benéficos atribuídos ao ácido fítico são a redução de glicose e níveis de lipídios sanguíneos e diminuição do risco de câncer de mama e cólon (YONEKURA e SUZUKI, 2003).

O consumo de alimentos ricos em fibra aumentou consideravelmente na dieta humana devido aos benefícios à saúde que a fibra oferece (MARTINEZ-FLORES *et al.*, 2004). A fibra tem sido recomendada como um importante componente alimentar

na prevenção da obesidade (BIRKETVEDT *et al.*, 2002), desordens metabólicas como diabetes tipo 2 e hiperlipidemia (GLORE *et al.*, 1994; LIU *et al.*, 1999). Esta resposta hipocolesterolemizante das fibras tem sido atribuída basicamente à presença de fibra solúvel (BROWN, 1999; MARTINEZ-FLOREZ *et al.*, 2004). Por outro lado o perfil de aminoácidos das leguminosas estaria também associado à diminuição de colesterol sanguíneo (AMIGO *et al.*, 1992). Principalmente, os teores mais baixos de lisina e de metionina e os níveis mais altos de arginina da soja, em comparação com proteínas de origem animal podem ser responsáveis por este efeito (BELLEVILLE, 2002; COSTA, 2003).

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte na maioria de países ocidentais, sendo o perfil lipídico o principal fator de risco (BROWN *et al.*, 1999; LEE *et al.*, 2005) e a diabetes mellitus é uma desordem metabólica caracterizada por uma hiperglicemia crônica causada pela falta absoluta ou relativa de insulina e é uma das principais causas de morbidez mundial (KUMAR *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2005).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos funcionais de cinco cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), na glicemia e no colesterol sanguíneo, em ratos, com ênfase nos seus teores de aminoácidos, taninos, fitatos e fibra alimentar solúvel e insolúvel.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa-MG. A determinação de fitatos foi feita no Centro de Biologia Molecular no Federal Research Centre for Nutrition and Food (Alemanha, Dr. Ralf Greiner). A composição aminoacídica foi realizada no Centro Interdepartamental de Química de Proteínas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo, Dr. José César Rosa).

2.1. Cultivares de feijão

As amostras de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) utilizadas foram dos cultivares Ouro Branco (OB), Diamante Negro (DN), BRS Radiante (BRS), Pérola (PER), fornecidos pela EMBRAPA – Arroz e Feijão, localizada em Santo Antônio de Goiás, GO e Talismã (TL), fornecido pela Universidade Federal de Viçosa.

Para a obtenção das farinhas respectivas, os grãos de cada cultivar foram selecionados e submetidos à maceração (proporção feijão: água de 1:2) por 15 h à temperatura ambiente e cozidos em panela de pressão doméstica, durante 40 minutos depois da saída constante de vapor pela válvula de pressão. Os feijões cozidos foram secos, juntamente com o caldo de cocção, em estufa de ar circulante por 17 h a 60°C, sendo posteriormente moídos em microprocessador e peneirados (20 mesh) o número suficiente de vezes até a obtenção de um pó homogêneo.

• Caracterização físico-química

Nos feijões cozidos com água de maceração foram determinados os teores de umidade (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985), proteínas e lipídios (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984).

A determinação do teor de taninos foi realizada de acordo com o método de PRICE *et al.* (1978) com modificações.

A quantificação de fitatos foi realizada segundo a metodologia descrita pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990) e o método cromatográfico (Par iônico, Ultrasep ES 100 RP18, 2x250mm) proposto por SANDGERG e AHDERINNE (1986).

A determinação dos teores de fibra alimentar total (FAT) e fibra alimentar insolúvel (FAI) foi feita de acordo com o método enzimático gravimétrico (PROSKY *et al.*, 1988; AOAC, 1990). A fibra solúvel (FAS) foi obtida por diferença entre FAT e FAI.

A análise de aminoácidos foi realizada utilizando-se o método feniltiocarbamil aminoácidos (PTC) (análise de aminoácidos: derivação pré-coluna com fenilisotiocianato) (BIDLINGMEYER *et al.*, 1984; ROSA *et al.*, 1987).

Todas as determinações foram realizadas em triplicata com exceção do teor de fibras que foi realizado em duplicata. Os métodos utilizados em todas as determinações foram descritos no capítulo 2.

- **Ensaio Biológico**

Foram utilizados 56 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*), da linhagem Wistar, adultos, pesando entre 187 e 234 g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em ambiente de temperatura ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) e luz controladas, em ciclo claro-escuro de 12 h.

Os animais foram divididos em 7 blocos experimentais com 8 animais cada um, de acordo com o peso, sendo mantidos em suas respectivas dietas experimentais por 28 dias, tempo durante o qual os animais receberam dieta e água deionizada *ad libitum*. Os pesos dos animais foram monitorados semanalmente, bem como a ingestão alimentar, calculando-se assim o ganho de peso e o coeficiente de eficiência alimentar ($\text{CEA} = \text{ganho de peso (g)} / \text{consumo alimentar (g)} \times 100$).

2.2.1. Composição e preparo das dietas experimentais

A composição das dietas experimentais é apresentada na Tabela 1. A primeira dieta controle (Normal) foi baseada na dieta AIN-93M (REEVES *et al.*, 1993). As outras dietas experimentais também foram baseadas nesta dieta, porém para elevar o teor de gordura e açúcar foi acrescentado, tanto na segunda dieta controle, *High fat & sucrose* (HFS), quanto nas dietas testes (cultivares de feijão), 11% de banha de porco, 1% de colesterol cristalino e cerca de 40% de sacarose. Nas dietas testes foi ainda adicionado 30% de cada cultivar de feijão na forma de farinha. Nesta quantidade de feijão foi calculado o teor de proteína, de lipídios e de fibra alimentar. Adicionando-se caseína e óleo de soja para completar respectivamente em cada dieta o requerimento de proteína (12%), e de lipídios (4%). A dieta de feijão DN apresentou a maior concentração de fibra alimentar total procedente do feijão (8,06 g/100g de dieta) sendo as outras dietas testes e a dieta HFS niveladas para esta concentração mediante a adição de fibra adicional a fim de obter dietas isoprotéicas e isocalóricas.

A banha de porco foi inicialmente derretida a banho-maria a 60°C misturada com o óleo de soja, sendo depois acrescentado o colesterol cristalino com suave agitação a fim de obter uma mistura homogênea, que foi adicionada ao resto dos ingredientes, misturando-se todos em batedeira semi-industrial (LIEME), com baixa rotação, por 30 min. As dietas prontas foram acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas a 10°C.

Tabela 1 – Composição das dietas experimentais (g/kg de dieta)

Ingredientes	Dietas experimentais						
	Normal	HFS	OB	DN	BRS	PER	TL
Caseína ¹	159,4	159,4	76,4	76,10	80,8	79,4	74,1
Sacarose ²	100	411,8	405,3	420,9	405,10	410,9	416,8
Amido de milho q.s.p. ³	446,30	-	-	-	-	-	-
Amido dextrinizado ⁴	155	138,90	-	-	-	-	-
Fibra	50	80,6	13,6	-	9,1	5,7	4,6
(Celulose microfina) ⁵							
Banha de porco ⁶	-	110	110	110	110	110	110
Colesterol cristalino ⁷	-	10	10	10	10	10	10
Minerais ⁸	35	35	35	35	35	35	35
Vitaminas ⁹	10	10	10	10	10	10	10
L-cistina ¹⁰	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Bitartarato de colina ¹¹	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Óleo de soja ¹²	40	40	35,40	33,70	35,70	34,70	35,2
Feijão Ouro Branco	-	-	300	-	-	-	-
Feijão Diamante Negro	-	-	-	300	-	-	-
Feijão BRS Radiante	-	-	-	-	300	-	-
Feijão Pérola	-	-	-	-	-	300	-
Feijão Talisma	-	-	-	-	-	-	300

Fonte: Adaptado de REEVES *et al.*, 1993

HFS: High fat & sucrose

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola; TL: Feijão Talismã

q.s.p.: quantidade suficiente para completar 1 kg

Marca/Fornecedor:

1 Naarden /CIMAK (Comércio de Material Científico e kits Ltda. EPP.). 2. Açúcar União/ Comércio de Viçosa. 3. Pink Alimentos-Belo Horizonte/Comércio de Viçosa. 5 Comprecel/ Minjtaí Chemical Company Ltda. Taiwan. 6. Sadia/ Comércio de Viçosa. 8 Laboratório de Nutrição Experimental- UFV-MG-Brasil. 4,7,9,10,11. Rhoster/ Rhoster- Indústria e Comércio Ltda.. 12. SOYA/ Comércio de Viçosa.

2.4.4. Coleta de amostras biológicas e análises químicas

Do 21º ao 24º dias foram coletadas todas as fezes dos animais, as mesmas foram secas em estufa e posteriormente trituradas para determinação de lipídios totais.

