

CHRISTIANO VIEIRA PIRES

**CARACTERIZAÇÃO BROMATOLÓGICA E DIGESTIBILIDADE *in vitro* DE
PROTEÍNAS DE CULTIVARES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2002**

CHRISTIANO VIEIRA PIRES

**CARACTERIZAÇÃO BROMATOLÓGICA E DIGESTIBILIDADE *in vitro* DE
PROTEÍNAS DE CULTIVARES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)**

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

APROVADA: 15 de março de 2002.

Prof. Maurílio Alves Moreira
(Conselheiro)

Prof. Sebastião Tavares de Rezende
(Conselheiro)

Prof. José Humberto de Queiroz

Prof^a Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira

Prof^a Maria Goreti de Almeida Oliveira
(Orientadora)

Aos meus pais, Israel e Maria das Graças,

Aos meus irmãos, Aureliano, Aldrin, Vanessa e Cléverson

AGRADECIMENTO

A Deus, pelo dom da vida.

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

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Centro Nacional de Pesquisa em Arroz e Feijão da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CNPAP/EMBRAPA), pelo fornecimento das variedades de feijão.

À Professora Maria Goreti de Almeida Oliveira, pela orientação, pelos ensinamentos e, sobretudo pela amizade.

Ao Professor Maurílio Alves Moreira, pelo apoio dado para a realização da pesquisa.

Ao Professor Sebastião Tavares de Rezende pela amizade e pelas sugestões.

Aos professores José Humberto de Queiroz e Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira, pelas sugestões apresentadas neste trabalho.

À Inês pelo apoio durante a realização dos experimentos.

Aos colegas do Laboratório de Enzimologia: Frederico, Giordani, Bárbara, Gal, Simone, Carina, Luciana Xavier, Luciana Rezende, Anderson, Márcio, Samir e Éder pelo tempo de convívio e amizade.

Aos colegas do BIOAGRO, José Fausto, Aloísio, Jander, Gláucia, Sandra, Tadeu e João Paulo, pela amizade.

Aos secretários Eduardo e Solange pela contínua disponibilidade de ajuda.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Marisa, por estar sempre disponível e pela eficiência.

A todos os amigos principalmente, Policarpo, João de Deus, Renatinho, Paulo e João Carlos, pelo convívio diário.

Ao meu avô Vicente, tios e primos.

Aos meus pais, irmãos e cunhadas.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

CHRISTIANO VIEIRA PIRES, filho de Israel de Paiva Pires e Maria das Graças Vieira Pires, nasceu em 13 de setembro de 1975, na cidade de Dores do Turvo, Minas Gerais.

Em março de 1995, iniciou o curso de graduação em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, concluindo-o em dezembro de 1999.

Em março de 2000, ingressou no Programa de Mestrado em Agroquímica na UFV, concluindo os requisitos necessários para obter o título de Magister Scientiae, em março de 2002, com a defesa de tese.

ÍNDICE

RESUMO	VIII
ABSTRACT	X
1 – INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 - Composição química de feijões	4
2.1.1 - Carboidratos.....	4
2.1.2 - Lipídios	6
2.1.3 - Vitaminas e minerais	8
2.1.4 – Taninos.....	9
2.1.5 - Proteínas	11
2.2 - Digestibilidade das proteínas de feijão	14
3 - MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1 - Material genético	19
3.2 - Obtenção das farinhas de feijão	19
3.3 - Extração das frações albumina e globulina dos feijões	20
3.4 - Determinação da composição centesimal	22
3.4.1 - Determinação do teor de proteínas	22
3.4.2 - Determinação do teor de cinzas.....	22
3.4.3 - Determinação do teor de lipídeos.....	23
3.4.4 - Determinação do teor de carboidratos	23
3.5 - Determinação do teor de minerais.....	24
3.6 - Determinação do teor de taninos.....	24
3.7 - Determinação da digestibilidade in vitro	25

3.8 - Análise estatística	26
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 - Composição centesimal.....	27
4.1.1 - Teor de proteínas	27
4.1.2 - Teores de carboidratos, lipídios e cinzas	29
4.2 - Extração das frações protéicas.....	31
4.3 – Teores de minerais	34
4.4 – Teores de taninos	38
4.5 – Digestibilidade in vitro	41
4.6 - Correlação entre teores de taninos e digestibilidade in vitro de proteínas de feijão.....	46
5 – RESUMO E CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
APÊNDICE	63

RESUMO

PIRES, Christiano Vieira, M.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2002. **Caracterização bromatológica e digestibilidade *in vitro* de proteínas de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Orientadora: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Conselheiros: Maurílio Alves Moreira, Neuza Maria Brunoro Costa e Sebastião Tavares de Rezende.

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a composição centesimal, os teores de minerais (Fe, Ca, Mn, Mg, Cu, Zn e K) e de taninos e o grau de digestibilidade protéica *in vitro*, das variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) Aporé, Aruã, Rudá, Pérola, Carioca, Ouro Branco, RAO 33, A 774, Vermelho Coimbra, Ouro Negro e Diamante Negro, fornecidas pela EMBRAPA - Arroz e Feijão, localizada em Goiânia-GO. Os resultados obtidos mostraram que os teores de minerais expressos em mg/100 g de amostra seca variaram de 4,46 a 6,40 para ferro; 122,53 a 207,41 para cálcio; 1,31 a 2,16 para manganês; 164,56 a 239,48 para magnésio; 1,22 a 2,74 para cobre; 2,34 a 3,35 para zinco; e 1172,55 a 1542,45 para potássio. O teor de taninos variou entre 3,21 e 31,71 mg de catequina/100 g de feijão. A variedade Ouro Branco foi a que apresentou menor teor de taninos e o cultivar Vermelho Coimbra maior conteúdo. O grau de digestibilidade *in vitro* variou entre 50,01 e 68,82% para os diferentes cultivares estudados. A variedade Aporé foi a que apresentou o menor valor de digestibilidade protéica (50,01%), seguido pelo cultivar Vermelho Coimbra. Não houve correlação entre os teores de taninos e a digestibilidade *in vitro*, indicando que o cozimento é suficiente para eliminar a interferência destes compostos na digestibilidade protéica. Os valores

encontrados para digestibilidade *in vitro* de proteínas das variedades estudadas foram próximos àqueles obtidos para a digestibilidade *in vivo* por vários autores que analisaram diversos cultivares. Neste trabalho, os valores encontrados para digestibilidade *in vitro* foram cerca de 70% que aqueles encontrados para a digestibilidade *in vivo* para estas mesmas variedades. Portanto, estas análises utilizando-se feijão sugerem uma possibilidade da utilização, pelas indústrias de alimentos, de métodos de digestibilidade protéica *in vitro*, desde que sejam devidamente respeitados todos os critérios adequados para a utilização deste parâmetro bioquímico. A aplicação e o uso de digestibilidade *in vitro* pela indústria é de extrema importância, pois estes testes podem ser realizados em um período de 24 horas, ao passo que experimentos *in vivo*, além de serem bastante complexos, requerem dias e, muitas vezes, meses para serem concluídos. Em escala industrial, o método *in vitro* é muito útil, pois permite uma análise prévia do grau de digestibilidade do material em um curto período de tempo.

ABSTRACT

PIRES, Christiano Vieira, M.S., Universidade Federal de Viçosa, march 2002.
Bromatologic Characterization and In vitro Protein Digestibility of Bean Cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). Adviser: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Committee members: Maurílio Alves Moreira, Neuza Maria Brunoro Costa and Sebastião Tavares de Rezende.

This work had the objectives of evaluating the chemical composition, mineral content (Fe, Ca, Mn, Mg, Cu, Zn and K), tannins and the degree of *in vitro* protein digestion, of a different cultivars of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Aporé, Aruã, Rudá, Pérola, Carioca, Ouro Branco, RAO 33, A 774, Vermelho Coimbra, Ouro Negro and Diamante Negro, provide by EMBRAPA – Arroz e Feijão, situated in Goiania, state of Goias. The results demonstrated that the mineral contents expressed in mg/100g of dry sample varied from 4.46 to 6.40 for Fe, 122.53 to 207.41 for Ca, 1.31 to 2.16 for Mn, 164.56 to 239.48 for Mg, 1.22 to 2.74 for Cu, 2.34 to 3.35 for Zn, and 1172.55 to 1542.45 for K. The content of tannins varied between 3.21 to 31.71 mg of catechin/100g of bean. The variety Ouro Branco showed the lowest content of tannins, and the cultivar Vermelho Coimbra, presented the highest content. The extent of *in vitro* digestion varied between 50.01% to 68.82% for the different varieties. The variety Aporé showed the smallest value for protein digestion (50.01%), followed by Vermelho Coimbra. There was no correlation between the contents of tannins and the *in vitro* digestion, which demonstrated that the simple stage of cooking is sufficient for eliminating the interference of these compounds. The values found for *in vitro* digestion of proteins for the studied varieties were close

to those obtained for digestion *in vivo* by various authors who analysed several varieties. Besides, the values obtained for *in vitro* digestion were around 70% of those found for digestion *in vivo* for those varieties. However, these analyses using bean, suggest the possibility of using *in vitro* protein digestion methods by food industries, as long as respected all suitable criteria for the usage of this biochemical parameter. The application and use of *in vitro* digestion by the industry is important, because such tests can be carried out in a 24-hour period, whereas, *in vitro* experiments, require days, and many times even months, to be concluded.

1 – INTRODUÇÃO

O feijão é a leguminosa mais consumida na América Latina, fornecendo quantidades significativas de proteínas, calorias e outros nutrientes para as dietas de populações em que geralmente predomina a desnutrição em graus variáveis (COELHO, 1991).

O gênero *Phaseolus* compreende todas as espécies conhecidas como feijão, sendo a *Phaseolus vulgaris* L. a mais conhecida e possui inúmeras variedades, como Carioca, Roxo, Mulatinho, Preto, etc. O feijão tipo Adzuki pertence à espécie *P. angularis* e é utilizado em países orientais. A variedade Lima é consumida na África e na Ásia e pertence às espécies *P. lunatos* e *P. limenses* (KANAMORI et al., 1982).

Amido e proteína são os principais componentes do feijão, sendo este considerado uma boa fonte protéica, contribuindo com aproximadamente 28% de proteína e 12% de energia na dieta da população brasileira (DURIGAN et al., 1987).

BRESSANI et al. (1981) observaram que além de aumentar o teor protéico da refeição, o feijão contribui para melhorar em 50 a 70% a qualidade das proteínas da dieta. Isso ocorre porque as proteínas do feijão são ricas em lisina, complementando as proteínas dos cereais, como arroz ou milho, sabidamente deficientes nesse aminoácido. A qualidade protéica do feijão é função do tipo e da quantidade de aminoácidos presentes no alimento e da sua biodisponibilidade.

O consumo mundial médio diário de feijão é de 60 a 70 g *per capita* (ANGELIS et al., 1982). Contudo a presença de fatores antinutricionais

protéicos e não-protéicos e aminoácidos limitantes reduzem a qualidade protéica do feijão. Dos fatores antinutricionais protéicos, os que têm sido mais pesquisados são os inibidores de proteases e lectinas e, entre os fatores não-protéicos, os compostos fenólicos têm recebido atenção considerável (DUARTE, 1999).

Estudos mostram que a conformação e estrutura primária das proteínas do feijão também contribuem para a redução do seu valor biológico (NIELSEN, 1991).

BRESSANI (1993) apontou a reduzida digestibilidade das proteínas de feijões como sendo multicausal, havendo fatores ligados à casca (taninos), aos colilédones (proteínas, taninos, fitatos, inibidores de proteases) e ao processamento e armazenamento.

O tanino faz parte de um grupo heterogêneo de compostos fenólicos presentes nos vegetais. Taninos e proteínas podem interagir, formando complexos. Essa interação poderá ocorrer com as proteínas dos alimentos ou com as enzimas do trato gastrointestinal (COELHO, 1991).

A baixa digestibilidade das proteínas do feijão, quando comparada à de outras proteínas animais ou mesmo vegetais, constitui um dos principais problemas relacionados à sua qualidade protéica. Apenas a melhoria do perfil de aminoácidos não é suficiente para garantir o seu aproveitamento, se após a ingestão não houver condições para sua liberação, absorção e metabolização (RODRIGUES, 1995).

Um conhecimento das causas da baixa digestibilidade das proteínas das leguminosas pode contribuir significativamente para sua melhor utilização (FUKUDA et al., 1982). Acredita-se que, com a retirada da casca, possa haver um aumento da digestibilidade das proteínas do feijão pela eliminação de alguns fatores antinutricionais, como os taninos (PEREIRA, 1998).

Diversos trabalhos de melhoramento genético têm sido desenvolvidos com o objetivo de obter variedades de feijão com melhores características agronômicas, buscando o aumento da produtividade, além da resistência à pragas e doenças. Porém, muitas destas variedades não são aceitas pelo

consumidor para uso na alimentação. Desta forma, torna-se importante o conhecimento do valor nutricional destas variedades para acrescentar informações que permitam dar mais subsídios aos trabalhos de melhoramento genético, orientando, assim, na produção de cultivares que atendam ao consumidor e ao produtor.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de determinar a digestibilidade *in vitro* de 11 variedades de feijão fornecidas pela EMBRAPA - Arroz e Feijão, além de avaliar a composição centesimal e determinar os teores de minerais e taninos.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Composição química de feijões

2.1.1 - Carboidratos

Embora os carboidratos sejam os principais constituintes de leguminosas, o conhecimento detalhado de sua natureza e de suas propriedades é limitado. Há duas razões principais para isso: a vasta heterogeneidade do material, variando de simples açúcares até heteropolissacarídeos complexos, e a determinação dos mesmos, que é feita por diferença. Com isso, a definição química de carboidrato passa a incluir outras substâncias, como ácidos orgânicos e lignina (STANLEY e AGUILERA, 1985).

A composição total de carboidratos de feijões secos varia de 60 a 65%. O principal carboidrato armazenado é o amido, com pequenas quantidades de monossacarídeos e dissacarídeos, como a sacarose (GEIL e ANDERSON, 1994). Oligossacarídeos da família da rafinose estão presentes em várias quantidades em leguminosas, incluindo a rafinose (variando de 0,2% em feijões Pink a 0,6% em feijões Pinto), estaquiose (variando de 0,2% em feijões Pink a 3,3% em feijões Navy) e verbascose (variando de 0,0% em feijões-Navy a 0,15% em feijões pinto) (GEIL e ANDERSON). Estes açúcares requerem a enzima α -galactosidase para hidrólise. Como o sistema digestivo humano não contém α -galactosidase, esses compostos permanecem não-digeridos e

sujeitos à fermentação microbiológica anaeróbica, resultando em produção de gás e flatulência (GEIL e ANDERSON, 1994).

Tem-se realizado estudos da digestibilidade do amido de leguminosas tanto *in vitro* quanto *in vivo* (SHURPALECKAR et al., 1979a; SHURPALECKAR et al., 1979b) e seu efeito no metabolismo dos outros componentes de alimentos, como proteínas e lipídios (SHURPALECKAR et al., 1979b). Amidos de diferentes variedades de feijão-comum têm sido isolados e caracterizados em relação à sua morfologia, às suas propriedades físico-químicas e funcionais e às suas mudanças durante o processamento (REYESMORENO e PAREDES-LÓPEZ, 1993).

Amido é um polímero de glicose usualmente armazenado como pequenos grânulos microscópicos em sementes e raízes de plantas (SATHE et al., 1985). Contêm dois tipos de polímeros de glicose: amilose, uma cadeia linear consistindo de ligações flexíveis α -1,4 entre unidades de glicose, de tal forma que a cadeia pode sofrer torção e se enrolar em torno de um eixo, e amilopectina, uma forma ramificada, com uma ligação α -1,6 para cada 30 ligações α -1,4 (REYES-MORENO e PAREDES-LÓPEZ, 1993).

O amido é encontrado em leguminosas na forma de grânulos ovalados de tamanhos variados (aproximadamente 20-50 μ m), dependendo da espécie. O hilo, usualmente muito distinto, é alongado ou fissurado. Os grânulos de amido de leguminosas são resistentes ao inchaço e à ruptura e são caracterizados como tendo um conteúdo de amilose de, aproximadamente 20-30%. Temperaturas de gelatinização variam em torno de 60 a mais de 75°C, mas esses valores são conhecidos como sendo fortemente influenciados por muitos fatores, como, quantidade de umidade, interação com outros componentes e se esta propriedade é medida intra ou extracelularmente (STANLEY e AGUILERA, 1985).

É importante ressaltar que feijões secos contêm uma quantidade substancial de carboidratos, como fibra na forma de celulose e hemicelulose, que varia de 3 a 7% em feijões secos cozidos. Essa variabilidade ocorre em virtude das definições diferentes e dos métodos de análise de fibras usados. A

fibra alimentar pode ser definida como compostos endógenos de materiais de plantas da dieta que são resistentes à digestão por enzimas humanas. Fibras alimentares podem ser classificadas como solúveis em água e insolúveis em água (GEIL e ANDERSON, 1994).

Com o recente desenvolvimento de técnicas baseadas em digestão enzimática para determinação do conteúdo de fibra dietética de alimentos (ASP et al., 1983), o interesse no estudo dos componentes solúveis e insolúveis aumentou (HUGHES, 1991).

Lignina, celulose e hemicelulose são constituintes típicos da porção insolúvel, enquanto pectina, algumas hemiceluloses e outros polissacarídeos fazem parte da porção solúvel das fibras dietéticas (OLSON et al., 1987). Sementes de leguminosas contêm mais fibras que cereais e são melhores fontes de fibra dietética solúvel metabolicamente ativa.

As mudanças químicas básicas de fibra dietética do alimento durante o cozimento continuam obscuras. A formação de amido resistente, complexos amilose-lipídio e produtos da reação de Maillard têm sido considerados importantes contribuintes para o aumento de fibra dietética (REYES-MORENO e PAREDEZ-LÓPEZ, 1993).

2.1.2 - Lipídios

Vegetais utilizados na alimentação humana têm conteúdo total de lipídios, denominado lipídio bruto ou extrato etéreo, variando de 1 a 50%; feijões ocupam o extremo inferior do espectro, enquanto sementes oleaginosas, o extremo superior (STANLEY e AGUILERA, 1985).

O conteúdo de lipídios de feijão é muito baixo, variando de 0,8 a 1,5%, podendo oscilar de acordo com a variedade, origem, localização, clima, condições ambientais e tipo de solo onde é cultivado (GEIL e ANDERSON, 1994).

Lipídios neutros são a classe predominante de lipídios em feijões-comuns, variando de 32 a aproximadamente 45% do total de lipídios (MAHADEVAPPA e RAINA, 1978). Lipídios neutros são compostos de triglicerídeos acompanhados em proporções menores de ácidos graxos livres, esteróis e éster de esteróis.

Os lipídios de feijão-comum mostram grande variabilidade na composição de ácidos graxos e contêm substancial quantidade de ácidos graxos insaturados (REYES-MORENO e PAREDEZ-LÓPEZ, 1993). Ácidos oléico (7 a 10%), linoléico (21 a 28%) e linolênico (37 a 54%) são os ácidos graxos insaturados mais freqüentes e representam de 65 a 87% do total de lipídios presentes em feijões. Também estão presentes ácidos graxos saturados, como o palmítico, que corresponde de 10 a 15% dos lipídios totais (MAHADEVAPPA e RAINA, 1978).

O conteúdo de ácidos graxos de diferentes feijões depende das condições de crescimento e da variedade, mas são predominantemente insaturados como ácido linolênico. Por exemplo, feijões-pinto contêm 16% de ácidos graxos saturados e 84% de ácidos graxos insaturados; feijões kidney 14% de saturados e 86% de insaturados; e feijões brancos pequenos Califórnia 13% de saturados e 87% de insaturados (GEIL e ANDERSON, 1994).

Lipídios insaturados têm alto poder de oxidação e os produtos finais desta reação, como os compostos carbonílicos, podem interagir quimicamente com produtos da decomposição de proteínas para produzir produtos finais interligados. Desse modo, o armazenamento de leguminosas pode resultar em perda de qualidade (de sabores e odores), valor nutricional e funcionalidade (STANLEY e AGUILERA, 1985).

A oxidação de lipídios pode ser classificada de enzimática, em razão da presença inerente de lipoxigenase, e não-enzimática (oxidativa). Ambas dão origem a hidroperóxidos e, posteriormente, a aldeídos, cetonas, ésteres, ácidos etc. (REYES-MORENO e PAREDEZ-LÓPEZ, 1993).

O óleo presente em feijões French torna-os susceptíveis ao desenvolvimento de *off flavor* durante a estocagem, o que é considerado

resultado da degradação enzimática de ácidos graxos insaturados. Ácidos linoléico e linolênico são precursores de aldeídos de cadeia curta tanto voláteis como não voláteis. Cetonas e aldeídos resultantes da atividade da hidroperóxidase redutase são responsáveis pelo *flavor* agradável de vegetal fresco associado ao metabolismo normal da planta em desenvolvimento. A geração de *off flavor*, apesar da inativação enzimática, indica que a oxidação de ácidos graxos insaturados em feijões secos armazenados resulta da oxidação não enzimática (RUTH et al., 1995).

Pouco se sabe a respeito da influência de lipídios sobre o endurecimento de feijões. TAKAYAMA et al. (1965) verificaram que não existe correlação entre triglicerídeos, fosfatídios e o conteúdo de lipídio bruto versus o tempo de armazenamento. No entanto, há mecanismos que sugerem que a oxidação e a polimerização de lipídios poderiam produzir mudanças na permeabilidade da água, a qual poderia influenciar a textura (STANLEY e AGUILERA, 1985).

2.1.3 - Vitaminas e minerais

Feijões-comuns crus constituem boa fonte de vitaminas aquossolúveis, especialmente tiamina (0,86 a 1,14 mg/100 g), riboflavina (0,136 a 0,266 mg/100 g), niacina (1,16 a 2,68 mg/100 g), vitamina B₆ (0,336 a 0,636 mg/100 g) e ácido fólico (0,171 a 0,579 mg/100 g), mas são pobres fontes de vitaminas lipossolúveis e de vitamina C (GEIL e ANDERSON, 1994).

Embora os métodos comerciais de preparação de feijões enlatados possam causar perda significativa de vitaminas hidrossolúveis, cozimentos comuns de feijões, em casa, parecem causar pequeno problema na retenção de nutrientes. Em termos da especificação da US *Recommended Daily Allowances* (RDA) para adultos, uma xícara de feijão-seco cozido pode proporcionar 30% do ácido fólico requerido, 25% de tiamina, 10-12% de piridoxina e menos de 10% de niacina e riboflavina, 29% de ferro para mulheres e 55% para homens, 20-25% de fósforo, magnésio e manganês,

aproximadamente 20% de potássio e cobre e 10% de cálcio e zinco. Porém, minerais de fontes vegetais são menos biodisponíveis que os de animais. A biodisponibilidade de vitaminas em feijões cozidos e suas interações com outros componentes do alimento são ainda incertas (GEIL e ANDERSON, 1994).

2.1.4 – Taninos

Compostos fenólicos podem interagir com as proteínas do feijão, causando diminuição em sua digestibilidade. Estes compostos 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).

Os taninos formam complexos insolúveis com proteínas (AW e SWANSON, 1985), sendo observado uma correlação negativa entre os teores de taninos e os valores de digestibilidade protéica (DURIGAN et al., 1987). Essa interação poderá ocorrer tanto com as proteínas dos alimentos, como com as enzimas do trato gastrointestinal (COELHO e LAJOLO, 1993).

Taninos de *Phaseolus vulgaris* são procianidinas. Há indícios de que o tamanho da cadeia dos taninos não seja o único critério associado com precipitação de proteínas. Diferenças na solubilidade dos complexos taninos/proteínas podem ser devidas a diferentes estruturas secundárias e terciárias das proteínas.

Grupos hidrofóbicos parecem estar envolvidos na formação e estabilização de complexos tanino-proteína. Um estudo da interação entre taninos condensados e poliaminoácidos indicou que o número de grupos metileno na cadeia lateral do aminoácido foi positivamente relacionado com a magnitude da interação. A presença de doadores de hidrogênio na forma hidroxilafenólica, em taninos e de aceptores de hidrogênio, na forma de funções carbonila, nas ligações peptídicas das proteínas, favorece a formação

de pontes de hidrogênio. Além disso, desde que ambos os grupos contenham regiões hidrofóbicas, núcleo aromático de taninos e cadeias alifáticas e aromáticas laterais dos aminoácidos da proteína, é possível que esses participem do fenômeno de interação (OH et al., 1980).

Embora os taninos sejam quimicamente um grupo diversificado e não bem definido, eles são normalmente divididos em taninos hidrolisáveis e taninos condensados (MANGAN, 1988). Os taninos hidrolisáveis são facilmente hidrolisados, química ou enzimaticamente, e podem ser quebrados em açúcares, ácidos carboxílicos e compostos fenólicos simples (SAVELKOUL et al., 1992). Os taninos condensados são os mais difundidos e típicos entre taninos de plantas e consistem de oligômeros dos "flavan-3-ols" (catequinas) e resíduos flavonóides que produzem tipicamente antocianidinas (cianidina e pelargonidina) na degradação ácida (MANGAN, 1988).

A quantificação de polifenóis em grãos e sementes é problemática devido, em parte, à diversidade de métodos usados e à presença de fatores interferentes. A eficiência na extração de polifenóis depende do solvente utilizado (CARMONA et al., 1991). Quando taninos estão ligados a proteínas eles não são detectados por métodos de rotina (BUTLER et al., 1980).

O conteúdo de taninos em feijões comuns varia de 0,0 a 2,0% dependendo da espécie e do feijão (REDDY et al., 1985). Feijões branco, preto e vermelho contém 0,34-0,42; 0,57-1,15; e 0,95-1,29% de polifenóis como o ácido tânico, principalmente na superfície da casca.

De acordo com BRESSANI (1989), as principais características de taninos em leguminosas podem ser resumidas como:

- Taninos estão presentes principalmente no tegumento da semente.
- O descascamento reduz os taninos significativamente, em até mais de 75%, para a maioria das leguminosas;
- O descascamento aumenta a digestibilidade da proteína e a qualidade protéica;
- A embebição em água reduz o conteúdo de taninos, mais ainda em

pH alcalino;

- O cozimento com água altera a distribuição dos taninos dentro do grão, com grandes quantidades no caldo de cozimento;
- O cozimento à pressão é menos efetivo que o cozimento atmosférico para reduzir os taninos;
- A germinação reduz o conteúdo de taninos;
- Os taninos inibem enzimas, reduzem a digestibilidade protéica e a de outros nutrientes;
- O consumo de taninos reduz a ingestão do alimento;
- Taninos podem interferir com a utilização de nutrientes e são mortais para ratos se ingeridos em altas concentrações;
- Seu conteúdo nas leguminosas é geneticamente dependente.

2.1.5 - Proteínas

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

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

A variação do teor de nitrogênio e, conseqüentemente, de proteínas totais ocorrem não somente em diferentes variedades de mesma procedência, mas também numa mesma variedade de procedência diferente, mostrando, portanto, a influência do meio sobre a formação da semente (SILVA e IACHAN, 1975).

Com o objetivo de aumentar o valor nutricional de sementes de leguminosas, tem-se utilizado a manipulação genética controlada dessas proteínas (STOCKMAN et al., 1976). O controle genético do conteúdo protéico total é complexo. A variação da porcentagem de proteínas não é apenas

dependente da expressão genética que controla a síntese e o acúmulo de frações específicas de proteínas, mas também de genes que controlam outros fatores, como, aquisição de nutrientes, vigor da planta, maturação, tamanho da semente, síntese e acúmulo de amido na semente, etc. (OSBORN, 1988).

As proteínas do feijão são classificadas em albuminas e globulinas, com base em suas solubilidades. Cada uma apresenta uma composição aminoacídica característica e a proporção de cada dessas frações nas sementes irá determinar a qualidade nutricional das proteínas totais presentes (JOHNSON e LAT, 1974). Assim como em grande parte das proteínas de leguminosas, as proteínas de feijão, em sua maioria, são globulinas. Estas são caracterizadas por serem solúveis em soluções salinas diluídas a pH 7,0 (WOLF, 1977).

Em geral, proteínas de reserva são globulinas, enquanto as albuminas são principalmente enzimas e proteínas ligadas ao metabolismo celular. As albuminas possuem maior valor biológico que as globulinas, por conterem maior teor de aminoácidos sulfurados e lisina. As proteínas restantes, glutelinas e prolaminas, estão fortemente ligadas às organelas e membranas celulares e são pouco estudadas (BHATTY 1982).

As globulinas estão armazenadas em organelas denominadas corpos protéicos, estruturas circundadas por membrana lipoprotéica e constituídas por 70 a 80% de proteínas, cerca de 10% de fitatos, cátions, ácidos nucleicos e teores variáveis de oxalatos, carboidratos (exceto amido), lipídios e tocoferóis (SUN e HALL, 1975; DIECKERT e DIECKERT, 1976).

SATHE e SALUNKHE (1981b) encontraram que albuminas e globulinas correspondem a 21,2 e 73,4%, respectivamente, do total de proteínas de feijão-comum Great Northern.