Ao final do experimento, os animais foram sacrificados sob atmosfera de dióxido de carbono. Procedeu-se a incisão das cavidades abdominal e torácica para coleta de sangue por punção cardíaca, utilizando seringas descartáveis de 10 mL para cada animal, sendo separado o soro para posterior análise.

Foram ainda retirados os fígados e lavados em solução diluída de PBS (solução salina tamponada com fosfato, pH 7,4), sendo depois acondicionados em papel alumínio e sacos plásticos e congelados para posterior análise de lipídios totais.

Utilizando o Autoanalisador Multiparamétrico de Bioquímica (Alizé, Mod Lisabio No. B.652) foram determinados no soro o colesterol total, segundo metodologia proposta por ALLAIN *et al.* (1974), HDL colesterol baseando-se na metodologia proposta por WARNIK *et al.* (1982), triglicerídios pelo método de FOSSATI e PRENCIPE (1982) e glicose, seguindo a metodologia proposta por LOT e TURNER (1975). Em todas estas determinações foram utilizados kits para testes enzimáticos colorimétricos, somente para uso diagnóstico *in vitro* da marca Bioclin (QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda, Belo Horizonte - MG – Brasil).

A determinação de lipídios hepáticos e das fezes foi baseada na metodologia de FOLCH *et al.* (1957). Cem miligramas de fígado ou fezes foram pesados, colocados em tubos de ensaio e adicionados 1,9 mL de solução clorofórmio: metanol (2:1). As amostras foram trituradas com o auxílio de bastão de vidro, e homogeneizadas em vortex, por 3 minutos. A seguir, 400 µL de metanol foram adicionados às misturas e então, centrifugadas por 10 minutos, a 3000 rpm. Os sobrenadantes das misturas foram retirados com micropipetas e transferidos para tubos de ensaio previamente tarados. Sendo adicionados 800 µL de clorofórmio e 640 µL de NaCl (0,73%) para uma nova centrifugação por 10 minutos, e a fase superior desprezada posteriormente. O volume de 300 µL de solução de Folch (3% de clorofórmio, 48% de metanol, 47% de água e 2% de NaCl a 29%) foi utilizado

para lavar as paredes internas dos tubos de ensaio. Esta lavagem foi realizada três vezes. Finalmente os extratos lipídicos foram secos em estufa e pesados após esfriamento em dessecador. O teor total de lipídios foi determinado pela diferença gravimétrica do peso dos tubos de ensaio na presença e ausência dos extratos lipídicos.

2.4.5. Delineamento experimental

Os 7 tratamentos foram dispostos no delineamento em blocos casualizados com 8 repetições.

Os dados foram interpretados por meio de análise de variância, e as médias testadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Para essas análises, foi utilizado o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, versão 8.0, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Cultivares de feijão

O teor de proteínas, lipídios e fibra alimentar total dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração encontra-se na Tabela 2. Estes resultados serviram de base para o cálculo das dietas experimentais usadas no ensaio biológico.

Tabela 2- Teor de proteínas, lipídios e fibra alimentar total (FAT) dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base seca.

Cultivares	Umidade ¹ (g/100g)	Proteínas ¹ (g/100g)	Lipídios ¹ (g/100g)	FAT ² (g/100g)
OB	20,77	26,29	1,92	23,40
DN	14,26	24,39	2,44	28,69
BRS	22,89	25,61	1,88	25,22
PER	13,59	23,25	2,05	26,09
TL	14,14	24,92	1,88	27,03

1 Média de três determinações; 2 Média de duas determinações

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

Na Tabela 3 estão apresentados os valores de taninos, fitatos, fibra alimentar insolúvel e fibra alimentar solúvel e na Tabela 4 está apresentada a composição aminoacídica dos cultivares de feijão e da caseína utilizada na elaboração das dietas. Todos estes dados foram utilizados na avaliação do efeito funcional.

Tabela 3- Teor de taninos, fitatos (IP5+IP6), Fibra Alimentar Insolúvel (FAI) e Fibra Alimentar Solúvel (FAS) dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, em base seca

Cultivares	Taninos ¹ (mg Catequina/100g)	IP5+IP6 ¹ (mol/g)	FAI ² (g/100g)	FAS ² (g/100g)
OB	8,69	23,44	21,32	2,08
DN	18,61	22,25	24,45	4,24
BRS	34,94	22,35	20,68	4,54
PER	18,43	17,90	23,09	3,00
TL	16,57	21,55	23,36	3,67

1 Média de três determinações; 2 Média de duas determinações

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

Tabela 4- Composição aminoacídica dos cultivares de feijão cozidos com água de maceração, e da caseína em base úmida.

Aminoácidos	Cultivares de feijão					Caseína
	OB	DN	BRS	PER	TL	
g aminoácidos/100g amostra						
Essenciais						
Fenilalanina+tirosina	1,19	1,57	1,42	1,36	1,62	4,56
Histidina	0,39	0,36	0,37	0,42	0,44	0,92
Isoleucina	0,43	0,55	0,56	0,48	0,62	1,91
Leucina	0,84	1,15	1,16	1,00	1,20	4,03
Lisina	0,67	0,97	1,05	0,79	0,94	3,65
Metionina	0,20	0,24	0,22	0,20	0,27	1,41
Cisteína	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Treonina	0,48	0,59	0,51	0,50	0,53	1,51
Triptofano	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Valina	0,56	0,64	0,64	0,59	0,72	2,26
Não essenciais						
Alanina	0,61	0,67	0,64	0,63	0,69	1,24
Arginina	0,80	0,79	0,70	0,92	0,93	1,31
Ácido aspártico	1,70	1,75	1,66	1,61	1,78	2,98
Ácido glutâmico	2,15	2,12	1,99	1,96	2,26	7,97
Glicina	0,49	0,51	0,47	0,49	0,51	0,66
Prolina	0,62	0,65	0,63	0,73	0,72	3,92
Serina	0,76	0,84	0,74	0,76	0,82	1,97

Média de três determinações

nd: não determinado (destruído no processo de hidrólise)

OB: Feijão Ouro Branco; DN: Feijão Diamante Negro; BRS: Feijão BRS Radiante; PER: Feijão Pérola;

TL: Feijão Talismã

2.8. Ensaio biológico

A Tabela 5 apresenta os parâmetros sanguíneos determinados no experimento. Embora não tenha sido observada diferença significativa entre as dietas Normal e HFS, em relação ao nível de colesterol total, a dieta HFS teve média mais alta com um nível sérico 3,55% maior indicando que a adição de banha de porco (11%), colesterol cristalino (1%) e sacarose permitiu conseguir um aumento no colesterol total. Porém, este pequeno incremento obtido pode ser explicado pelo fato de que em muitas espécies de animais a síntese de colesterol é inibida pelo colesterol da dieta, por meio de mecanismo de retroalimentação negativa (STIPANUK, 2000). Além de que os ratos são resistentes em desenvolver hipercolesterolemia e arteriosclerose em razão possivelmente, do aumento na conversão de colesterol em ácidos biliares no fígado (SIPERSTEIN *et al.*, 1952; WILSON, 1964). Esses animais também tendem a acumular lipídios no fígado quando recebem dietas adicionadas de colesterol e, ou, ácido cólico (ROSA *et al.*, 1998b).

Tabela 5 – Níveis séricos de colesterol total, HDL-colesterol (HDL), triglicerídios, relação HDL-colesterol total (HDL/CT) e glicose dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

Dieta	Colesterol total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	Triglicerídios (mg/dL)	Relação HDL/CT	Glicose (mg/dL)
Normal	95,20± 2,25 ab	38,75± 1,04a	103,52± 8,16 a	0,41± 0,01 ab	267,86± 9,63 a
High fat & sucrose	98,58± 2,98 a	33,96± 1,11 abc	76,25± 3,86 b	0,35± 0,01 b	237,07± 16,20 ab
Ouro Branco	94,82± 2,16 abc	32,26± 1,56 bc	82,12± 6,31 ab	0,34± 0,01 b	234,41± 11,88 ab
Diamante negro	82,70± 3,38 c	34,84± 1,39 abc	76,51± 3,38 b	0,43± 0,02 a	187,74± 28,36 b
BRS Radiante	84,99± 1,53 bc	31,19± 0,64 c	80,57± 7,89 ab	0,37± 0,01 ab	181,73± 14,75 b
Pérola	87,44± 4,15 abc	33,01± 0,63 abc	81,33± 7,60 ab	0,38± 0,01 ab	184,28± 11,60 b
Talismã	87,69± 2,45 abc	37,69± 1,98 ab	87,40± 2,66 ab	0,43± 0,02 a	185,18± 19,61 b

Média ± desvio padrão

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Por outro lado, dietas com sacarose têm um efeito lipogênico maior que dietas com amido, pelo que a sacarose está envolvida em várias doenças como a arteriosclerose (KATAYAMA, 1997).