As globulinas correspondem de 33,5 a 81% e as albuminas de 12 a 52,4% da proteína total da semente (DESHPANDE e NIELSEN, 1987; SATHE et al., 1984).

Uma importante característica da composição de diversas proteínas de feijão, incluindo as duas maiores proteínas de reserva, é que elas contêm

vários carboidratos ligados covalentemente a elas (glicoproteínas) (JAFFÉ e HANNIG, 1965).

SUN e HALL, (1975) caracterizaram duas frações globulinas das sementes de feijão seco (*Phaseolus vulgaris*, Cv, *Teridergreen*), as quais foram denominadas de G₁ e G₂. A principal fração G₁ é essencialmente insolúvel em água deionizada, mas um pouco solúvel em NaCl 0,1 N e completamente solúvel em NaCl 0,2N. O ponto isoelétrico de G₁ estava na faixa de pH 4,4 a 5,6. Cerca de 20% da fração G₂ é solúvel em água e a solubilidade foi elevada com o aumento da concentração de cloreto de sódio. Fração G₂ foi completamente solúvel em NaCl 0,05N. O ponto isoelétrico para G₂ é pH 3,7. Eletroforese SDS-PAGE indicou que G₂ (menor mobilidade no gel) e G₁ continham três subunidades polipeptídicas.

A metionina é considerada o aminoácido limitante do valor biológico das proteínas do feijão, por ser nutricionalmente essencial para o organismo animal. Apesar de os aminoácidos cisteína e cistina poderem ser sintetizados pelos animais, eles são importantes, porque a metionina é um intermediário na biossíntese destes, tornando esse aminoácido essencial ainda mais limitante (SGARBIERI e WHITAKER, 1982). Assim, estudos de variação genética e composição aminoacídica têm sido centrados no conteúdo de metionina e cisteína (EVANS et al., 1978).

A composição de aminoácidos da principal proteína do feijão é caracterizada pelo baixo conteúdo de cisteína, metionina e triptofano. A proteína é rica em aminoácidos aromáticos, leucina e lisina e contém grande quantidade de ácido glutâmico (ou glutamina) e ácido aspártico (ou asparagina) (CHANG e SATTERLEE, 1981).

SGARBIERI e WHITAKER (1982) citaram que metionina e triptofano se encontravam em baixas concentrações em 25 variedades de feijão da América Central, enquanto lisina estava presente em todas as variedades. Metionina variou entre 0,80 e 1,39% (g aminoácido/100 g de proteína), triptofano entre 0,56 e 0,94% e lisina entre 7,22 e 9,22%. A concentração de proteína total encontrada nestas 25 variedades variou de 20,1 a 27,9%.

JAFFÉ e BRUCHER (1974), analisando o teor de proteína e o conteúdo de aminoácidos sulfurados de 100 variedades de feijão, encontraram valores médios de 1,12% de metionina, 0,98% de cistina e 22,7% de proteína total.

BHATTHY (1982) obteve 13% de albuminas e 30,5% de globulinas em *Phaseolus vulgaris*, cv. Saxa. Tanto a fração albumina como a globulina apresentaram teor de 1,2% de metionina, ao contrário do encontrado para sete outras leguminosas estudadas, para as quais o teor de metionina das albuminas apresentou-se 43 a 58% maior que o das globulinas.

2.2 - Digestibilidade das proteínas de feijão

A composição aminoacídica de uma proteína e a sua facilidade de hidrólise pelas enzimas digestivas são dois aspectos determinantes para avaliação de sua qualidade protéica, para ser utilizada na alimentação (SZETAO e SATHE, 2000).

A baixa utilização biológica das proteínas de *Phaseolus vulgaris* é atribuída a vários fatores, como baixo conteúdo de aminoácidos sulfurados, estrutura compacta de proteínas nativas de feijões, que podem resistir à proteólise, fatores antinutricionais, que podem modificar a digestibilidade e alterar a liberação dos aminoácidos e excreção elevada de nitrogênio endógeno (WU et al., 1995).

Possivelmente, um dos fatores que mais afetam a utilização das proteínas do feijão é a sua digestibilidade e, até agora, não se sabe ao certo a causa deste efeito. Tem-se admitido que a baixa solubilidade de algumas frações protéicas reduz sua susceptibilidade ao ataque enzimático. Numerosos estudos confirmam o fato de que o clássico inibidor da tripsina é termolábil, de modo que não poderia ser responsável pela baixa digestibilidade das proteínas do feijão cozido (GÓMEZ-BRENES et al., 1983).

A digestibilidade varia conforme o cultivar, em que sementes brancas têm digestibilidade maior e as vermelhas, menor (REDDY et al., 1985), fato que

foi associado ao teor e à natureza dos taninos da casca das variedades coloridas (AW e SWANSON, 1985).

A digestibilidade das proteínas decresce com o aumento da pigmentação do tegumento da semente. Os pigmentos são geralmente compostos fenólicos, que podem interagir com as proteínas do feijão, causando decréscimo em sua digestibilidade (BRESSANI et al., 1991).

Segundo SINGLETON (1981), existe quatro possíveis modelos que explicam a capacidade dos taninos em reduzir a qualidade protéica:

A - os taninos ligam-se às proteínas formando complexos insolúveis,

B – os taninos ligam-se às enzimas digestivas inativando-as,

C – os taninos estimulam a secreção intestinal causando um aumento na perda de proteínas endógenas,

D – os taninos ligam-se às células epiteliais do intestino delgado, comprometendo sua integridade, permitindo que bactérias e taninos entrem no sistema circulatório.

A ligação com polifenóis pode tornar as proteínas menos susceptíveis à hidrólise enzimática no trato digestivo, aumentando o nitrogênio fecal e diminuindo a digestibilidade da proteína. Ligações de taninos com lisina de proteínas de feijão podem diminuir a disponibilidade deste aminoácido. Por outro lado, polifenóis livres podem influenciar indiretamente a digestibilidade protéica pela inibição de enzimas digestivas (REDDY et al., 1985).

As características e o efeito das ligações entre proteína e polifenóis dependem do tipo de interação, covalente ou não covalente. Ligações não-covalentes podem ocorrer em pH ácido ou neutro e são reversíveis. Os polifenóis que podem sofrer estas ligações são principalmente os poliméricos ou taninos, embora polifenóis monoméricos ou não taninos também podem se ligar não covalentemente às proteínas. Como consequência, o valor nutricional é diminuído e a estrutura tridimensional das proteínas é modificada, alterando suas propriedades funcionais. As interações covalentes entre polifenóis e proteínas, juntamente com uma série de transformações enzimáticas, contribuem para o fenômeno de escurecimento. Essas interações são

irreversíveis e, caso aminoácidos essenciais estejam envolvidos nas ligações com polifenóis, haverá um decréscimo do valor nutricional dos alimentos, além de alterações nas qualidades organolépticas (HERNÁNDEZ et al., 1991).

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

Taninos e proteínas podem se interagir formando complexos insolúveis, sendo favorecidos pelo pH próximo do ponto isoelétrico da proteína e pelo excesso de ácido tânico. A intensidade das ligações entre taninos e proteínas depende de vários fatores. Esta interação poderá ocorrer tanto com as proteínas dos alimentos, como com as enzimas do trato gastrointestinal (COELHO e LAJOLO, 1993). As proporções de taninos e proteínas envolvidas na reação são influenciadas por álcool, sais, pH e tipo (grau de polimerização) dos taninos envolvidos (VAN BUREN e ROBINSON, 1969).

Valores para digestibilidade de gordura total e carboidratos de feijões crus foram maiores que 70%, comparados à digestibilidade de proteína, que é de 15,51%. Verifica-se, no entanto, que a melhoria na digestibilidade de proteínas é mais importante que a melhoria na digestibilidade de outros nutrientes de feijões na nutrição animal e humana (WU et al., 1995).

A digestibilidade das proteínas do feijão, em ratos, situa-se entre 40 e 70% (BRESSANI e ELIAS, 1984; Durigan et al., 1987, citados por MARQUEZ e LAJOLO, (1991). Em humanos, esta digestibilidade é ainda menor, atingindo não mais que 60% do nitrogênio ingerido (BRESSANI, 1983).

A origem do nitrogênio fecal e de enxofre em ratos alimentados com feijões cozidos ou albuminas e globulinas extraídas dos feijões foi esclarecida por MARQUEZ e LAJOLO, 1991. Feijões marcados com ^{15}N e ^{35}S foram

empregados para separar eliminação de proteína exógena (proteína dietética não-digerida) de eliminação de proteína endógena (sinais de descamação da mucosa e, ou, de elevada secreção de enzimas digestivas). A metodologia convencional usada previamente não considerava os processos metabólicos específicos de absorção e secreção que ocorrem no trato gastrointestinal e que alteram significativamente a composição do nitrogênio fecal. Com o consumo de feijões inteiros e em menor extensão, as albuminas isoladas do feijão levaram a um aumento na excreção de nitrogênio exógeno e endógeno. Contrariamente, globulinas de feijão cozido foram bem digeridas, não tendo nenhum efeito na perda do nitrogênio metabólico. Outros componentes não-protéicos, presentes no feijão inteiro, também podem estar envolvidos no aumento da proteína fecal, tanto endógena quanto exógena.

A presença da cadeia oligossacarídica pode ser um dos fatores responsáveis pela baixa digestibilidade das albuminas. O mesmo pode ser observado em faseolina, também uma glicoproteína, com aproximadamente 5% de açúcar. Um glicopeptídeo resistente à digestão foi observado em hidrolisado da faseolina (CHANG e SATTERLEE, 1981).

O valor nutritivo da proteína de grãos de *Phaseolus vulgaris* é aumentado pelo processamento térmico, especialmente em razão do calor úmido (POEL et al., 1990). Isto pode ocorrer em virtude da desnaturação de fatores antinutricionais de natureza protéica (POEL et al., 1990). Além disso, o aumento do valor nutricional pode ser o resultado de maior acessibilidade das proteínas do feijão ao ataque enzimático (Romero e Ryan, 1978, citados por POEL et al., 1990). O processo térmico deve garantir suficiente inativação dos fatores antinutricionais e, ao mesmo tempo, evitar degradação significativa de aminoácidos essenciais.

A digestibilidade da proteína de feijão cru geralmente situa-se entre 25 e 60%, mas, quando cozido, este valor sobe para 65 a 85%, dependendo da variedade e do processo de cocção usado (CHANG e SATTERLEE, 1981).

As proteínas normalmente apresentam digestibilidade reduzida quando no estado nativo e, em geral, maior após tratamento térmico. Estudos

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

3 - MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no laboratório de Enzimologia do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa.

3.1 - Material genético

As amostras de feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) utilizadas foram das variedades Aporé, Aruã, Rudá, Pérola, Carioca, Vermelho Coimbra, Ouro Branco, Ouro Negro, Diamante Negro, A 774 e RAO 33. Estas amostras foram fornecidas pela EMBRAPA – Arroz e Feijão, localizada em Goiânia-GO.

3.2 - Obtenção das farinhas de feijão

Os grãos foram selecionados e cozidos em água na proporção de 1:1,5 (p/v), em panela de pressão doméstica, durante 40 minutos. Após cozimento, os grãos foram secos, juntamente com o caldo de cocção, em estufa de ar circulante por 24 horas a 60°C, sendo posteriormente moídos em moinho de facas, marca Elo's, utilizando-se peneiras de 20 *mesh*.

3.3 - Extração das frações albumina e globulina dos feijões

A extração das frações protéicas foi realizada, agitando-se durante 24 horas, sob refrigeração a 4°C, 100 g de farinha de feijão em 1000 mL de solução de NaCl 0,2M, contendo 0,02% de azida sódica (Figura 1). A suspensão foi, então, centrifugada por 15 min a 750 x g e o precipitado descartado, sendo o sobrenadante utilizado para a separação das frações.

O sobrenadante foi dializado por 24 horas, duas vezes em água destilada e, a seguir, por mais 24 horas contra água deionizada sob refrigeração a 4°C, de forma a precipitar as globulinas (RODRIGUEZ, 1995). As frações foram separadas por centrifugação a 2100 x g, por 30 minutos seguidas de congelamento e liofilização.

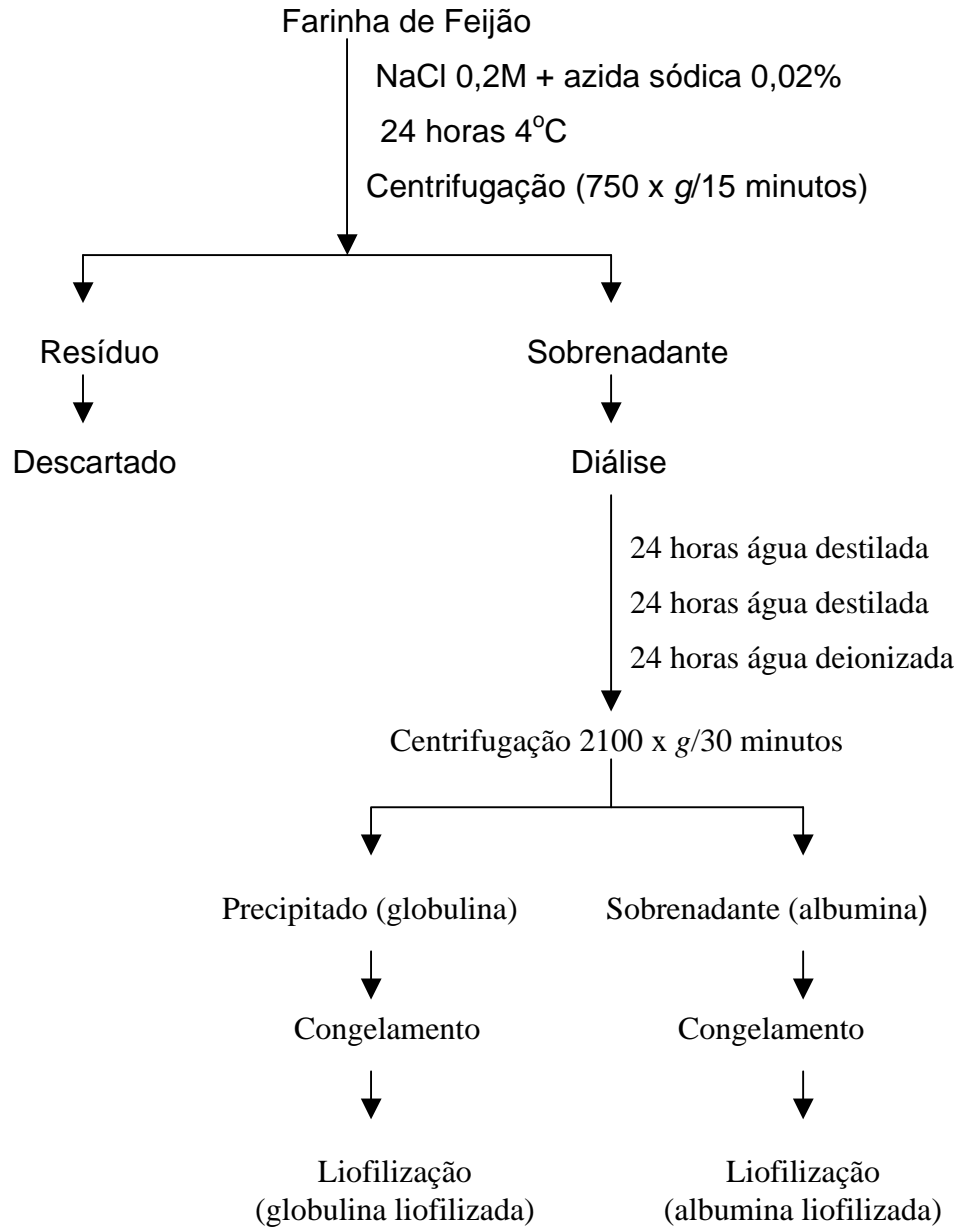


Figura 1 - Fluxograma de obtenção das frações protéicas do feijão

3.4 - Determinação da composição centesimal

3.4.1 - Determinação do teor de 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). Na fase de digestão, após obtenção do material aparentemente digerido, foi adicionado peróxido de hidrogênio 30%, levando a mistura a aquecimento por mais 60 minutos. Na fase de destilação, a amônia liberada foi recolhida em solução de ácido bórico 4%. O material recolhido foi titulado com HCl 0,1 N. Para a conversão do nitrogênio em proteínas foi utilizado o fator 6,25.