Entre as dietas de feijão não houve diferença significativa no nível de colesterol e a dieta de feijão DN apresentou a menor média entre as 7 dietas experimentais. Todas as dietas de feijão tiveram médias inferiores à dieta HFS, porém só as dietas de feijão DN e BRS diferiram ($P < 0,05$) desta dieta. A dieta DN teve um nível de colesterol menor em 16,11% e a dieta BRS em 13,79%. Concordando com o observado por ROSA *et al.* (1998b), quando da adição de feijão em dietas hipercolesterolemiantes para ratos, apesar de não significativo, promoveu efeito positivo, pois reduziu os níveis de colesterol sanguíneo em relação à dieta controle, em 16% com a dieta de feijão preto, seguida de 12% de redução com a dieta de feijão vermelho e 11% com a dieta de feijão carioquinha.

Segundo ANDERSON *et al.* (1990), a redução de 1% nos níveis de colesterol sérico resulta em redução de 2% de risco de doenças coronarianas.

Em estudo realizado por BIRKETVEDT *et al.* (2002) com 62 indivíduos com sobrepeso e obesos recebendo dieta suplementada com extratos de feijão (feijão branco *kidney* misturado com feijão *locust*) foi observada uma diminuição de 6% do colesterol após três meses de ensaio. Neste estudo foi demonstrado que a suplementação com extrato de feijão modestamente reduziu os níveis de colesterol sérico a curto e longo prazo (três e doze meses respectivamente).

GEIL e ANDERSON (1994) relatam em estudos em humanos a diminuição significativa de lipídios séricos consumindo diariamente quantidades variadas de 75 a 200 g de peso seco de diversos cultivares de feijão entre estes feijões *kidney*.

Não houve diferença significativa entre as dietas Normal e HFS com respeito ao HDL, porém a dieta Normal teve média maior. Entre as dietas de feijão só diferiram as dietas BRS e TL. Nenhuma dieta de feijão diferiu da dieta HFS. O que coincidiu com BIRKETVEDT *et al.* (2002), quando nenhuma alteração significativa foi observada após três meses de ensaio, em relação ao início do experimento. Porém aos 12 meses 10% de aumento foi registrado, o que sugere que o efeito do feijão no

HDL é em longo prazo, sendo segundo este autor o mecanismo deste efeito desconhecido.

A dieta Normal teve maior nível de triglicerídios que a dieta HFS. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre as dietas de feijão assim como também nenhuma diferiu da dieta HFS. Nenhuma alteração significativa no nível de triglicerídios também foi observada por BIRKETVEDT *et al.* (2002), utilizando extrato de feijões e por ROSA *et al.* (1998a) quando ratos hipercolesterolêmicos receberam dietas de feijão preto integral e preto sem casca.

A relação HDL/CT mostra a proporção do colesterol plasmático sendo transportado pelas lipoproteínas de alta densidade (HDL). Esta relação é capaz de demonstrar quais os grupos que apresentam maior fator de proteção contra possíveis eventos cardiovasculares, uma vez que níveis elevados (>40 , para humanos) de HDL, representam um excelente fator de proteção (III DIRETRIZES..., 2001). Não houve diferença significativa entre as dietas Normal e HFS ($p>0,05$). Entre as dietas de feijão as dietas DN e TL com médias iguais diferiram da dieta OB que apresentou o menor efeito protetor ($P < 0,05$) (Tabela 5).

Com relação ao nível sérico de glicose não houve diferença significativa entre as dietas Normal e HFS ($P>0,05$), nem entre as dietas de feijão, concordando com os resultados obtidos por ROSA *et al.* (1998a). Além disso, nenhuma dieta de feijão diferiu da dieta HFS, mas entre as dietas de feijão a média mais alta apresentou a dieta OB. Porém, se um nível maior de 200 mg/dL de glicose foi considerado como indicativo de diabetes para ratos, segundo LEE *et al.* (2005), os animais que receberam as dietas DN, BRS, PER e TL tiveram médias inferiores melhorando a condição diabética em relação à dieta HFS.

Com a adição de feijões secos em quantidades variando de 98 a 145 g peso seco/dia em uma dieta para diabéticos, consegue-se melhorar o controle metabólico e ter efeitos benéficos, a longo prazo. O plano de Nutrição HCF (*High Carbohydrate-High Fiber*) recomenda o uso de pelo menos meia xícara de feijões cozidos diariamente como uma fonte de fibra alimentar em uma refeição planejada para diabéticos (GEIL e ANDERSON, 1994).

Na Tabela 6 são apresentados os pesos do fígado, conteúdo de lipídios hepáticos e excreção de lipídios nas fezes dos animais. Em relação ao peso do fígado a dieta HFS apresentou média superior ($P < 0,05$) que a dieta Normal. As dietas de feijão não diferiram entre si e só a dieta DN não diferiu da dieta HFS ($P > 0,05$). Todas as dietas de feijão apresentaram médias inferiores à dieta HFS e superiores à dieta Normal. O aumento do peso do fígado tem sido associado à deposição de lipídios, água, proteína e glicogênio no fígado (ROSA *et al.*, 1998a).

Em relação ao conteúdo de lipídios hepáticos, foi evidenciada diferença entre as dietas Normal e HFS, revelando uma deposição de 37% mais na dieta HFS, que também diferiu da dieta de feijão DN, mas não diferiu das outras dietas testes. As dietas testes (feijão) não apresentaram diferenças entre si, porém a maior média teve a dieta OB e a menor média a dieta DN ($P > 0,05$) (Tabela 6).

As dietas Normal e HFS apresentaram diferença significativa na excreção de lipídios nas fezes. Todas as dietas de feijão diferiram da dieta HFS, observando-se uma maior excreção de 30 a 41% quando estas dietas foram administradas aos animais, concordando com outros estudos (BIRKETVEDT *et al.*, 2002). As dietas testes não diferiram entre si, porém a maior excreção foi conseguida com a dieta DN e a menor com a dieta OB.

Tabela 6 - Peso do fígado, lipídios hepáticos e lipídios nas fezes dos animais.

Dieta	Peso do fígado (g)	Lipídios no fígado (mg/100g)	Lipídios nas fezes (mg/100g)
Normal	11,08 ± 0,30c	6,37 ± 0,27c	5,10 ± 0,25c
High fat & sucrose	15,31 ± 0,34a	17,22 ± 1,86a	11,76 ± 0,39b
Ouro Branco	12,81 ± 0,41b	15,49 ± 0,63ab	16,90 ± 1,26a
Diamante Negro	13,91 ± 0,27ab	13,43 ± 0,19b	19,95 ± 1,04a
BRS Radiante	13,00 ± 0,48b	13,94 ± 0,31ab	19,91 ± 0,75a
Pérola	13,80 ± 0,27b	14,08 ± 0,30ab	19,05 ± 1,09a
Talismã	13,82 ± 0,42b	14,47 ± 0,59ab	19,01 ± 0,89a

Média ± desvio padrão

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O ganho de peso dos animais e o consumo alimentar não diferiram entre as dietas experimentais, o que refletiu em médias estatisticamente semelhantes do coeficiente de eficiência alimentar (Tabela 7), concordando com os resultados obtidos por ROSA *et al.* (1998 a,b).

Tabela 7- Ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA)

Dietas	GP (g)	CA (g)	CEA (%)
Normal	538,52 ± 11,28	104,13 ± 3,17	19,36 ± 0,56
High fat & sucrose	522,66 ± 8,46	113,25 ± 5,47	21,69 ± 1,04
Ouro Branco	497,09 ± 14,62	101,43 ± 6,92	20,30 ± 1,05
Diamante negro	514,58 ± 16,18	117,63 ± 7,56	22,78 ± 1,20
BRS Radiante	492,28 ± 12,77	102,50 ± 8,10	20,65 ± 1,17
Pérola	504,24 ± 13,99	111,13 ± 5,92	22,03 ± 0,97
Talismã	528,98 ± 9,74	114,88 ± 4,42	21,67 ± 0,50

Média ± desvio padrão

Para cada característica avaliada, as médias dentro da mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste F a 5% de probabilidade.

As dietas HFS e testes foram formuladas para terem a mesma porcentagem de fibra isto é 80,6 g/kg de dieta e a dieta Normal 50 g/kg, ou seja, uma concentração menor em 38% (Tabela 1). Estas dietas apesar de ter ingredientes (banha de porco, colesterol cristalino e açúcar) que poderiam provocar ganho de peso, a ação das fibras suprimiu este efeito e não provocou diferença significativa em relação à dieta Normal. Uma dieta rica em fibra fornece menos densidade calórica e aumenta a saciedade diminuindo a ingestão e a disponibilidade energética da dieta contribuindo para a redução do peso corporal, ou seja, reduzindo o risco de desenvolvimento de obesidade (BURTON-FREEMAN, 2000; ADA REPORTS, 2002). Isto também pode ser devido a que as fibras alteram a palatabilidade da dieta e aumentam o esforço na mastigação, o que pode diminuir a digestibilidade de carboidratos, lipídios e proteínas (COSTA, 2003).