3.4.2 - Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado por meio de incineração da amostra, segundo método da AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984). A amostra foi colocada em um cadinho previamente seco e pesado. O cadinho com amostra foi levado à mufla a uma temperatura de 550°C de forma a ocorrer a incineração da amostra. O cálculo do teor de cinzas foi realizado como segue abaixo:

$$\% \text{ Cinzas} = C/A \times 100$$

Em que:

C = peso das cinzas

A = peso da amostra

3.4.3 - Determinação do teor de lipídeos

A determinação de lipídios foi realizada, segundo o método da AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984), com modificações. Pesou-se uma amostra de 15 gramas de farinha de feijão em um cartucho de papel de filtro. Este cartucho foi colocado em um extrator Soxlet, conectado a um balão previamente seco e pesado, contendo em torno de 200 mL de éter de petróleo. Todo o conjunto foi colocado em uma chapa aquecedora conectada a um sistema de refrigeração. Após 16 horas, a chapa foi desligada e o solvente recuperado, sendo o balão colocado para secar em estufa a 105°C, por um período de 5 horas. Após resfriar, o balão foi novamente pesado e a determinação da porcentagem de lipídios, calculada da seguinte forma:

$$\% \text{ de lipídios} = \frac{P2 - P1}{PA} \times 100$$

Em que:

P2 = peso do balão após extração e secagem

P1 = peso do balão vazio

PA = peso da amostra utilizada na análise

3.4.4 - Determinação do teor de carboidratos

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

3.5 - Determinação do teor de minerais

A determinação do teor de minerais foi realizada de acordo com o método da AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984). Pesou-se 1 g de amostra de feijão ao qual foram adicionados 10 mL de solução nitroperclórica (4:1 v/v) destes ácidos concentrados. As amostras foram colocadas em bloco digestor com aquecimento e exaustão, sendo mantidas nesta condição até a formação de uma solução límpida, sem coloração amarela. Após a digestão, o material foi transferido para balões volumétricos de 25 mL e o volume, completado com água deionizada.

Os elementos ferro, cálcio, magnésio, manganês, cobre e zinco foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica, em espectrofotômetro GBC 908 AA e o elemento potássio foi determinado por espectrofotometria de chama, em fotômetro de chama CORNING 400. Solução de cloreto de estrôncio hexahidratado ($\text{SrCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) foi adicionada às soluções minerais das amostras para determinação de cálcio e magnésio, a fim de evitar a subestimação dos resultados que ocorre quando esses íons encontram-se complexados com silicatos e fosfatos (GOMES, 1996).

A concentração dos elementos foi calculada utilizando-se uma curva padrão com concentração conhecida para cada elemento analisado.

3.6 - Determinação do teor 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 feijão, previamente seca em estufa a 105°C , por 16 horas, foi extraída com 5 mL de metanol absoluto por 30 minutos a 25°C , sob constante agitação. Logo após, o material foi centrifugado a $17200 \times g$ por 30 minutos. Foram coletados 400 μL do sobrenadante e adicionado 1 mL do reagente vanilina-HCl. Após um período de 20 minutos, a absorvância foi lida em espectrofotômetro a 500 nm. Um

branco foi preparado, para cada amostra, sem a presença do reagente vanilina. A curva padrão foi preparada usando catequina e os resultados expressos em mg de catequina por 100 g de amostra.

3.7 - Determinação da digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade *in vitro* foi determinada pelo sistema pepsina-pancreatina, de acordo com o método de SAUNDERS et al. (1973), com algumas modificações. Utilizou-se pepsina Sigma (1:60.000) e pancreatina Sigma (3 x USP). Solução contendo 50 mg de proteína foi hidrolisada com 1,5 mg de pepsina em 15 mL de tampão KCl-HCl, pH 2,0, [1 HCl (0,05 M):3,6 KCl(0,09 M)] a 37°C por 3 horas. Após este período, o pH foi elevado pela adição do mesmo volume de tampão fosfato de sódio 0,2 M, pH 8,0, contendo 4 mg de pancreatina, procedendo-se à hidrólise por mais 24 horas, a 37°C, sob agitação. As amostras foram centrifugadas a 12400 x *g* por 15 minutos e o sobrenadante descartado. O material foi ressuspendido em água para um volume de 30 mL e centrifugado novamente por mais duas vezes, sendo descartado o sobrenadante. A amostra controle foi preparada apenas com os tampões e amostra, não contendo enzimas. O cálculo da porcentagem de digestibilidade foi realizado como segue:

$$\% \text{ digestibilidade} = \frac{\text{Nac} - \text{Nat}}{\text{NT}} \times 100$$

Em que:

Nac: mg de nitrogênio na amostra controle.

Nat: mg de nitrogênio contido na amostra submetida à hidrólise enzimática.

NT: mg de nitrogênio total da amostra.

3.8 - Análise estatística

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

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Composição centesimal

4.1.1 - Teor de proteínas

O Quadro 1 apresenta o teor de proteínas nas amostras de feijão analisadas. Os valores encontrados para as variedades estudadas variaram de 18,17 a 25,93%, sendo o feijão preto Ouro Negro, o que apresentou o menor teor de proteínas e o feijão Aporé do grupo Carioca, maior teor. CRUZ (2000), trabalhando com estas mesmas variedades, encontrou valores de proteína entre 15,94 e 23,28%, para feijões cozidos com casca. DUARTE (1999) obteve um valor de 21% para feijão preto cozido. MARQUES et al. (1996), encontraram para as variedades Carioca lapar 18,8%; Carioca 80 20,8%; e Carioca IAC, 21,8%. Já OLIVEIRA et al. (2001) encontraram um valor de 19,8% de proteínas para feijão da variedade Carioca IAC, cozido e liofilizado, enquanto MALDONADO e SAMMÁM (2000), trabalhando com dez variedades de feijão, verificaram teores de proteína entre 16,65 e 25,96%.

Quadro 1 – Teor de proteínas em amostras de variedades brasileiras de feijão cozido e seco.

Feijões	Grupo	Proteínas (%)
Aporé	Carioca	25,93
Aruã	Carioca	20,93
Rudá	Carioca	18,57
Pérola	Carioca	21,30
Carioca	Carioca	18,51
Ouro Branco	Branco	21,97
RAO 33	Roxo	20,83
A 774	Mulatinho	20,24
Vermelho Coimbra	Vermelho	23,20
Ouro Negro	Preto	18,17
Diamante Negro	Preto	22,75

PEREIRA (1998) encontrou para o feijão preto sem casca teor de 19,7% de proteína, enquanto ROSA (1996), de 22,17% trabalhando também com feijão preto sem casca. Segundo PEREIRA (1998), a variação no teor de proteínas, pode ser decorrente da diferença entre os cultivares estudados, das condições de plantio e, ou, armazenamento ou da forma utilizada para se descascar os feijões. BRESSANI et al. (1981) determinaram o teor protéico de cinco variedades de feijão preto e encontraram valores que variaram de 19,2 a 25,9% no feijão cru e de 20,9 a 27,45% no feijão cozido. SINGH e SOOD (1997) verificaram valores entre 20,65% a 22,75% de proteínas, para três variedades de feijão analisadas. Segundo OSBORN et al. (1988), a porcentagem de proteínas de feijão varia entre 16 e 33%.

4.1.2 - Teores de carboidratos, lipídios e cinzas

O Quadro 2 apresenta os resultados obtidos para os teores de carboidratos, lipídios e cinzas. Os valores encontrados para os teores de carboidratos estão entre 68,92 e 76,75% em relação ao peso seco para as variedades estudadas. As variedades Carioca e Ouro Negro, com 76,75% de carboidratos, apresentaram valores idênticos, sendo também os maiores teores encontrados. Já a variedade Aporé, com 68,92% de carboidratos, foi a que apresentou menor teor. OLIVEIRA et al. (2001), estudando feijão da variedade Carioca IAC, submetida a cozimento e liofilização, encontraram um teor de carboidrato de 69,2%.

Quadro 2 - Teores de carboidratos, lipídios e cinzas em amostras de variedades brasileiras de feijão cozido e seco.

Feijões	Grupo	Carboidratos (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)
Aporé	Carioca	68,92	0,98	4,17
Aruã	Carioca	74,70	1,01	3,36
Rudá	Carioca	76,56	1,30	3,57
Pérola	Carioca	73,39	1,35	3,96
Carioca	Carioca	76,75	1,29	3,45
Ouro Branco	Branca	73,00	1,41	3,62
RAO 33	Roxo	74,53	1,00	3,64
A 774	Mulatinho	74,92	1,04	3,80
Vermelho Coimbra	Vermelho	71,49	1,33	3,98
Ouro Negro	Preto	76,75	1,21	3,87
Diamante Negro	Preto	71,86	1,43	3,96

BERRIOS et al. (1999), estudando uma variedade de feijão preto, encontraram valores do conteúdo de carboidratos de 67,83%, sendo inferior aos teores encontrados no presente trabalho para as variedades de feijão preto Ouro Negro (76,75%) e Diamante Negro (71,86%).

Os valores obtidos para os teores de carboidratos para as variedades estudadas foram superiores aos citados por GEIL e ANDERSON (1994), os quais descreveram que a quantidade de carboidratos em feijões secos variou de 60 a 65%.

Os teores de lipídios variaram entre 0,98% (variedade Aporé) e 1,43% (variedade Diamante Negro). OLIVEIRA et al. (2001) encontraram 2,5% de lipídios no feijão Carioca IAC, cozido e liofilizado. Já MALDONADO e SAMMÁM (2000), ao estudarem dez cultivares de feijão, verificaram que os teores de lipídios variaram entre 0,54 e 1,22%. OLIVEIRA (1997), analisando uma variedade de feijão vermelho, obteve um teor de lipídio de 0,71%.

Os teores de lipídios encontrados para as 11 variedades analisadas neste experimento estão de acordo com os determinados por GEIL e ANDERSON (1994), os quais observaram que os teores de lipídios para feijões variaram entre 0,8 e 1,5%.

Em relação à quantidade de cinzas totais, os valores variaram de 3,36 a 4,17%, sendo a variedade Aporé a que apresentou o maior teor. MALDONADO e SAMMÁM (2000) encontram valores para os teores de cinzas entre 3,45 e 5,26% para dez cultivares de feijão analisadas.

Para a variedade Vermelho Coimbra, foi encontrado um teor de 3,98% de cinzas, enquanto OLIVEIRA (1997) encontrou 3,5%, estudando também um cultivar de feijão vermelho.

BARAMPAMA e SIMARD (1993), estudando quatro variedades de feijão cultivadas em quatro regiões, verificaram que variedades idênticas apresentaram valores distintos nos teores de carboidratos, lipídios e cinzas.

Para as variedades estudadas, o feijão Aporé, do grupo Carioca, foi o que apresentou menores porcentagens de carboidratos e lipídios e maior porcentagem de cinzas em relação aos demais.

A variação nos teores de carboidratos, lipídios e cinzas pode ocorrer devido as diferenças entre os cultivares, origem, localização, clima, condições ambientais e tipo de solo onde são cultivados.

4.2 - Extração das frações protéicas

A extração das frações albuminas e globulinas foram possíveis devido à diferença em suas solubilidades, uma vez que as albuminas são solúveis em água e as globulinas, em soluções salinas.

Foi utilizada solução de NaCl 0,2 M para a solubilização das globulinas. Para que ocorresse a precipitação e separação desta fração, procedeu-se a diálise contra água destilada e água deionizada. A fração albumina permaneceu solúvel e a centrifugação permitiu a separação das duas, sendo a concentração de ambas realizada por meio de liofilização.

No Quadro 3 são apresentados os valores expressos em g/100g para a porcentagem de extração de albuminas e globulinas e a concentração de proteínas das variedades analisadas.