O efeito funcional do feijão está associado a sua composição característica. Assim, está confirmado que o nível de colesterol sanguíneo pode estar influenciado pelo tipo de proteína da dieta (SUGIYAMA *et al.*, 1996). O consumo de proteína vegetal comparado com o consumo de proteína animal resulta em uma diminuição dos níveis de colesterol observada em vários animais de experimentação, sendo o efeito hipocolesterolemia da soja também demonstrado em humanos (SUGIYAMA *et al.*, 1996; MORITA *et al.*, 1997). Isto poderia ser explicado devido à diferença no

perfil de aminoácidos entre a proteína da soja e a caseína, sendo que a maior diferença segundo BELLEVILLE (2002) está no conteúdo elevado de metionina da caseína e que de acordo com MORITA *et al.* (1997) eleva a concentração sérica de colesterol. Em pesquisa desenvolvida por KERN *et al.* (2002) a suplementação com metionina não suprimiu o efeito hipocolesterolemizante da soja em relação à caseína o que sugere que algum outro fator deve estar influenciando. Para MORITA *et al.* (1997) a alta relação metionina:glicina da caseína pode ser responsável pela elevação do colesterol sérico.

Entretanto, a alta relação lisina:arginina parece ser o principal fator na elevação de colesterol sanguíneo quando dietas de caseína são administradas, devido fundamentalmente ao aumento na sensibilidade à insulina (MORITA *et al.*, 1997). Assim, estudo em ratos demonstrou que a proteína de soja com uma baixa relação lisina:arginina contrária à caseína melhorou a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina (BELLEVILLE, 2002). GIBNEY (1982) reportou o efeito hormonal indireto envolvendo insulina e glucagon. Estes dois hormônios são conhecidos por terem ação positiva e negativa, respectivamente, com a variação diurna na atividade da hidroximetilglutaril CoA redutase (HMG CoA redutase) no fígado de ratos, a qual é considerada enzima limitante para a síntese de colesterol (ZUBAY, 1999). A baixa relação entre a lisina e a arginina da proteína de soja tem sido associada com menor secreção de insulina e aumento da secreção de glucagon (COSTA, 2003).

Na presente pesquisa em base ao consumo alimentar foi calculado o consumo de metionina, relação metionina:glicina e relação lisina:arginina nos animais durante todo o experimento como se observa na Tabela 8. A dieta HFS apresentou o maior consumo apresentando também o maior nível de colesterol sérico que as dietas testes. Porém, entre as dietas de feijão parece que o perfil de aminoácidos não é a causa da diminuição de colesterol sérico, já que a dieta OB teve o menor consumo, mas apresentou a maior concentração de colesterol sérico entre os cultivares de feijão (Tabela 5).

Tabela 8- Consumo de aminoácidos nos ratos segundo as dietas HFS e testes recebidas durante todo o experimento

Dietas	Razão	metionina	Razão
	lisina:arginina	(g)	metionina:glicina
High fat & sucrose	2,32 ± 0,04a	1,18 ± 0,02a	1,78 ± 0,03a
Ouro Branco	1,25 ± 0,04d	0,30 ± 0,01d	0,61 ± 0,02d
Diamante negro	1,90 ± 0,06b	0,37 ± 0,01c	0,73 ± 0,02c
BRS Radiante	2,22 ± 0,06a	0,33 ± 0,01cd	0,70 ± 0,02cd
Pérola	1,30 ± 0,04d	0,30 ± 0,01d	0,62 ± 0,02d
Talismã	1,60 ± 0,03c	0,43 ± 0,01b	0,84 ± 0,01b

Média ± desvio padrão

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Parece então que o efeito hipocolesterolemiantes do feijão pode ser devido à ação de outros componentes não protéicos.

Os feijões constituem uma boa fonte de fibra alimentar tanto solúvel quanto insolúvel como é mostrado na Tabela 3. As frações solúvel e insolúvel apresentam diferentes efeitos fisiológicos na saúde humana (REHMAN e SHAH, 2004).

A fibra solúvel desenvolve significativa viscosidade em dissolução em água que é benéfico durante sua passagem pelo intestino, modificando o nível pós-prandial de glicose e lipídios (THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003) e parece ser mais eficaz que a fibra insolúvel na diminuição dos lipídios plasmáticos especialmente do nível de colesterol e LDL (GLORE *et al.*, 1994; THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003). O mecanismo pelo qual exerce a ação hipocolesterolemiantes ainda não está definido claramente (ALLER *et al.*, 2004). Estudos sugerem que a absorção de sais biliares pela fibra solúvel provoca mudanças no metabolismo do colesterol (BROWN *et al.*, 1999). Os ácidos biliares são sintetizados a partir do colesterol, e ligando os ácidos biliares e fazendo estes indisponíveis para reabsorção ou uso, a fibra alimentar força ao corpo a deslocar o colesterol dos locais de armazenamento para sintetizar mais ácidos biliares (HUGHES, 1991). Além de que a indisponibilidade dos ácidos biliares no intestino para a formação de micelas inibe a absorção de lipídios e colesterol. As fibras solúveis também aumentam o tamanho do bolo fecal diluindo os ácidos biliares na parte baixa do trato intestinal (ALLER *et al.*, 2004; THARANATHAN &

MAHADEVAMMA, 2003), acontecendo maior eliminação de ácidos biliares (COSTA, 2003), e de esteróis e lipídios nas fezes (GUILLON *et al.*, 2000). O esvaziamento gástrico mais lento e a maior viscosidade do meio provocam menor digestão e absorção de lipídios, dificultando a ação de enzimas digestivas (GUILLON *et al.*, 2000; COSTA, 2003) promovendo também a saciedade (GUILLON *et al.*, 2000). O exato mecanismo pelo qual a fibra seqüestra os ácidos biliares não está bem entendido, mas tem sido sugerido que interações hidrofóbicas (grupos fenólicos das fibras) e iônicas (ácidos urônicos das fibras) estariam acontecendo (GUILLON *et al.*, 2000).

A fermentação das fibras solúveis pelas bactérias do cólon produz ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato) (GLORE *et al.*, 1994), sendo o propionato associado principalmente com a inibição da síntese hepática de colesterol (THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003), o que reduz seus níveis sanguíneos (COSTA, 2003).

Por outro lado, a utilização de dietas com alto conteúdo de fibras tem sido recomendada no controle do diabetes, uma vez que são capazes de reduzir os níveis basais e pós-absortivos de glicose no sangue. O mecanismo de ação dessas dietas no tratamento da doença não está completamente esclarecido. Acredita-se que o efeito principal das fibras no lúmen intestinal seja de natureza mecânica, produzido pela redução no tempo de trânsito intestinal, que é provocada pelas fibras insolúveis (COSTA, 2003; THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003). Por outro lado, a alta viscosidade das fibras solúveis provoca retardamento do esvaziamento gástrico, da digestão e absorção de glicose permitindo um melhor controle dos níveis plasmáticos (ANDERSON *et al.*, 1999). As fibras também melhoram a sensibilidade à insulina (ADA REPOTS, 2002) visto que os ácidos graxos de cadeia curta, como o acetato, provêm ao organismo de uma fonte alternativa de energia para substituir a glicose sem requerer insulina (BROWN *et al.*, 1999; COSTA, 2003). O butirato também parece ser importante no controle do diabetes melhorando o nível de glicose no sangue e na urina além do volume urinário em ratos com diabetes induzida quimicamente (KUMAR *et al.*, 2002).

A capacidade do ácido fítico na redução dos níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídios (MARTINEZ *et al.*, 1996) parece estar relacionada com a habilidade de se ligar ao zinco, diminuindo sua concentração sérica e a razão Zn/Cu, já que altos valores nesta relação estão associados com a elevação de colesterol sanguíneo e predis põem ao homem a enfermidades cardiovasculares. Além disso, o efeito hipoglicemiante do ácido fítico pode conduzir a efeitos hipolipidêmicos, dado que a redução plasmática de glicose e de insulina conduz a uma diminuição da síntese hepática de lipídios (THOMPSON, 1993; RICKARD e THOMPSON, 1997). Assim, o ácido fítico diminui a velocidade da digestão do amido pelos mesmos mecanismos pelos que exerce sua ação antinutritiva, isto é, pode unir-se à α -amilase inativando-a ou ao cálcio que é necessário para estabilizar a atividade da enzima ou ao amido, modificando assim seu grau de gelatinização ou acessibilidade pelas enzimas digestivas, além disso influencia na resposta sanguínea à glicose já que produz retardo do esvaziamento gástrico (THOMPSON, 1993).

Os mecanismos da ação antinutritiva dos taninos são provavelmente análogos aos descritos para os fitatos, ou seja, interação com proteínas, minerais e carboidratos (CARBONARO *et al.*, 1996; CHIARADIA e GOMES, 1997; SANDBERG, 2002). Em pesquisa desenvolvida por CARMONA *et al.* (1996), foi observado que a assimilação de carboidratos foi severamente prejudicada pelos taninos condensados isolados de feijão preto, devido à baixa bio-utilização de carboidratos. Especificamente, no caso do amido, a inibição de α -amilase diminuiu a produção de maltose sendo também sua hidrólise afetada, o que incrementou a proporção do amido resistente alcançando o intestino grosso. Observando-se também que a hidrólise de dissacarídeos (maltase, sacarose e lactose) realizada por enzimas da borda em escova do enterócito foi prejudicada devido a forte inibição pelos taninos sendo afetada a captação de glicose. A união com as proteínas da mucosa intestinal dificulta a absorção de nutrientes (LINDNER, 1995).

O incremento na excreção de colesterol em ratos alimentados com taninos sugere que estes diminuem a absorção intestinal de colesterol (TEBIB *et al.*, 1994), com foi observado por IKEDA *et al.* (1992), alimentando ratos com catequinas extraídas de chá preto. Em pesquisa desenvolvida por TEBIB *et al.* (1994), um

aumento na excreção fecal de ácidos biliares em ratos alimentados com taninos condensados extraídos de sementes de uva provocou diminuição da concentração sérica de colesterol.

Considerando o consumo total de alimento dos animais durante os 28 dias de experimento foram calculados o consumo de fibra alimentar solúvel (FAS), fibra alimentar insolúvel (FAI), fitatos e taninos (Tabela 9) nas dietas testes. Verificando-se que FAS, FAI e taninos influenciaram no perfil lipídico e de glicose, já que houve diferença significativa ($P < 0,05$) no consumo destes componentes do feijão e a dieta de feijão OB que teve o menor consumo apresentou os mais altos níveis de colesterol total e de glicose e a maior concentração de lipídios no fígado além da menor excreção de lipídios nas fezes (Tabela 5 e Tabela 6).

No entanto, a dieta DN com maior consumo de FAS teve o menor nível de colesterol sérico e triglicerídios e a menor concentração de lipídios no fígado com a mais alta excreção de lipídios nas fezes. O maior consumo de FAI nas dietas DN e TL pode ser a causa do aumento na fração HDL do colesterol já que segundo ROSA *et al.* (1998b) a FAI não é eficaz na redução dos níveis de colesterol, mas tende a aumentar os níveis de HDL. Mas, segundo HUGHES (1991), a fibra alimentar insolúvel pode também ajudar na redução da absorção do colesterol diminuindo o tempo de trânsito e tempo total disponível para a absorção.

No caso da glicose, a dieta BRS que não apresentou o maior consumo de fibra alimentar total teve os níveis mais baixos de glicose, indicando que outro fator além da fibra alimentar poderia estar influenciando neste parâmetro bioquímico; o que poderia ser atribuído à alta concentração de taninos existente nesta dieta.

Em relação ao consumo de fitatos, só a dieta PER diferiu das demais dietas testes, apresentando o menor consumo. Esperava-se que esta dieta apresentasse, portanto, os mais altos níveis de lipídios e glicose, o que foi observado com a dieta OB que apresentou o mais alto consumo de fitatos. Os fitatos, portanto, não foram determinantes nas propriedades funcionais estudadas do feijão.

Tabela 9- Consumo de fibra alimentar solúvel (FAS), fibra alimentar insolúvel (FAI), taninos e fitatos (IP6+IP5) nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante todo o experimento

Dietas	Consumo de FAS (g/28 dias)	Consumo de FAI (g/28 dias)	Consumo de taninos (mg cateq/28dias)	Consumo de IP6+IP5 (μ mol/28dias)
Ouro Branco	2,95 $\pm$ 0,09d	30,35 $\pm$ 0,89bc	10,69 $\pm$ 0,31c	3495,51 $\pm$ 102,77a
Diamante negro	6,13 $\pm$ 0,19a	35,35 $\pm$ 1,11a	25,00 $\pm$ 0,78b	3434,80 $\pm$ 107,99a
BRS Radiante	6,34 $\pm$ 0,16a	28,84 $\pm$ 0,75c	41,20 $\pm$ 1,07a	3300,76 $\pm$ 85,61a
Pérola	4,34 $\pm$ 0,12c	33,43 $\pm$ 0,93ab	24,32 $\pm$ 1,91b	2707,76 $\pm$ 75,11b
Talismã	5,46 $\pm$ 0,10 b	34,77 $\pm$ 0,64a	22,47 $\pm$ 0,41b	3419,84 $\pm$ 62,97a

Média $\pm$ desvio padrão

Para cada característica avaliada, as médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Vários modelos animais têm sido usados para avaliar a resposta fisiológica da fibra alimentar (MARTINEZ-FLORES *et al.*, 2004). Os hamsters são considerados melhor modelo que os ratos devido a que apresentam uma melhor resposta aos fatores dietéticos e um metabolismo similar ao humano (KRIS-ETHERTON e DIETSCHY, 1997).

Nossos resultados concordam em grande parte com a literatura que menciona que alimentos ricos em carboidratos, os quais são digeridos e absorvidos lentamente, apresentam efeitos benéficos no controle do diabetes e da hiperlipidemia. Os antinutrientes são parte responsável por estes efeitos, apresentando as leguminosas a mais baixa resposta glicêmica comparadas com outros alimentos que são também fontes de carboidratos. A fração solúvel que é rica em fitatos, lectinas e taninos parece ser a principal responsável por este efeito (THOMPSON, 1988). Utilizando dietas suplementadas com ácido fítico ao nível de 1 e 1,5%, LEE *et al.* (2005) conseguiram redução dos níveis de colesterol sérico, mas não de triglicerídios em camundongos diabéticos KK (modelo animal usado para estudos sobre diabetes melitus não-insulino dependente). KAHN *et al.* (2005), em estudo *in vitro* utilizando substrato de diferentes feijões entre estes feijão *kidney* (*Phaseolus vulgaris*), observaram uma ligação de ácidos biliares, mas esta ligação não esteve relacionada com seu conteúdo de fibra alimentar total, sugerindo que outros fatores poderiam estar interferindo. Assim, a variabilidade no conteúdo de

fitonutrientes (flavonóides, taninos), componentes não protéicos, estrutura, hidrofobicidade das frações não digeridas, a natureza catiônica ou aniônica dos metabólitos produzidos durante a digestão ou a ligação com sítios ativos poderiam ser a causa deste efeito.

É importante mencionar que vários tipos de saponinas presentes nas leguminosas, adicionadas em dietas, reduzem o colesterol sanguíneo em animais, em razão do aumento da excreção de ácidos biliares (MILGATE e ROBERTS, 1995; CHIARADIA e GOMES, 1997).

Uma série de experimentos com animais têm demonstrado que dietas contendo feijão apresentam efeito hipocolesterolemiantes, seja reduzindo o nível de colesterol sérico, seja aumentando o nível de lipídios nas fezes. O tempo que os indivíduos ou animais ficaram submetidos a uma dieta contendo feijões e o nível inicial de colesterol nos indivíduos parece influenciar significativamente nos efeitos hipocolesterolemiantes do feijão (CHIARADIA e GOMES, 1997).

4. CONCLUSÃO

O modelo utilizado para avaliar os efeitos funcionais nos cultivares de feijão permitiu observar que a dieta de feijão DN teve a melhor ação hipocolesterolemiantes, por ter promovido a maior diminuição de colesterol sérico e menor nível de triglicerídios. Apresentando também o maior fator de proteção pela média mais alta da relação HDL/CT. Além disso, apresentou ainda a menor deposição de lipídios nos fígados e a maior excreção fecal de lipídios.

A dieta de feijão BRS promoveu a maior redução nos níveis de glicose sanguínea.

A dieta de feijão OB teve a menor ação hipocolesterolemiantes provocando o maior nível de colesterol sérico e o menor efeito protetor, com o maior índice de lipídios no fígado e a menor excreção de lipídios nas fezes. Esta dieta também foi a única entre os cultivares que não promoveu a redução da glicose sanguínea.

Foi adicionado em todas as dietas testes a mesma quantidade de feijão, sendo ajustada a porcentagem de fibra a fim de se obter dietas isocalóricas, o que pode ter influenciado para não observar diferenças significativas no ganho de peso, consumo alimentar e conseqüentemente coeficiente de eficiência alimentar.

A diferença do perfil de aminoácidos da proteína animal (caseína) e vegetal (cultivares de feijão) pode ter influenciado as características hipercolesterolemiantes da dieta controle HFS.

As propriedades funcionais do feijão avaliadas estiveram influenciadas significativamente pela ação da fibra alimentar solúvel, fibra alimentar insolúvel e taninos. Porém, nem fitatos nem o perfil de aminoácidos mostraram ter influenciado significativamente na ação hipocolesteremiante e hipoglicemiante dos cultivares de feijão estudados. Contudo, não se pode descartar sua contribuição já que o efeito funcional do feijão não é devido a um único fator, mas sim a um conjunto de características que estão co-atuando.