Quadro 3 – Frações protéicas e porcentagem de proteínas das frações albuminas e globulinas de amostras de variedades brasileiras de feijão cozido e seco

Feijões	Fração Albumina			Fração Globulina		
	g albumina /100 g feijão	Extração (%)	Proteína g/100 g	g globulina /100 g feijão	Extração (%)	Proteína g/100 g
Aporé	8,88	34,25	50,17	8,53	32,90	79,98
Aruã	8,21	39,22	48,76	6,86	32,77	74,23
Rudá	7,67	41,28	47,90	6,52	35,12	71,58
Pérola	8,03	37,69	49,81	7,01	32,91	72,87
Carioca	9,53	51,50	50,31	6,70	36,17	68,33
Ouro Branco	9,43	42,93	51,36	8,57	39,03	67,24
RAO 33	7,60	36,49	47,21	6,83	32,79	66,53
A 774	8,27	40,88	53,77	6,51	32,16	73,68
Ver. Coimbra	7,83	33,73	46,02	7,83	33,73	69,88
Ouro Negro	8,91	49,04	45,52	6,38	35,12	67,97
Diam. Negro	7,78	34,19	53,89	8,22	36,15	76,65

O grau de extração da albumina variou de 33,73 a 51,50% e para a globulina foi de 32,77 a 39,03% para as diferentes variedades de feijão. Para o cultivar Carioca, o grau de extração foi de 51,5% para a albumina e de 36,17% para a globulina. MARQUES e LAJOLO (1981), utilizando solução de NaCl 0,5 M contendo 0,25 M de ácido ascórbico, obtiveram um grau de extração de 31,5 e 51,9 % respectivamente para albumina e globulina extraídas de feijão da variedade Carioca. Os valores encontrados por MARQUES e LAJOLO (1981) são diferentes dos obtidos no presente trabalho, devido, possivelmente, ao fato destes autores terem trabalhado com solução de NaCl mais concentrada, o que provavelmente, possibilitou maior solubilização da fração globulina. PEREIRA (1998), utilizando o mesmo método de extração que MARQUES e LAJOLO (1981), porém, trabalhando com feijão preto sem casca, obteve um grau de extração de 41,7% para albumina e 58,3% para globulina. Portanto, valores da

fração albumina inferiores aos encontrados no presente trabalho, para as variedades Ouro Negro que foi de 49,04%, e maior do que Diamante Negro que foi de 34,19%. Entretanto, PEREIRA (1998) conseguiu maior grau de extração para a fração globulina, provavelmente em decorrência de diferenças nas concentrações salinas utilizadas para a solubilização das proteínas. CHANG e SATHERLEE (1981), obtiveram 43,3% de albumina e 56,7% de globulina para feijão Great Northern. DUARTE (1999), utilizando solução de NaCl 0,2 M, conseguiu extrair 37,93% da fração albumina e 56,63% da fração globulina, de feijão preto.

Observa-se que há uma variação no grau de extração das frações albuminas e globulinas obtidas por diversos autores. Possivelmente, a principal causa dessa variação é a forma de extração e as concentrações salinas das soluções utilizadas. Verificou-se, também, pelos dados obtidos por outros autores, que um aumento na concentração da solução de NaCl acarreta incremento no rendimento da extração da fração globulina, fração esta característica por ser solúvel em soluções salinas.

Em relação aos teores protéicos encontrados para estas duas frações, os resultados variaram de 45,52 a 53,77% para a fração albumina, enquanto que para globulina estes valores foram de 66,53 a 79,98%. Para o feijão preto Ouro Negro, os valores do teor de proteínas foram de 45,52% para a albumina e 67,97% para a globulina, estando próximos aos obtidos por DUARTE (1999) que, estudando feijão preto, obteve teor protéico para albumina e globulina de 54,53 e 71,74% respectivamente. BATHY (1982) estudou oito espécies de feijão e encontrou um teor protéico para albumina que variou de 59,4 a 77,5%.

Segundo RODRIGUES (1995), a concentração de cada fração protéica e sua composição depende da forma de extração, uma vez que, utilizando-se diferentes métodos e soluções extratoras, obtém-se rendimentos diferentes.

4.3 – Teores de minerais

A concentração dos elementos minerais analisados está apresentadaa no Quadro 4, com valores expressos em mg/100 g de amostra. A concentração de ferro variou de 4,46 a 6,40 mg/100 g de amostra para as variedades analisadas. O cultivar Aruã foi o que apresentou maior teor do elemento ferro (6,40 mg/100 g amostra), porém não diferindo em nível de 5% de probabilidade das amostras Rudá, A 774 e Ouro Negro. A variedade que apresentou menor teor de ferro foi a Ouro Branco (4,46mg/100 g amostra), sendo este valor diferente de todas as demais em nível de 5% de probabilidade. BARAMPAMA e SIMARD (1993), estudando quatro variedades de feijão, encontraram valores do conteúdo de ferro entre 6,02 e 9,49 mg/100 g de feijão seco, valores estes ligeiramente superiores aos encontrados no presente trabalho. MALDONADO e SAMMÁM (2000), verificaram que os teores de ferro estavam entre 8,81 e 76,03 mg/100 g de matéria seca, para diferentes variedades estudadas. OLIVEIRA (1997), estudando uma variedade de feijão vermelho cozido e seco encontrou teores de ferro de 7,70 mg/100 g de amostra. Já PEREIRA (1995), também trabalhando com feijão vermelho encontrou teor de ferro de 17,58 mg/100 g de amostra. Dados do IBGE (1999) relatam que feijão seco (*Phaseolus vulgaris* L.) contém aproximadamente 7,6 mg de ferro em cada 100 g de amostra.

Quadro 4 - Teor de minerais em amostras de variedades brasileiras de feijão cozido e seco

Variedades	Fe	Ca	Mn	Mg	Cu	Zn	K *
Aporé	5,32 ^b	135,08 ^{e,f}	2,16 ^a	239,47 ^a	1,53 ^a	2,34 ^a	1452,45 ^{a,b,c}
Aruã	6,40 ^a	153,53 ^c	1,87 ^{a,b}	198,04 ^b	1,86 ^a	3,21 ^{a,b}	1232,53 ^{e,f}
Rudá	5,67 ^{a,b}	156,86 ^c	1,89 ^{a,b}	206,51 ^b	1,64 ^a	3,12 ^{a,b}	1222,53 ^f
Pérola	5,25 ^b	151,38 ^{c,d}	1,54 ^{c,d}	210,34 ^b	1,44 ^a	3,10 ^{a,b}	1382,49 ^{b,c,d}
Carioca	5,33 ^b	172,23 ^b	1,62 ^{b,c}	205,50 ^b	1,81 ^a	3,24 ^{a,b}	1332,51 ^{d,e}
Ouro Branco	4,46 ^c	122,53 ^f	1,31 ^d	164,56 ^c	2,00 ^a	3,29 ^{a,b}	1172,55 ^f
RAO 33	5,37 ^b	172,51 ^b	1,47 ^{c,d}	215,98 ^b	2,31 ^a	2,78 ^b	1362,50 ^{c,d}
A 774	6,00 ^{a,b}	207,41 ^a	1,38 ^{c,d}	210,14 ^b	1,53 ^a	3,07 ^{a,b}	1482,47 ^{a,b}
Verm. Coimbra	5,56 ^b	137,46 ^{d,e}	2,14 ^a	198,64 ^b	1,22 ^a	3,35 ^a	1492,46 ^a
Ouro Negro	5,79 ^{a,b}	127,31 ^{e,f}	1,88 ^{a,b}	205,90 ^b	1,53 ^a	3,33 ^a	1542,45 ^a
Diamante Negro	5,39 ^b	174,16 ^b	1,86 ^{a,b}	214,07 ^b	2,74 ^a	3,23 ^{a,b}	1512,46 ^a

* valores expressos em mg do elemento/100 g de feijão cozido e seco.

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

Os valores encontrados para os teores de ferro, no presente trabalho, são próximos da média relatada pelo IBGE (1999). As recomendações diárias do elemento ferro na dieta são de 10 mg para homens e 15 mg para mulheres (BRODY, 1994). Sendo o consumo médio de feijão de aproximadamente 60 g/pessoa/dia (ANGELIS et al., 1982), os resultados mostraram que as variedades estudadas são capazes de fornecer em torno de 30% das necessidades diárias desse mineral para uma pessoa que se alimenta regularmente com feijão.

Para o elemento cálcio, a concentração variou de 122,53 a 207,41 (mg/100 g de feijão). O cultivar A 774 foi o que apresentou maior valor, diferindo estatisticamente de todas as demais. Já a variedade Ouro Branco apresentou os menores teores deste mineral, porém não diferindo estatisticamente das variedades Aporé e Ouro Negro. BARAMPAMA e SIMARD (1993), estudando quatro variedades de feijão cultivadas em quatro

diferentes regiões encontraram valores dos teores de cálcio entre 24,8 e 72,6 mg/100 g de feijão seco.

Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) contém aproximadamente 86 mg de cálcio em cada 100 g (IBGE, 1999). Observa-se que os valores obtidos para os teores de cálcio nas variedades de feijão estudadas, neste trabalho, foram superiores aos citados na literatura por outros autores e para a média do IBGE (1999).

Os valores encontrados para os teores de manganês variaram de 1,31 a 2,16 mg/100 g para as diferentes amostras. A variedade Aporé foi a que apresentou maior quantidade deste mineral, diferindo estatisticamente de todas as demais. O cultivar Ouro Branco foi aquele com menor conteúdo de manganês. OLIVEIRA (1997) encontrou um teor de manganês de 2,60 mg/100 g de amostra, analisando uma variedade de feijão vermelho.

As recomendações diárias para este mineral são de, aproximadamente 2-5 mg para adultos (BRODY, 1994). Portanto o feijão é capaz de suprir cerca de 25% das necessidades diárias de manganês para uma pessoa que se alimenta diariamente com cerca de 60g de feijão.

Para o magnésio, os valores obtidos variaram de 164,56 a 239,47 mg/100 g de feijão. A variedade Aporé foi a que apresentou o maior teor deste mineral (239,47 mg/100 g) e a Ouro Branco, menor quantidade (164,56 mg/100 g). As demais variedades não apresentaram diferença entre si quanto ao teor de magnésio em nível de 5% de probabilidade. BARAMPAMA e SIMARD (1993), analisando diferentes variedades, encontraram valores que variaram de 28,1 a 43,8 mg/100 g de feijão seco. Já OLIVEIRA (1997), trabalhando com uma variedade de feijão vermelho, encontrou um teor deste mineral de 158,20 mg/100g de feijão cozido e seco. Para todas as variedades estudadas neste trabalho, os teores de magnésio foram superiores aos citados na literatura.

As recomendações diárias para este mineral são de, aproximadamente 315 mg para adultos (BRODY, 1994). Assim, uma pessoa ao se alimentar regularmente, com cerca de 60 g de feijão diariamente, estará suprimindo aproximadamente 30% das suas necessidades diárias de magnésio.

Os teores de cobre nas variedades de feijão estudadas variaram de 1,22 a 2,74 mg/100 g de amostra. Porém, não houve diferença significativa entre todas as variedades em nível de 5% de probabilidade. BARAMPAMA e SIMARD (1993) encontraram valores entre 0,75 e 1,28 mg/100 g de feijão seco para os cultivares analisados. MALDONADO e SAMMÁM (2000), estudando dez variedades de feijão, verificaram que os teores de cobre estavam entre 0,83 e 2,42 mg/100 g de matéria seca para as diferentes espécies, tendo encontrado um valor de 0,98 mg/100 g de cobre para o cultivar Carioca. OLIVEIRA (1997) encontrou, para uma variedade de feijão vermelho teor de cobre de 1,00 mg/100 g de feijão cozido e seco. Os valores encontrados no presente trabalho são ligeiramente superiores aos citados na literatura.

As recomendações diárias para o cobre são de aproximadamente 1mg para adultos (BRODY, 1994). Portanto, uma pessoa com dieta regular de cerca de 60 g de feijão por dia, estará suprindo em torno de 90% da quantidade de cobre necessária para o seu metabolismo.

A concentração de zinco variou entre 2,34 e 3,35 mg/100 g de feijão. A variedade RAO 33 apresentou menor teor deste elemento, e o cultivar Vermelho Coimbra, maior quantidade de zinco. Estatisticamente não houve diferença entre todas as variedades, a exceção do feijão RAO 33. BARAMPAMA e SIMARD (1993), analisando diferentes variedades verificaram teores de zinco entre 6,33 e 8,79 mg/100 g de feijão seco. Já MALDONADO e SAMMÁM (2000), encontraram teores de zinco que variaram entre 2,50 e 6,08 mg/100 g de feijão seco, para diferentes cultivares estudados.

As recomendações diárias para o zinco são de aproximadamente 1,5 a 3,0 mg para adultos (BRODY, 1994). Logo, uma dieta normal com feijão é capaz de satisfazer 100% das necessidades diárias do organismo humano.

Quanto ao nível de potássio, os valores encontrados estão entre 1172,55 e 1542,45 mg/100 g de amostra de feijão. A variedade Ouro Branco foi a que apresentou menor quantidade deste mineral (1172,55 mg/100 g), porém não diferiu estatisticamente dos feijões Aruã e Rudá, que apresentaram 1232,53 e 1222,53 mg/100 g de feijão respectivamente. Já o feijão Ouro Negro,

foi aquele com maiores teores de potássio, entretanto, não sendo diferente em nível de 5% de probabilidade das variedades Aporé, A 774, Vermelho Coimbra e Diamante Negro. BARAMPAMA e SIMARD (1993) encontraram valores entre 442 e 631 mg/100 g de amostra seca, analisando diversas variedades de feijão cultivadas em diferentes regiões.

De todas as variedades analisadas no presente trabalho, o feijão Ouro Branco foi o que apresentou os menores teores de ferro, cálcio, manganês, magnésio e potássio em relação a todas as outras variedades (Quadro 3).

Observa-se que as variedades de feijão estudadas são capazes de suprir grande parcela das necessidades diárias de minerais na alimentação, o que mostra que o feijão é capaz de fornecer uma série de nutrientes que, muitas vezes, seria necessário buscar em diversas fontes distintas de alimento.

Verifica-se pela análise de minerais que os valores encontrados estão próximos àqueles descritos por outros autores e que há uma variação nos teores dos elementos analisados para as 11 variedades estudadas. As causas dessas diferenças nas quantidades de minerais entre as espécies podem ser: região de cultivo de cada variedade, a época de cultivo e colheita e principalmente, condições do solo.

4.4 – Teores de taninos

Compostos fenólicos em feijões têm sido determinados pelo método de Folin-Denis e expressos em ácido tânico ou pelo método da vanilina e expressos em equivalentes de catequina (BRESSANI e ELIAS, 1980). O método utilizado no presente trabalho foi o da vanilina e os valores de taninos foram expressos em mg de catequina por 100 g de amostra.

Os valores dos teores de taninos, determinados para 11 variedades de feijão, são apresentados no Quadro 5.

Quadro 5 - Teor de taninos em amostras de variedades brasileiras de feijão cozido e seco

Feijões	Grupo	mg catequina/100g feijão
Aporé	Carioca	19,90 ^{b,c,d}
Aruã	Carioca	15,17 ^{d,e}
Rudá	Carioca	22,82 ^b
Pérola	Carioca	16,97 ^{c,d,e}
Carioca	Carioca	15,37 ^{d,e}
Ouro Branco	Branca	3,21 ^f
RAO 33	Roxo	30,05 ^a
A 774	Mulatinho	12,33 ^e
Vermelho Coimbra	Vermelho	31,71 ^a
Ouro Negro	Preto	21,27 ^{b,c}
Diamante Negro	Preto	15,65 ^{c,d,e}

Médias dentro da mesma coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os teores de taninos variaram entre 3,21 e 31,71 (mg catequina/100 g de amostra). A variedade Ouro Branco, feijão pertencente ao grupo branco, foi o que apresentou menor teor 3,21 (mg catequina/100 g de amostra), diferindo estatisticamente de todos os demais. Já a variedade Vermelho Coimbra, foi a que apresentou maior quantidade de taninos 31,71 (mg catequina/100 g de amostra), seguida da variedade RAO 33 com 30,05 (mg catequina/100 g de amostra), sendo iguais estatisticamente entre si e diferentes de todas as demais variedades estudadas.

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. O conteúdo de taninos dos feijões pigmentados com casca e descascados variou de 33,7 a 282,8 mg catequina/100 g de feijões com casca e de 10,0 a 28,7 mg catequina/100 g de feijões descascados.

DESHPANDE et al. (1982), trabalhando com diferentes variedades de feijões inteiros e crus, encontraram valores de teores de taninos de 264,7 mg de catequina/100 g de amostra para feijão Pinto, 282,8 mg de catequina/100 g de amostra para feijão “Small Red”, e não detectaram teores de taninos em feijão “Small White”.

Segundo DESHPANDE et al. (1982), feijões vermelhos apresentam um teor médio de taninos de 128,75 mg catequina/100 g de feijão, sendo, entretanto, este valor reduzido em 79% com a retirada da casca.

ALONSO et al., (2000) encontraram teores de taninos de feijão kidney cru de 359 mg de catequina/100 g de amostra e verificaram que quando este feijão era deixado de molho por 12 horas a 30°C, os teores de taninos eram reduzidos para 272 mg de catequina/100 g de amostra.

OLIVEIRA, et al. (2001), estudando o teor de taninos do feijão do cultivar Carioca IAC, verificaram que o cozimento leva a redução de aproximadamente 87% no teor de taninos.

Os efeitos nutricionais de polifenóis são sempre prejudiciais. Polifenóis, como taninos condensados, localizam-se predominantemente no pericarpo ou tegumento, particularmente em cultivares pigmentados (DESHPANDE et al., 1982).

Verificou-se que os valores encontrados para os teores de taninos das variedades estudadas no presente trabalho foram inferiores aos citados por outros autores. A principal causa disto é, provavelmente a etapa de cozimento utilizada no processamento e preparo das amostras, o que pode ter levado a redução ou, mesmo, inativação nos teores de taninos.

Após cozimento do feijão, a maior parte dos taninos é encontrada no caldo, com menores teores na casca e cotilédone, respectivamente. O conteúdo de taninos no caldo é inversamente proporcional ao tempo de cozimento. Esse fato pode estar associado à formação de complexos moleculares entre taninos condensados e compostos afins (proteínas, lipídios e oligossacarídeos), que se depositam no caldo durante a cocção. Esses

complexos não são detectados pelas técnicas analíticas de determinação de taninos (GOYCOOLEA et al., 1990).

4.5 – Digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade é o primeiro fator que afeta a eficiência da utilização protéica na dieta. Quando certas ligações peptídicas não são hidrolisadas no processo digestivo, parte da proteína é excretada nas fezes ou transformada em produtos do metabolismo pelos microorganismos do intestino grosso (SGARBIERI e WHITAKER, 1982). Em decorrência disto, é importante que se conheça os valores de digestibilidade protéica de um alimento antes de utilizá-lo na alimentação de animais ou humanos.

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

No presente trabalho foi analisado um sistema para ensaio de digestibilidade *in vitro*, utilizando-se um sistema digestivo com pepsina e pancreatina em diferentes concentrações e tempos de hidrólise. O Quadro 6, mostra os valores da leitura da absorvância a 280 nm do sobrenadante hidrolizado das amostras para os diferentes testes realizados. A concentração de pepsina 3%, por um período de 3 horas com posterior adição de pancreatina 8%, seguida por hidrólise durante 24 horas, foi o sistema que permitiu maior hidrólise protéica. Não foram analisados tempo de ação e concentração de pepsina porque estudos realizados por outros autores já mostraram que as condições pepsina 3%, por 3 horas de hidrólise, são as que apresentam maior grau de hidrólise. Esses resultados levaram a optar por estas condições para a realização da digestibilidade *in vitro* das amostras de feijão, uma vez que nestas condições é possível obter um teor de digestibilidade protéica *in vitro* próximo aos valores de digestibilidade *in vivo*.

A hidrólise protéica permite a formação de peptídeos de baixo peso molecular, que podem ser separados das moléculas de maior peso molecular por meio de centrifugação. A centrifugação permite que as moléculas de maior peso molecular se sedimentem e as de menor peso molecular permaneçam no sobrenadante, permitindo, assim, a estimativa do grau de hidrólise por meio de leitura da absorvância a 280 nm. Os aminoácidos aromáticos absorvem na faixa de comprimento de onda de 280 nm. Desta forma, maior grau de hidrólise originará uma maior quantidade de resíduos de aminoácidos aromáticos no sobrenadante, o que, conseqüentemente, levará à maior leitura da absorvância.

Quadro 6 – Valores médios de absorvância a 280 nm, do hidrolizado protéico da amostra de feijão da variedade Ouro Branco

Sistemas testados	Tempo de ação da pancreatina (horas)			
	4	6	10	24
Pepsina 3% (3 h) + Pancretina 4%	0,1979	0,2008	0,2229	0,2763
Pepsina 3% (3 h) + Pancretina 6%	0,2440	0,2560	0,2602	0,3241
Pepsina 3% (3 h) + Pancretina 8%	0,2713	0,2772	0,2854	0,3889

Condições experimentais: amostras de feijão contendo 50 mg de proteína, concentração de pepsina 3%, concentração de pancreatina variando de 4%, 6% e 8%. Temperatura de incubação 37°C.

Observa-se no Quadro 7 que os valores encontrados para a porcentagem de digestibilidade *in vitro* variaram entre 50,01 e 68,82%. O feijão da variedade Pérola foi o que apresentou maior grau de digestibilidade não diferindo porém, em nível de 5% de probabilidade das variedades Aruã (66,28%), Rudá (64,91%), Carioca (66,74%), Ouro Branco (66,04%), RAO 33 (62,67%), Ouro Negro (66,30%) e Diamante Negro (66,16%). A variedade

Aporé foi a que apresentou menor grau de digestibilidade (50,01%) e diferiu de todas as demais em nível de 5% de probabilidade. Já as variedades A 774 e Vermelho Coimbra não diferiram estatisticamente entre si quanto ao grau de digestibilidade.

Quadro 7 – Digestibilidade protéica de amostras de variedades brasileiras de feijão cozido e seco

Feijões	Grupo	% Digestibilidade		
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i> *	(<i>in vitro/in vivo</i>) %
Aporé	Carioca	50,01 ^d	91,04	54,9
Aruã	Carioca	66,28 ^a	88,61	74,8
Rudá	Carioca	64,91 ^{a,b}	85,31	76,1
Pérola	Carioca	68,82 ^a	91,12	75,5
Carioca	Carioca	66,74 ^a	88,05	75,8
Ouro Branco	Branca	66,04 ^a	93,97	70,3
RAO 33	Roxo	62,67 ^{a,b}	85,66	73,2
A 774	Mulatinho	59,30 ^{b,c}	88,67	66,8
Verm. Coimbra	Vermelho	55,35 ^{c,d}	90,44	61,2
Ouro Negro	Preto	66,30 ^a	87,56	75,7
Diamante Negro	Preto	66,16 ^a	91,50	72,3
Média		62,96	89,27	70,5

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

*Valores de digestibilidade *in vivo* encontrados por CRUZ, (2000).

Condições experimentais do ensaio de digestibilidade *in vitro*: amostras de feijão contendo 50 mg de proteínas, submetidas a hidrólise com solução de pepsina 3% por 3 horas a 37 °C, seguida de hidrólise com solução de pancreatina 8% por 24 horas a 37 °C.

MARQUES e LAJOLO (1981) verificaram que a digestibilidade *in vitro* (21, 40 e 31%) é menor que a digestibilidade *in vivo* (71, 69 e 72%) para as variedades Carioca, Rosinha G2 e Rico, respectivamente.

DUARTE (1999), trabalhando com feijão preto, utilizando a tripsina (10%) para hidrólise, encontrou um valor de 13% para a digestibilidade *in vitro*, o qual foi bem inferior aos encontrados no presente trabalho.

BRESSANI (1989), em revisão sobre o assunto, mostrou que feijões brancos cozidos, com casca, têm digestibilidade mais alta (59,8%), seguidos pelos pretos (51,4%) e roxos (52,9%). BRESSANI e ELIAS (1984) encontraram para feijões negro, roxo, branco e marron valores de digestibilidade protéica de 71,5; 72,4; 76,6; e 70,7% respectivamente.

FUKUDA et al. (1982) determinaram a digestibilidade aparente de feijão preto cozido com casca, encontrando valores que variaram de 65,6 a 66,7%. HUGHES et al. (1996), em experimentos com ratos, analisando uma variedade de feijão preto, encontraram para a digestibilidade aparente e verdadeira valores de 68,3 e 69,3% respectivamente, valores estes próximos aos encontrados no presente trabalho para as digestibilidades *in vitro* dos feijões preto Ouro Negro (66,30%) e Diamante Negro (66,16%).

DURIGAN et al. (1987) determinaram a digestibilidade aparente de algumas variedades de feijões cozidos com casca e encontrou valores entre 59,3 e 72,6%.

Segundo Jaffe, citado por COELHO (1991), os tegumentos das sementes apresentam menor digestibilidade que o feijão integral e seu endosperma, provavelmente em função de conterem teores relativamente elevados de compostos fenólicos e fitatos. Alimentos preparados a partir de feijão descascado apresentam maior digestibilidade, sendo mais recomendados para dietas especiais (merenda escolar e outras que requerem maior aproveitamento protéico).

SAUDERS et al. (1973) avaliaram a digestibilidade *in vitro* de um concentrado protéico de alfafa por três métodos: papaína, pepsina-pancreatina e pepsina-tripsina. Eles observaram que os métodos envolvendo pepsina

mostraram alto grau de correlação com os valores de digestibilidade *in vivo*, como mostrado neste trabalho.

MARQUES e LAJOLO (1981), testando os métodos envolvendo tripsina, pancreatina e pepsina-pancreatina para a digestibilidade *in vitro* da fração albumina, encontraram os valores de 28, 10, e 52%, respectivamente.

RODRIGUES (1995) verificou que as proteínas de feijão são pouco hidrolisadas quando não previamente submetidas à ação da pepsina.

Pesquisas mostraram que a digestibilidade de feijões de tegumento colorido é menor que aqueles de tegumento não colorido e que feijão preto tem digestibilidade mais baixa, devido ao alto conteúdo de taninos (CRUZ, 2000). No presente trabalho encontramos um valor para a digestibilidade *in vitro* do feijão da variedade Vermelho Coimbra de 55,35%, inferior a todas as demais, excetuando-se a variedade Aporé. Isso traz evidências de que o teor de pigmentos presentes nesta variedade esteja de certa forma interferindo na hidrólise protéica.

Os valores encontrados para digestibilidade *in vitro* das variedades estudadas estão próximos àqueles obtidos para a digestibilidade *in vivo* por vários autores.

CRUZ (2000) realizou a digestibilidade *in vivo* das variedades acima e obteve valores entre 85,31 e 93,97% para a digestibilidade verdadeira, sendo a variedade Ouro Branco a que apresentou maior valor. Os valores encontrados para digestibilidade *in vitro* no presente trabalho foram inferiores que os encontrados para a digestibilidade *in vivo* por CRUZ (2000). Espera-se esta diferença entre a digestibilidade *in vivo* e *in vitro*, uma vez que nos estudos *in vivo*, para que ocorra a digestibilidade protéica os animais de experimentação utilizam um complexo enzimático de enzimas digestivas presentes no organismo animal além dos ácidos envolvidos no processo de digestão e todo um controle hormonal. Já no presente estudo foi utilizado somente enzimas pepsina e pancreatina. Entretanto, verificou-se valores de digestibilidade *in vitro* correspondendo a aproximadamente 70% do valor obtido para os estudos realizados *in vivo*. Essas análises utilizando-se feijão sugerem uma

possibilidade da utilização, pelas indústrias de alimentos, de ensaios da digestibilidade *in vitro* de produtos alimentícios, desde que sejam devidamente respeitados todos os critérios adequados para a utilização deste parâmetro bioquímico.

4.6 - Correlação entre teores de taninos e digestibilidade *in vitro* de proteínas de feijão

Para as variedades estudadas neste experimento, observa-se no Quadro 8 que não houve correlação significativa entre os teores de taninos e os valores encontrados para digestibilidade *in vitro*. Variedade com pouco teor de tanino, como a Ouro Branco (3,21mg catequina/100 g amostra), apresentou valores de digestibilidade *in vitro* estatisticamente iguais a variedades com maiores teores de taninos, como Aruã, Rudá, Pérola, Carioca, Ouro Negro e Diamante Negro.

Quadro 8 – Correlação entre teores de taninos e digestibilidade *in vitro* de proteínas de feijão

Feijões	% digestibilidade <i>in vitro</i>	Taninos mg de catequina/100g amostra
Aporé	50,01 ^d	19,90 ^{b,c,d}
Aruã	66,28 ^a	15,17 ^{d,e}
Rudá	64,91 ^{a,b}	22,82 ^b
Pérola	68,82 ^a	16,97 ^{c,d,e}
Carioca	66,74 ^a	15,37 ^{d,e}
Ouro Branco	66,04 ^a	3,21 ^f
RAO 33	62,67 ^{a,b}	30,05 ^a
A 774	59,30 ^{b,c}	12,33 ^e
Vermelho Coimbra	55,35 ^{c,d}	31,71 ^a
Ouro Negro	66,30 ^a	21,27 ^{b,c}
Diamante Negro	66,16 ^a	15,65 ^{c,d,e}

Coeficiente de correlação: -0,3678

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

Possivelmente este fato esteja associado ao método de processamento utilizado nas amostras estudadas, uma vez que todas as variedades foram submetidas a cozimento. Sugere-se que o teor de taninos no presente estudo tenha sido reduzido durante a cocção a valores que não foram capazes de causar alteração na digestibilidade das proteínas.

DESHPANDE e CHERYAN (1993) verificaram que ocorre redução do conteúdo de taninos de vários feijões pela maceração, em diferentes soluções, visto que alguns taninos se difundem para o endosperma do cotilédone e se ligam às proteínas durante esse processamento.

Segundo BRESSANI e ELIAS (1980), o processo cozimento não é capaz de destruir taninos, mas estes são parcialmente removidos com o caldo de cozimento.