Os resultados obtidos nesta pesquisa são estimulantes para sugerir que o feijão precisa ser incluído e mantido nos hábitos alimentares, devido a seu efeito positivo, sem esquecer que os excessos sempre devem ser evitados e principalmente uma dieta equilibrada é fundamental para manter uma boa saúde.

Estudos a longo prazo e em outros modelos animais podem ser recomendados para poder avaliar de melhor maneira a potencialidade deste alimento básico da dieta brasileira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADA REPORTS. Position of the american dietetic association: health implications of dietary fiber. **J ADA**. v. 102, n. 7, p. 993-1000, 2002.

ALLAIN, C. C.; POON, L.S.; CHAN, C.S.; RICHMOND, W.; FU, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clin. Chem.**, v. 20, p. 470-475, 1974.

ALLER, R.; ANTONIO DE LUIS, D.; IZAOLA, O.; LA CALLE, F.; DEL OLMO, L.; FERNANDEZ, L.; ARRANZ, T.; GONZALEZ, J.M. Effect of soluble fiber intake in lipid

and glucose levels in healthy subjects: a randomized clinical trial. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, v. 65, p. 7-11, 2004.

AMIGO, L.; MARZOLO, M.P.; AGUILERA, J.M.; HOHLBERG, A.; CORTÉS, M.; NERVI, F. Influence of different dietary constituents of beans (*Phaseolus vulgaris*) on serum and biliary lipids in the rat. **J Nutr. Biochem.**, v. 3, p. 486-490, 1992.

ANDERSON, J.W.; ALLGOOD, L.; TURNER, J.; OELTGEN, P.; DAGGY, B. Effects of psyllium on glucose and serum lipid responses in men with type 2 diabetes and hypercholesterolemia. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 70, p. 466-473, 1999.

ANDERSON, J.W.; GUSTAFSON, N.J.; SPENCER, D.B.; TIETYEN, J.; BRYANT, C. Serum lipid response of hypercholesterolemic men to single and divided doses of canned beans. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 51, p. 1013-1019, 1990.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 15. ed. Washington, D.C; 1990, p. 800-801; 1105-1106.

BELLEVILLE, J. Hypocholesterolemic effect of soy protein. **Nutr.**, v. 18, n. 7/8, p. 684-685, 2002.

BIDLINGMEYER, B.A.; COHEN, S.A.; TARVIN, T.L. Rapid analysis of aminoacids using pre-column derivatization. **J. Cromatogr.**, v.336, n.1, p.93-104, 1984.

BIRKETVEDT, G.S.; TRAVIS, A.; LANGBAKK, B.; FLORHOLMEN, J.R. Dietary supplementation With Bean extract improves lipid profile in overweight and obese subjects. **Nutr.**, v. 18, p. 729 –733, 2002.

BROWN, L.; ROSNER, B.; WILLETT, W.W.; SACKS, F.M. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 69, p. 30–42, 1999.
BURTON-FREEMAN, B. Dietary fiber and energy regulation. **J. Nutr.**, v. 130, p. 272S–275S, 2000.

CARBONARO, M.; VIRGILI, F.; CARNOVALE, E. Evidence for protein–tannin interaction in legumes: implications in the antioxidant properties of Faba bean tannins. **Lebens-Wiss. U.- Technol.** v. 29, p. 743-750, 1996.

CARMONA, A.; BORGUDD, L.; BORGES, G.; LEVY-BENSHIMOL, A. Effect of black bean tannins on in vitro carbohydrate digestion and absorption. **J. Nutr. Biochem.**, v. 7, p. 445-450, 1996.

CHIARADIA, A.C.N.; GOMES, J.C. **Feijão: Química, Nutrição e Tecnologia**. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1997. 180 p.

COSTA, G.E.A.; QUEIROZ-MONICI, K.S.; REIS, S.M.P.M.; OLIVEIRA, A. C.; Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food Chem.**, v. 94, n. 3, p. 327-330, 2006.

COSTA, N.M.B. Alimentos: Componentes Nutricionais e Funcionais. In: COSTA, N.M.B.; BORÉM, A. **Biotecnologia e Nutrição**. Brasil: Nobel, Primeira edição, 2003, p. 31-69.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, v. 226, p. 497-509, 1957.

FOSSATI, P.; PRINCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme and produces hydrogen peroxide; **Clin. Chem.**, v. 28, p. 2077-2080, 1982.

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

GIBNEY, M.J. Hypocholesterolemic effect of soybean proteins. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 41, p. 19-26, 1982.

GLORE, S.R.; TREECK, D.V.; KNEHANS, A.W.; GUILD, M. Soluble fiber and serum lipids: A literature review. **J. Am. Diet Assoc.**, v. 94, n. 4, p. 425- 436, 1994.

GUILLON, F.; CHAMP, M.; THIBAUT, J.-F. Dietary fibre functional products. In: GIBSON, G.R.; WILLIAMS, C.M. (Eds). **Functional foods**. CRC Press. Boca Raton. USA, 2000, p. 315-364.

HARLAND, B. F.; MORRIS, E. A GOOD OR A BAD FOOD COMPONENT? **Nutr. Res.**, v. 15, n. 5, p. 733-754, 1995.

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

III – Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da sociedade brasileira de cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 77, supp. III, 2001.

IKEDA, I.; IMASOTO, Y.; SASAKI, E.; NAKAYAMA, M.; NAGAO, H.; TAKEO, T.; YAYABE, F.; SUGANO, M. Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. **Biochem. Biophys. Acta**, v. 1127, p. 141-146, 1992.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas**. 3. ed. São Paulo: 1985. v.1,533p.

KAHLON, T.S.; SMITH, G.E.; SHAO, Q. In vitro binding of bile acids by kidney bean (*Phaseolus vulgaris*), black gram (*Vigna mungo*), bengal gram (*Cicer arietinum*) and moth bean (*Phaseolus aconitifolius*). **Food Chem.**, v. 90, n. 1-2, p. 241-246 March-April 2005.

KATAYAMA, T. Effects of dietary myo-inositol or phytic acid on hepatic concentrations of lipids and hepatic activities of lipogenic enzymes in rats fed on corn starch or sucrose. **Nutr Res.**, v. 17, n. 4, p. 721-728, 1997.

KERN, M.; ELLISON, D.; MARROQUIN, Y.; AMBROSE, M.; MOSIER, K. Effects of soy protein supplemented with methionine on blood lipids and adiposity of rats. **Nutr.**, v. 18, p. 654-671, 2002.

KRIS-ETHERTON, P.M.; DIETSCHY, J. Design criteria for studies examining individual fatty acid effects on cardiovascular disease risk factors: Human and animal studies. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 65, p. 1590s-1596s, 1997.

KUMAR, C.M.; RACHAPPAJI, K.S.; NANDINI, C.D.; SAMBAIAH, K., SALIMATH, P.V. Modulatory effect of butyric acid—a product of dietary fiber fermentation in experimentally induced diabetic rats. **J. Nutr. Biochem.**, v. 13, p. 522-527, 2002.

LEE, S-H.; PARK, H-J.; CHO, S-Y.; JUNG, H-J.; CHO, S-M.; CHO, Y-S.; LILLEHOJ, H.S. Effects of dietary phytic acid on serum and hepatic lipid levels in diabetic KK mice. **Nutr. Res.**, v. 25, p. 869-876, 2005.

LINDNER, E. **Toxicología de los alimentos**. Segunda Edición. Zaragoza (España): Acribia, 1995. 262p.

LIU, S.; STAMPFER, M.J.; HU, F.B.; GIOVANNUCCI, E., RIMM, E., MANSON, J.E.; HENNEKENS, C.H.; WILLETT, W.C. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study1-3. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 70, p. 412-419, 1999.

LOTT, J.A.; TURNER, K. Evaluation of Trinders glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. **Clin. Chem.**, v. 21, n. 12, p. 1754-1760, 1975.

MARTINEZ, C.; ROS, G.; PERIAGO, M.J.; LÓPEZ, G.; ORTUNO, J.; RINCÓN, F. Phytic acid in human nutrition. **Food Sci. Technol. Intl.**, v.2, p. 201-209, 1996.

MARTINEZ-FLORES, H.E.; CHANG, Y.K.; MARTINEZ-BUSTOS, F.; SGARBIERI, V. Effect of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters. **Nutr. Res.**, v. 24, p. 85-93, 2004.

MILGATE, J.; ROBERTS, D.C.K. The nutritional & biological significance of saponinas. **Nutr. Res.**, v. 15, n. 8. p. 1223-1249, 1995.

MORITA, T.; OH-HASHI, A.; TAKEI, K.; IKAI, M.; KASAOKA, S.; KIRIYAMA, S. Cholesterol-lowering effects of soybean, potato and rice proteins depend on their low methionine contents in rats fed a cholesterol-free purified diet. **J Nutr.**, v. 127, p. 470-477, 1997.

PRICE, M.L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **J. Agric. Food Chem.**, v. 26, n. 5, p. 1214-1218, 1978.

PROSKY, L.; ASP, N.-G.; SCHWEIZER, T.F.; DEVRIES, J.W.; FURDA, I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. Interlaboratory study. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 71, n. 5, p. 1017-1023, 1988.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN - 76 A Rodent Diet. **J. Nutr.**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

REHMAN, Z.; SHAH, W. Domestic processing effects on some insoluble dietary fibre components of various food legumes. **Food Chem.**, v. 87, p. 613-617, 2004.

RICKARD, S.E.; THOMPSON, L.U. Interactions and biological effects of phytic acid. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 294-312.

ROSA, C.O.B.; COSTA, N.M.B.; LEAL, P.F.G.; Oliveira, T.T. Efeito do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*, L.) sem casca na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 48, n. 4, p. 299-305, 1998a.

ROSA, C.O.B.; COSTA, N.M.B.; NUNES, R.M.; LEAL, P.F.G. Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 48, n. 4, p. 306-310, 1998b.

ROSA, J.C.; IZUMI, C; BELTRAMINI-SABBAG, L.M.; GREENE, L.J. Quantitative HPLC analysis of phenylisothio-carbamyl-amino acids at picomol levels. XVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica (SBBq) – Caxambu/MG, 22 a 25/04/87 – **Arq. Biol. Technol.**, v. 30, n 1, p. 35, 1987.

SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 8.0. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. (Software).

SANDBERG, A-S. Bioavailability of minerals in legumes. **Brit. J. Nutr.**, v. 88. Suppl. 3. S281-S285, 2002.

SANDBERG, A.; AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, hexaphosphates in foods and intestinal contents. **J. Food Sci.**, v. 51, p. 547-550, 1986.

SATHE, S.K. Dry bean protein functionality. **Crit. Rev. Biotechnol.**, v. 22, n. 2, p. 175-223, 2002.

SHAHIDI, F. Beneficial health effects and drawbacks of antinutrients. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p. 1-9.

SHIMELIS, E.A.; RAKSHIT, S.K. Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. **LWT**. v.38, p. 331–338, 2005.

SIPERSTEIN, M.D; JAYKO, M.E; CHAIKOFF, I.L; DAUBEN, W.G. Nature of the metabolic products of C¹⁴ – cholesterol excreted in bile and feces. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 81, p. 720-724, 1952.

STIPANUK, M. H. **Biochemical and physiological aspects of human nutrition**. Philadelphia, Pennsylvania: W. B. Saunders Company, 2000. 1007 p.

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

TEBIB, K.; BITRI, L.; BESANCON, P.; ROUANET, J.M. Polymeric grape seed tannins prevent plasma cholesterol changes in high-cholesterol-fed rats. **Food Chem.**, v. 49, p. 403-406, 1994.

THARANATHAN, R.N.; MAHADEVAMMA, S. Grain legumes – a boon to human nutrition. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 14, p. 507–518, 2003.

THOMPSON, L.U. Antinutrients and Blood Glucose. **Food Technol.**, v. 42, p. 123-132, 1988.

THOMPSON, L.U. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. **Food Res. Int.**, v. 26, p. 131-149, 1993.

WARNICK, G. R.; BENDERSON, J.; ALBERS, J. J. Dextran sulfate-Mg²⁺ precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. **Clin. Chem.**, v. 28, p. 1379-1388, 1982.

WILSON, J.D. The quantification of cholesterol excretion and degradation in the isotopic steady state in the rat: the influence of dietary cholesterol. **J. Lipid Res.**, v. 5, p. 409-417, 1964.

YONEKURA,L.; SUZUKI, H. Some polysaccharides improve zinc bioavailability in rats fed a phytic acid-containing diet. **Nutr.Res.**, v.23, p. 343–355, 2003.

ZUBAY, G. **Biochemistry**. 4. ed. Portland, Or: Wm. C. Brown Publishers, 1999. 1024 p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O feijão é um dos alimentos básicos da população brasileira e o consumo *per capita* diário varia entre os grupos populacionais. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2004), em geral, a população de baixa-renda (renda mensal menor a R\$ 400) consome aproximadamente 41 g de feijões (peso cru) por dia, o que representa baseado nos resultados obtidos na presente pesquisa, um consumo médio de 2,90 mg, de ferro, 1,26 mg de zinco, 39,11 mg de taninos (expressos como catequinas), 651,96 mg de fitatos e 9,73 g de fibra alimentar. Para a população de alto poder aquisitivo (renda mensal maior a R\$ 3.000) o consumo médio de 31 g de feijão por dia representa um consumo de 2,08 mg de ferro, 0,90 mg de zinco, 28,02 mg de taninos (expressos como catequinas), 467,09 mg de fitatos e 7,36 g de fibra alimentar.

A população de baixa renda depende mais diretamente dos feijões como fonte mineral o que envolve também o maior consumo de fatores que influenciam a biodisponibilidade, porém que também apresentam efeitos benéficos. Programas de fortificação estabelecidos como ferramentas no combate de problemas nutricionais marcam diferenças nos grupos alvo que são atingidos. Alguns dos alimentos satisfatórios para fortificação, como alimentos comerciais infantis (muitos dos quais são fortificados), sucos de frutas processados, e leites processados geralmente são consumidos por grupos de média ou alta renda que não apresentam maior risco de deficiências de micronutrientes, ou que dispõem dos meios para controle de determinadas doenças.

Assim, o estudo da biodisponibilidade mineral e do efeito funcional do feijão se torna importante, na procura de soluções de problemas nutricionais e de saúde que beneficiariam mais diretamente a grupos populacionais mais suscetíveis e com menores recursos que baseiam sua dieta diária neste alimento.

Os resultados obtidos nesta pesquisa deverão ser considerados em planejamentos dietéticos para superar problemas nutricionais. Assim, o cultivar Talismã pode ser recomendado se a qualidade protéica for procurada. Para deficiências de zinco e ferro, o feijão Ouro Branco deveria ser o cultivar escolhido. O

cozimento sem água de maceração é o processo preferido para reduzir os níveis de antinutrientes e melhorar a biodisponibilidade mineral, apesar de que tal efeito depende do cultivar de feijão. Na procura das melhores propriedades funcionais, os cultivares indicados são Diamante Negro e BRS Radiante. Em todo caso, os feijões contribuem a uma dieta de alta qualidade devendo ser estimulado o aumento do seu consumo na dieta brasileira.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares POF 2002-2003. URL: [http: www.ibge.gov.br/2004](http://www.ibge.gov.br/2004). Consultado em 01/2006.

ANEXOS

ANEXO 1.- BIODISPONIBILIDADE DE ZINCO DE DIFERENTES CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM SUBMETIDOS A TRATAMENTO DOMÉSTICO

Tabela 1A. Resumo da análise de Variância da concentração de zinco no plasma (Zn-P), concentração de zinco nos eritrócitos (Zn/Hb), retenção de zinco no fêmur (Zn-Fêmur), retenção de cálcio no fêmur (Ca-Fêmur), retenção de magnésio no fêmur (Mg-Fêmur) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios				
		Zn-P	Zn-erit	Zn-fêmur	Ca-fêmur	Mg-fêmur
Cozimento (C)	1	3946,7290**	304,1885**	0,1592**	0,6304 ^{n.s.}	0,0234**
Cultivare (V)	4	1700,9540**	158,7178**	0,2559**	1,0102**	0,0227**
C x V	4	259,9192 ^{n.s.}	24,1432 ^{n.s.}	0,0785**	1,3239**	0,0086**
Fatorial vs Padrão	1	808,3860	1197,5750	13,7514	0,0265	1,4350
Blocos	9	160,2107	24,5900	0,0207	0,2916	0,0018
Resíduo	90	189,9824	19,5174	0,0137	0,1781	0,0013

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

n.s. não significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F

Tabela 1B. Resumo da análise de Variância do comprimento no fêmur (Comp-F), largura do fêmur (Larg-F), espessura do fêmur (Esp-F) e peso do fêmur (Peso-F) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios			
		Comp-F	Larg-F	Esp-F	Peso-F
Cozimento (C)	1	0,0079 ^{n.s.}	0,1689x10 ⁻⁴ ^{n.s.}	0,1012x10 ⁻³ *	0,3657x10 ⁻² ^{n.s.}
Cultivare (V)	4	0,0117 *	0,1461x10 ⁻³ ^{n.s.}	0,2090x10 ⁻⁴ ^{n.s.}	0,7527x10 ⁻² **
C x V	4	0,0094 *	0,2791x10 ⁻⁴ ^{n.s.}	0,8387x10 ⁻⁴ *	0,5191x10 ⁻² **
Fatorial vs Padrão	1	0,0005	2,5x10 ⁻⁴	0,8500x10 ⁻⁷	0,4900x10 ⁻¹
Blocos	9	0,0045	0,1428x10 ⁻³	0,3027x10 ⁻⁴	0,1678x10 ⁻²
Resíduo	90	0,0034	0,1594x10 ⁻³	0,2460x10 ⁻⁴	0,1137x10 ⁻²