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

5 – RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a composição centesimal, os teores de minerais e de taninos e o grau de digestibilidade protéica *in vitro* das variedades de feijão Aporé, Aruã, Rudá, Pérola, Carioca, Ouro Branco, RAO 33, A 774, Vermelho Coimbra, Ouro Negro e Diamante Negro, fornecidos pela EMBRAPA – Arroz e Feijão, localizada em Goiânia-GO, buscando informações que permitam dar mais subsídios aos trabalhos de melhoramento genético e orientar na produção de variedades, que atendam ao produtor e ao consumidor. Objetivou-se, também, a utilização da digestibilidade *in vitro* como forma alternativa de realizar testes para prever a digestibilidade protéica de feijão em curto período de tempo e a custos mais reduzidos.

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

Os teores de proteína variaram entre 18,17 e 25,93% para as amostras de feijão.

Os teores de carboidratos, lipídios e cinzas encontrados ficaram entre 68,92 e 76,75%; 0,98 e 1,43%; e 3,36 e 4,17%, respectivamente, para as 11 variedades analisadas.

Os resultados obtidos mostraram que os teores de minerais expressos em mg/100 g de amostra seca variaram de 4,46 a 6,40 para ferro; 122,53 a 207,41 para cálcio; 1,31 a 2,16 para manganês; 164,56 a 239,48 para magnésio; 1,22 a 2,74 para cobre; 2,34 a 3,35 para zinco; e 1172,55 a 1542,45 para potássio.

De todas as variedades analisadas no presente trabalho, o feijão Ouro Branco foi o que apresentou menores teores de ferro, cálcio, manganês, magnésio e potássio em relação às outras variedades.

O teor de taninos variou entre 3,21 e 31,71 mg de catequina/100 g de feijão. A variedade Ouro Branco foi a que apresentou menores teores e o cultivar Vermelho Coimbra, maior conteúdo.

O método testado para digestibilidade *in vitro* com a utilização de pepsina, seguida de hidrólise por 3 horas, com posterior adição de pancreatina, seguida de hidrólise por mais 24 horas, foi o que permitiu obter maiores valores para digestibilidade.

Os valores encontrados para a digestibilidade *in vitro* variaram entre 50,01 e 68,82% para as diferentes variedades estudadas.

Não houve correlação significativa entre a concentração de taninos e os valores de digestibilidade *in vitro*.

Os valores encontrados para digestibilidade *in vitro* de proteínas das variedades estudadas foram próximos àqueles obtidos para a digestibilidade *in vivo* por vários autores.

Os valores de digestibilidade *in vitro* foram de aproximadamente 70% dos valores obtidos para a digestibilidade *in vivo* para estas variedades. Essas análises sugerem uma possibilidade da utilização, pelas indústrias de alimentos, de ensaios da digestibilidade *in vitro* de produtos alimentícios, desde que sejam devidamente respeitados todos os critérios adequados para a utilização deste parâmetro bioquímico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, R., AGUIRRE, A., MARZO, F. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and *in vitro* digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. **Food Chem.**, v.68, p. 159-165, 2000.
- ANGELIS, R. C., ELIAS, L. G., BRESSANI, R. Mesclas de arroz y frijol (55:45 y 77:23). Valor nutricional das proteínas de lãs mesclas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.32, n.2, p.47-63, 1982.
- ASP, N. G., JOHANSSON, C. G., HALLMER, H., SILJESTON, M. Rapid enzymatic essay of insoluble and soluble dietary fiber. **J. Agric. Food Chem.**, v.31, p.476-481, 1983.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytica Chemists**. 14.ed.. Virginia, 1984. p.1141.
- AW. T. L., SWANSON, B. G. Influence of tannin on *Phaseolus vulgaris* protein digestibility and quality. **J. Food Sci.**, v.50, n.1, p.67-71, 1985.
- BARAMPAMA, Z., SIMARD, R. E. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) grown in Burundi. **J. Food Chem.**, v. 47, p.159-167, 1993.

- BERRIOS, J. 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.
- BHATTY, R. S. Albumin proteins of eight edible grain legume species: eletroforetic patterns and aminoacid composition. **J. Agric. Food Chem.**, v.30, p.620-622, 1982.
- BRESSANI, R., NAVARRETE, D. A., GARCIA-SOTO, A. Culinary pratics and consumption characteristics of common beans at the rural home level. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.31, n.3, p.550-570, 1981.
- BRESSANI, R. Research needs to up-grade the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Qual. Plant Foods Hum. Nutr.**, v.31, p.101-110, 1983.
- BRESSANI, R., ELIAS, L. G. Relacion entre la digestibility y el valor proteinico del frijol comum (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.34, n.1, p.189-197, 1984.
- BRESSANI, R., ELIAS, L. G. **The nutritional role of polyphenols in beans.**
In: HULSE, J. H. Polyphenols in cereals and legumes. Canadá: Ottawa, 1980. p.61-72.
- BRESSANI, R., MORA, D. R., FLORES, R. Evaluation dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido, y efecto que estos provocam en la digestibilidad de la proteina. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.41, n.4, p.569-583, 1991.
- BRESSANI, R. Revision sobre la calidad del grano de frijol. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.39, n.3, p.419-443, 1989.

- BRODY, T. **Nutritional Biochemistry**. New York. Academic Press Inc. 1994. 658p.
- BUTLER, L. G., PRICE, M. L., BROTHERMOM, J. E. Vanillin assay for proanthocyanidins (condensed tannins): modification of the solvent for estimations of degree of polymerization. **J. Agric. Food Chem.**, v.30, p.1087-1096, 1980.
- CARMONA, A., SEIDEL, D. S., JAFFE, W. G. Comparison of extraction methods and assay procedures for determination of the apparent tannin content of common beans. **J. Sci. Food Agric.**, v.56, p.291-301, 1991.
- CHANG, K. C., SATTETLEE, L. D. Isolation and characterization of the major protein from Great Northern beans (*Phaseolus vulgaris*). **J. Food Sci.**, v.46, n.4, p.1368-1376, 1981.
- COELHO, R. C. Considerações sobre as proteínas do feijão. **Revista de Nutrição**, v.4, n.1, p.122-145, 1991.
- 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.
- 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.

- DESHPANDE, S. S., SATHE, S. K., SALUNKE, D. K. CORNFORTH, D. P. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.**, v.47, p.1846-1849, 1982.
- DESHPANDE, S. S., NIELSEN, S. S. *In vitro* enzymatic of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins; the role of heat-stable protease inhibitors. **J. Food Sci.**, v.52, p.1330-1334, 1987.
- DIECHERT, J. W., DIECKERT, M. C. The chemistry and cell biology of vacuolar proteins of seeds. **J. Food Sci.**, v.41, p.475-482, 1976.
- DUARTE, M. S. L. **Digestibilidade *in vivo* e *in vitro* de proteínas de feijão preto**. Viçosa, MG:UFV, 1999. 63p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- DURIGAN, J. F., SGARBIERI, V. C., BULISANI, E. A. Protein value of dry bean cultivars; factors interfering with biological utilization. **J. Agric. Food Chem.**, v.2, n.35, p.694-698, 1987.
- EVANS, R. J., BAUER, D. H., SISAK, K. A. The viability for the rat of methionine and cystine contained in dry bean seed (*Phaseolus vulgaris*). **J. Agric. Food Chem.**, v.22, n.1, p.130-133, 1978.
- FUKUDA, G., ELIAS, L. G., BRESSANI, R. Significado de algunos factores antifisiológicos y nutricionales en la evaluación biológica de diferentes cultivares de frijol comum (*Phaseolus sp.*). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.32, n.4, p.945-960, 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.

- GOMES-BRENES, R. A., NUÑES, E. I., BRESSANI, R. Comportamiento biológico de fracciones proteínicas aisladas Del frijol comum (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.33, p.519-538, 1983.
- GOMES, J. C. **Análise de Alimentos**. Viçosa:UFV, DTA/FUNARBE, 1996. 126p.
- GOYCOOLEA, F., MEJÍA, E. G., BARRÓN, J. M. 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.40, n.2, p.263-274, 1990.
- HERNÁNDEZ, M., LA VEJA, A., SOTELO, A. Determination de la digestibilidad proteínica *in vitro* e *in vivo* en cereais y leguminosas, crudos e cocido. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.34, n.3, p.513-522, 1984.
- HERNÁNDEZ, T., HERNÁNDEZ, A., MARTINEZ, C. Polyphenols in alfafa leaf concentrates. **J. Agric. Food Chem.**, v.39, n.6, p.1120-1122, 1991.
- HUGHES, J. S. Potencial contribution of dry bean dietary fiber to health. **Food Tech.**, v.45, n.9, p.122-126, 1991.
- HUGHES, J. S., ACEVEDO, E., BRESSANI, R., SWANSON, B. G. Effects of dietary fiber and tannins on protein utilization in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Res. Int.**, v.29, n.3, p.331-338, 1996.
- IBGE (1999). **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**.
www.ibge.gov.br
- JAFFÉ, W. G., HANNING, K. Fractionation of proteins from kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Biochem. Biophys.**, v.109, p.80, 1965.

- JAFFÉ, W. G., BRUCHER, O. El contenido de nitrogeno total y aminoacidos azufrados en diferentes lineas de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.24, p.107-113, 1974.
- JOHNSON, V. A., LAT, C. L. Genetic improvement of plant proteins. **J. Agric. Food Chem.**, v.22, p.558-566, 1974.
- KANAMORI, M., IKEUCHI, T., KOTARU, M. Aminoacid composition of protein fractions extrated from *Phaseolus* beans on the Field beans (*Vicia faba* L.). **J. Food Sci.**, v.47, n.6, p.1991-1994, 1982.
- MAHADEVAPPA, V. G.; RAINA, P. L. Nature of some Indian legume lipids. **J. Agric. Food Chem.**, v.26, p.1241, 1978.
- MALDONADO, S., SAMMÁN, N. Composición química y contenido de minerales de leguminosas y cereales producidos en el noroeste argentino. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.50, n.2, p.195-199, 2000.
- MANGAN, J. L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutr. Res. Rev.**, v.1, p.209-231, 1988.
- MARQUEZ, U. M. L., LAJOLO, F. M. Composition and digestibility of albumin, globulins and glutelins from *Phaseolus vulgaris*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 39, p.1211-1215, 1981.
- MARQUEZ, U. M. L. BARROS, R. M. C., LAJOLO, F. M. Chemically determined total and available methionine in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and isolated protein fractions. **Food Chem.**, v.55, n.2, p.179-184, 1996.

- MARQUEZ, U. M. L., LAJOLO, F. M. *In vivo* digestibility of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: The role of endogenous protein. **J. Agric. Food Chem.** v.39, p.1211-1215, 1991.
- NIELSEN, S. S. Digestibility of legume proteins. **Food Tech.**, v.45, n.6, p.112-114, 1991.
- NORDSTROM, C. L., SISTRUNK, W. A. Effect of type of bean, moisture level, blanch treatment and storage time on quality attributes and nutrient content of canned dry beans. **J. Food Sci.**, v. 44, n.2, p.392-403, 1979.
- OH, H. I., HOFF, J. E. ARMSTRONG, G. S. Hidrophobic interaction in tannin-protein complexes. **J. Agric. Food. Chem.**, v.28, p.394-398, 1980.
- OLIVEIRA, L. F. A. **Efeito da ingestão da mistura arroz e feijão na biodisponibilidade de ferro e cálcio.** Viçosa, MG:UFV, 1997. 135p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- OLIVEIRA, A. C., QUEIROZ, K. S., HELBIG, E., REIS, S. M. P. M., CARRARO, F. O processamento doméstico de feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flaulência rafinose, estquiiose e verbascose. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.51, n.3, p.276-283, 2001.
- OLSON, A. C., GRAY, G. M., CHIU, M. C. Chemistry and analysis of dietary fiber. **Food Tech.**, v.51, p.71, 1987.
- OSBORN, T. C. Genetic control of beans seed protein. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v.7, p.93-116, 1988.

- PEREIRA, C. A. S. **Digestibilidade *in vitro* e *in vivo* de proteínas de feijão preto sem casca.** Viçosa, MG:UFV, 1988. 72p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- POEL, T. F. B., BLONK, J., ZUILICHEM, D. J., OORT, M. G. Thermal inactivation of lectins and trypsin inhibitor activity during steam processing of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and effects on protein quality. **J. Sci. Food Agric.**, v.53, n.2, p.215-228, 1990.
- 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, p.1214-1218, 1978.
- REDDY, N. R., PIERSON, M. D., SATHE, S. H. Chemical nutritional and physiological aspects of dry bean carbohydrates. **Rev. Food Chem.**, v.13, n.3, p.25, 1984.
- REDDY, N. R., PIERSON, M. D., SATHE, S. H. Dry bean tannins: a review of nutritional implications. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v.62, p.541-549, 1985.
- REYES-MORENO, C., PAREDEZ-LÓPEZ, O. Hard-to-cook phenomenon in common beans – A Review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.33, n.3, p.227-286, 1993.
- RODRIGUES, M. L. G. **Digestibilidade e biodisponibilidade de metionina de frações protéicas do feijão (*Phaseolus vulgaris*): estudo *in vitro*.** São Paulo, SP:USP, 1995. 217p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, 1995.

- ROMERO, J., RYAN, D. S. Susceptibility of the major storage protein of the bean, *Phaseolus vulgaris* L., to *in vitro* enzymatic hydrolysis. **J. Agric. Food Chem.**, v.26, p.784-788, 1978.
- ROSA, C. O. B. Propriedades do feijão (***Phaseolus vulgaris***) na redução do colesterol sanguíneo em ratos hipercolesterolemicos. Viçosa, MG: UFV, 1996, 80p.Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1996.
- RUTH, S. M. V., ROOZEN, J. P., POSTHUMUS, M. A. Instrumental and sensory evaluation of the flavor dried French beans (*Phaseolus vulgaris* L.) influence by storage conditions. **J. Sci. Food Agri.**, v.69, p.393-401, 1995.
- 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.
- SATHE, S. K., DESHPANDE, S. S., SALUNKHE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*. A Review. I – Chemical composition: Proteins. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.20, n.5, p.31-39, 1984.
- SATHE S. K.; SALUNKHE, D. K. Technology of removal of unwanted components of dry beans. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.21, n.7, p.262, 1985.
- SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Solubilization of california small white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins. **J. Food Sci.**, v.46, p.952-953, 1981.