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

* significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F

n.s. não significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F

Tabela 1C. Resumo da análise de Variância do ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA), e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) nos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios		
		GP	CA	CEA
Cozimento (C)	1	3,2400 ^{n.s.}	84,9897 ^{n.s.}	0,6350x10 ⁻¹ ^{n.s.}
Cultivare (V)	4	1267,2850 **	273,7296 ^{n.s.}	28,2573 **
C x V	4	722,1650 **	564,9322 ^{n.s.}	9,6872 **
Fatorial vs Padrão	1	2,8510	1736,62	4,9433
Blocos	9	47,2283	243,9165	1,9546
Resíduo	90	123,3527	295,9960	1,8650

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

n.s. não significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F

Tabela 1D. Resumo da análise de Variância do consumo de taninos e fitatos (IP6+IP5) nos ratos segundo as dietas testes recebidas

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios	
		Consumo de Taninos	Consumo de IP6+IP5
Cozimento (C)	1	286,6926 **	0,1450x10 ⁸ **
Cultivare (V)	4	22904,1100 **	0,2924x10 ⁸ **
C x V	4	66,4365 **	872754,4000**
Blocos	9	1,1244	13603,01
Resíduo	81	1,3642	26152,92

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

Tabela 1E. Resumo da análise de Variância do consumo de fibra alimentar total nos ratos segundo as dietas testes recebidas

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios
Cultivare	4	1284,8660 **
Blocos	9	3,1594
Resíduo	36	4,9925

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

Tabela 1F. Resumo da análise de Variância do consumo de razões milimolares fitatox cálcio:zinco nos ratos durante todo o experimento segundo as dietas testes recebidas

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios
Cozimento (C)	1	93162,9100 **
Cultivare (V)	4	308153,3000 **
C x V	4	43030,6300 **
Blocos	9	64,8569
Resíduo	81	128,4221

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

ANEXO 2.- BIODISPONIBILIDADE DE FERRO DE DIFERENTES CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM SUBMETIDAS A TRATAMENTO DOMÉSTICO

Tabela 2A – Resumo da análise de variância para ganho de hemoglobina (GHb) e hematócrito (HEM), em função de diferentes níveis de ferro (NFe) nas dietas experimentais

Fontes de variação	GL	Quadrados Médios
		GHb
Blocos	7	
Dietas (D)	5	11,3631 **
NFe/D1	(2)	
Linear	1	55,0395 **
Quadrática	1	1,0089 n.s.
NFe/D2	(2)	
Linear	1	39,9234 **
Quadrática	1	2,4014 *
NFe/D3	(2)	
Linear	1	40,9572 **
Quadrática	1	3,7926 **
NFe/D4	(2)	
Linear	1	30,3120 **
Quadrática	1	0,5377 n.s.
NFe/D5	(2)	
Linear	1	20,8353 **
Quadrática	1	1,0941 n.s.
NFe/D6	(2)	
Linear	1	22,5061 **
Quadrática	1	3,9675 **
Resíduo	119	0,4610

Padrão: D1: FeSO₄

D2: Ouro Branco; D3: Diamante Negro; D4: BRS Radiante; D5: Pérola; D6: Talismã

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

* significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F

n.s. não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

Tabela 2B – Resumo de análise de variância para ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) em função de diferentes níveis de ferro (NFe) nas dietas experimentais

Fontes de	GL	Quadrados Médios		
		GP	CA	CEA
Blocos	7			
Dietas (D)	5	1561,9900 **	430,2082 ^{n.s.}	198,3925 **
NFe/D1	(2)			
Linear	1	537,5744 ^{n.s.}	10,3612 ^{n.s.}	104,7880 ^{n.s.}
Quadrática	1	2,0089 ^{n.s.}	80,7500 ^{n.s.}	4,5846 ^{n.s.}
NFe/D2	(2)			
Linear	1	342,0268 ^{n.s.}	698,4587 ^{n.s.}	32,5630 ^{n.s.}
Quadrática	1	130,7232 ^{n.s.}	1261,4800 ^{n.s.}	2,6661 ^{n.s.}
NFe/D3	(2)			
Linear	1	57,0744 ^{n.s.}	42,4510 ^{n.s.}	4,1875 ^{n.s.}
Quadrática	1	64,5089 ^{n.s.}	23,6716 ^{n.s.}	15,7275 ^{n.s.}
NFe/D4	(2)			
Linear	1	1714,5270 *	2574,8270 **	161,3110 *
Quadrática	1	19,7232 ^{n.s.}	169,5678 ^{n.s.}	12,6834 ^{n.s.}
NFe/D5	(2)			
Linear	1	156,0744 ^{n.s.}	6,0134 ^{n.s.}	24,5863 ^{n.s.}
Quadrática	1	255,0089 ^{n.s.}	1470,953 *	2,8961 ^{n.s.}
NFe/D6	(2)			
Linear	1	411,8571 ^{n.s.}	1308,4380 ^{n.s.}	1,3655 ^{n.s.}
Quadrática	1	329,1429 ^{n.s.}	766,0381 ^{n.s.}	47,6847 ^{n.s.}
Resíduo	119	322,4638	354,4333	31,2500

Padrão: D1: FeSO₄

D2: Ouro Branco; D3: Diamante Negro; D4: BRS Radiante; D5: Pérola; D6: Talismã

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

* significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F

n.s. não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

Tabela 2C – Resumo de análise de variância do consumo de taninos, fitatos (IP6+IP5), razões milimolares (fitato:ferro) e fibra alimentar total (FAT) nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante a fase de repleção

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios			
		Consumo de taninos	Consumo de IP6+IP5	Consumo de fitato:ferro	Consumo de FAT
Dietas (D)	4	1157,4325**	3346082,2**	1531,6570**	230,9700**
Níveis de ferro (NFe)	2	2144,4000**	37445429**	5784,1110**	4844,9950**
NFe x D	8	131,1600**	563183,5000**	220,2145**	40,8200**
Blocos	7	4,0529	48070,1050	8,0190	6,1368
Resíduo	98	3,0104	27358,9310	5,2376	3,2932

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

ANEXO 3.- EFEITOS FUNCIONAIS DE DIFERENTES CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM SUBMETIDOS A TRATAMENTO DOMÉSTICO

Tabela 3A. Resumo da análise de Variância do colesterol total, HDL-colesterol (HDL), triglicerídios, relação HDL-colesterol e glicose dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios				
		Colesterol total	HDL	Triglicerídios	Relação HDL/Colesterol total	Glicose
Dietas	6	285,1164**	62,4400**	707,8652*	0,0109**	9651,528**
Blocos	7	57,0796	2,6559	317,5609	0,0014	2875,143
Resíduo	42	64,1947	14,7720	293,7149	0,0022	2237,305

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

* significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F

Tabela 3B. Resumo da análise de Variância do peso do fígado, lipídios hepáticos e lipídios nas fezes dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios		
		Peso do fígado	Lipídios no fígado	Lipídios nas fezes
Dietas	6	13,5316 **	93,3706 **	249,0991 **
Blocos	7	1,7257	6,0286	3,6709
Resíduo	42	0,9434	4,9844	6,6497

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

Tabela 3C. Resumo da análise de Variância do ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos ratos segundo as dietas experimentais recebidas

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios		
		GP	CA	CEA
Dietas	6	339,0565 ^{n.s.}	2338,287 ^{n.s.}	10,8584 ^{n.s.}
Blocos	7	275,9478	1253,299	9,9517
Resíduo	42	308,0019	1294,797	7,0151

n.s. não significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F

Tabela 3D. Resumo da análise de Variância do consumo de aminoácidos nos ratos segundo as dietas HFS e testes recebidas durante todo o experimento

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios		
		Consumo de Razão lisina:arginina	Consumo de metionina	Consumo de Razão metionina:glicina
Dietas	5	1,6644 **	0,9379 **	1,6235 **
Blocos	7	0,0090	0,0006	0,0020
Resíduo	35	0,0174	0,0010	0,0038

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F

Tabela 3E. Resumo da análise de Variância do consumo de fibra alimentar solúvel (FAS), fibra alimentar insolúvel (FAI), taninos e fitatos (IP6+IP5) nos ratos segundo as dietas testes recebidas durante todo o experimento

	GL	Quadrados Médios			
		Consumo de FAS	Consumo de FAI	Consumo de taninos	Consumo de IP6+IP5
Dietas	4	15,7564 **	64,2719 **	947,8270 **	835015,2 **
Blocos	7	0,1074	3,8716	2,8462	42113,32
Resíduo	28	4,6189	6,7545	4,2576	67791,84

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F