- SAUNDERS, R. M.; CONNOR, A. N.; BOOTH, E. M.; KOHLER, G. O. measurement of digestibility of alfalfa protein concentrates by *in vivo* and *in vitro* methods. **J. Nutr.**, v.103, p.530-535, 1973.
- SAVELKOUL, F. H. M. G., VAN DER POEL, A. F. B. TAMMINGA, S. The presence and inactivation of trypsin inhibitors, tannins, lectins and amylase inhibitors in legume seeds during germination. A review. **Plant Foods Hum. Nutr.**, v.42, p.71-75, 1992.
- SGARBIERI, V. C., WHITAKER, J. R. Physical, chemical and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. **Adv. Food Res.**, v.28, n.3, p.93-166, 1982.
- SHURPALECKAR, K. S.; SINDARAVALLI, O. E.; RAO, M. N. Effect of legume carbohydrate on protein utilization and lipid levels in rats. **Nutr. Rep. Int.**, v.19, p.119, 1979a.
- SHURPALECKAR, K. S., SINDARAVALLI, O. E., RAO, M.N. *In vitro* and *in vivo* digestibility of legume carbohydrates. **Nutr. Rep. Int.** v.19, p.111, 1979b.
- SILVA, V. R., IACHAN, A. Proteínas de variedades brasileiras de feijão (*P. vulgaris*). – Quantificação e fracionamento das proteínas. **Rev. Bras. Tecnol.**, v.6, p.133-141, 1975.
- SING, J., SOOD, D. R. Nutritional evaluation of rabi French beans. **J. Food Sci. Tech.**, v. 34, n.4, p.354-356, 1997.
- SINGLETON, V. L. Naturally occurring food toxicants: Phenolic substances of plant origin common in foods. **Adv. Food Res.**, v.27, p.149-242, 1981.

- STANLEY, D. W.; AGULLERA, J. M. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes – The influence of structure and composition. **J. Food Biochem.** v.9, p. 227-323, 1985.
- STOCKAMN, D. R., HALL, T. C., RYAN, D. S. Affinity chromatography of the major seed protein of the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Physiol.**, v.58, n.3, p.272-275, 1976.
- SUN, S. M., HALL, T. C. Solubility characteristics of globulins from *Phaseolus* seed in regard to their isolation and characterization. **J. Agric. Food Chem.**, v.23, p.184-189, 1975.
- SUN, S. M., McLEESTER, R. C., BLISS, F. A., HALL, T. C. Reversible and irreversible dissociation of globulins from *Phaseolus vulgaris* seed. **J. Biol. Chem.**, v.249, n.2118-2121, 1974.
- SZE-TAO, K. W. C., SATHE, S. K. Functional properties and *in vitro* digestibility of almond (*Prunus dulcis* L.) protein isolate. **Food Chem.**, v.69, p.153-160, 2000.
- VAN BUREN, J. P., ROBIBSON, W. B. Formation of complexes between protein and tannic acid. **J. Agric. Food Chem.**, v.17, n.4, p.772-777, 1969.
- WOLF, W. J. Legumes: seed composition and structure, processing into protein products and proteins properties. **Food Proteins.** Avi Publishing Company, Inc. 1977, Cap. 10.
- WU, W., WILLIAMS, W. P., KUNKEL, M. E. Thermal effects on *in vitro* protein quality of red Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.**, v.59, n.6, p.1187-1191, 1994.

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

APÊNDICE

QUADRO 1A – Resumo da análise de variância dos dados de análise do teor de taninos.

Fontes de Variação	Teor de Taninos	
	GL	QM
Tratamento	10	191,844**
Resíduo	22	3,895

** = significativo, pelo teste F, a 1% de probabilidade

QUADRO 2A – Resumo da análise de variância dos dados de análise do grau de digestibilidade *in vitro*.

Fontes de Variação	Grau de digestibilidade <i>in vitro</i>	
	GL	QM
Tratamento	10	82,757**
Resíduo	21	4,682

** = significativo, pelo teste F, a 1% de probabilidade.

QUADRO 3A – Resumo da análise de variância dos dados de análise do teor de minerais.

Fontes de variação	GL	QM						
		Fe	K	Ca	Mn	Mg	Cu	Zn
Tratamento	10	0,719**	49342,979**	1877,775**	0,253**	946,814**	0,571 ^{NS}	0,083*
Resíduo	22	0,069	1218,140	25,340	0,011	55,494	0,275	0,032

* = significativo, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

** = significativo, pelo teste F, a 1% de probabilidade.

NS = não-significativo.

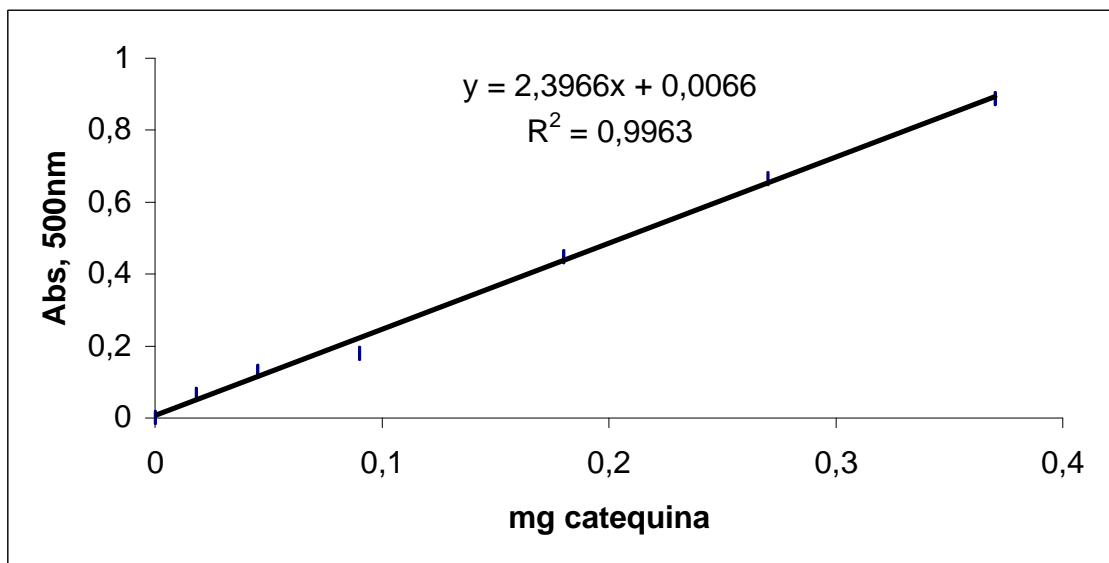


Figura 1A - Curva padrão para a determinação dos teores de taninos.

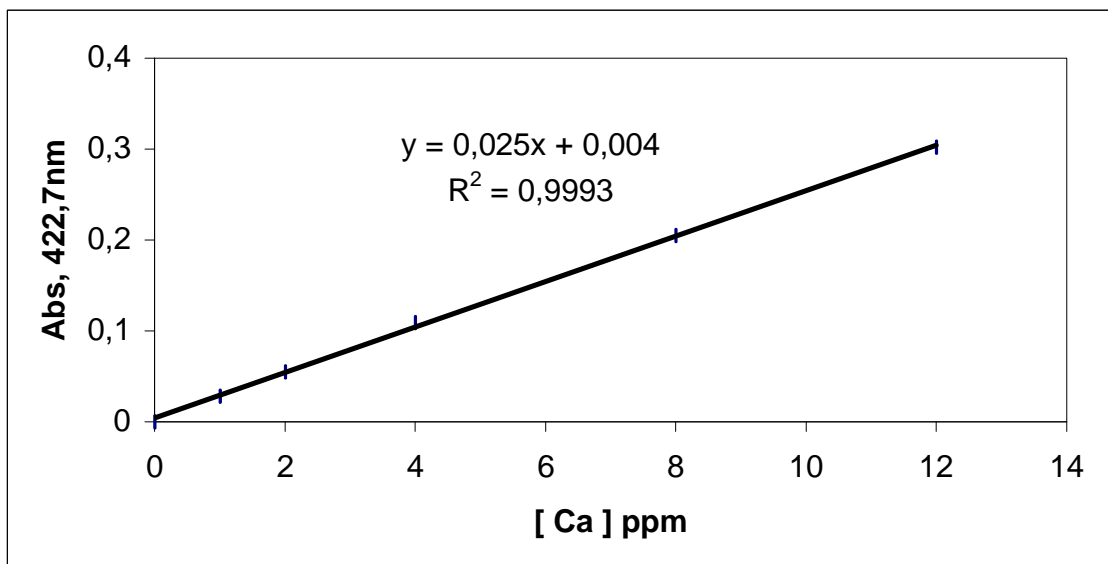


FIGURA 2A – Curva padrão para a determinação dos teores Cálcio

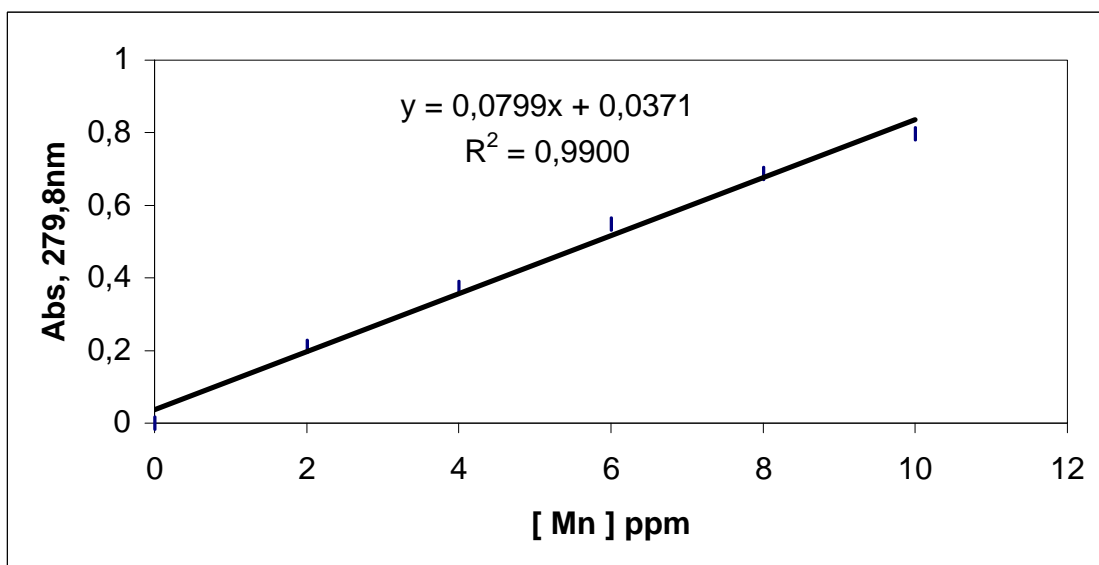


FIGURA 3A – Curva padrão para a determinação dos teores Manganês

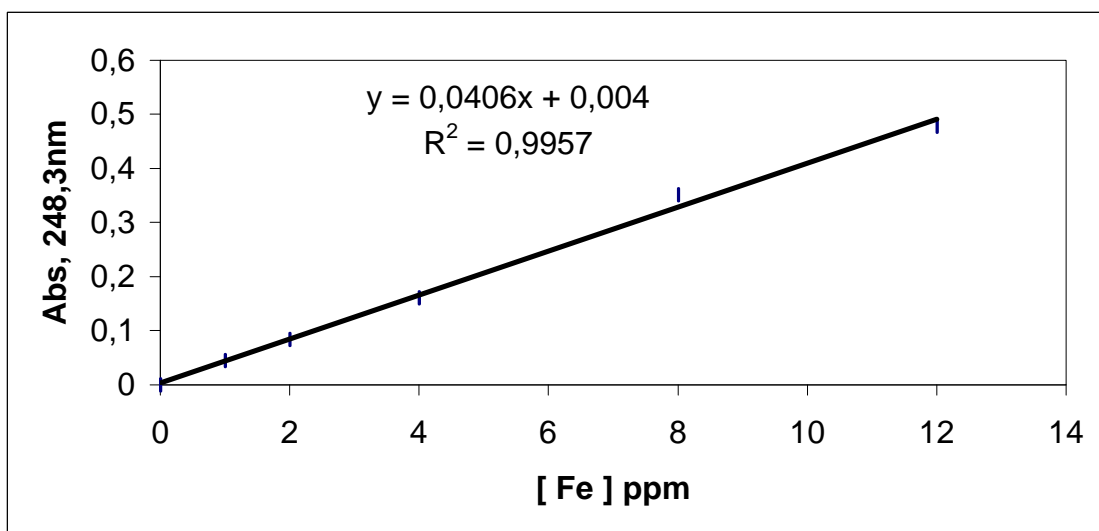


FIGURA 4A – Curva padrão para a determinação dos teores Ferro

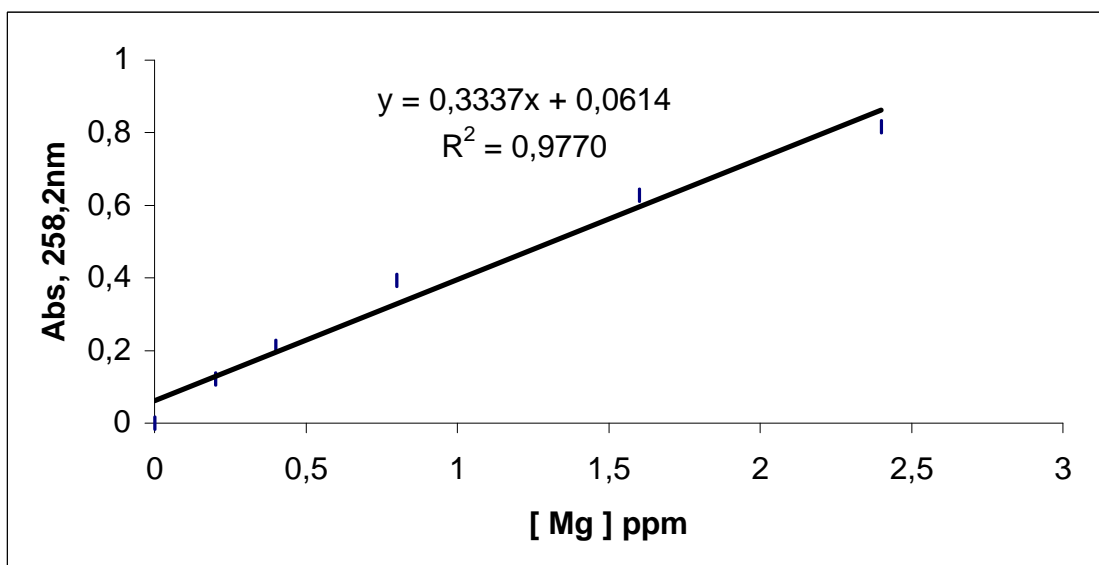


FIGURA 5A – Curva padrão para a determinação dos teores Magnésio

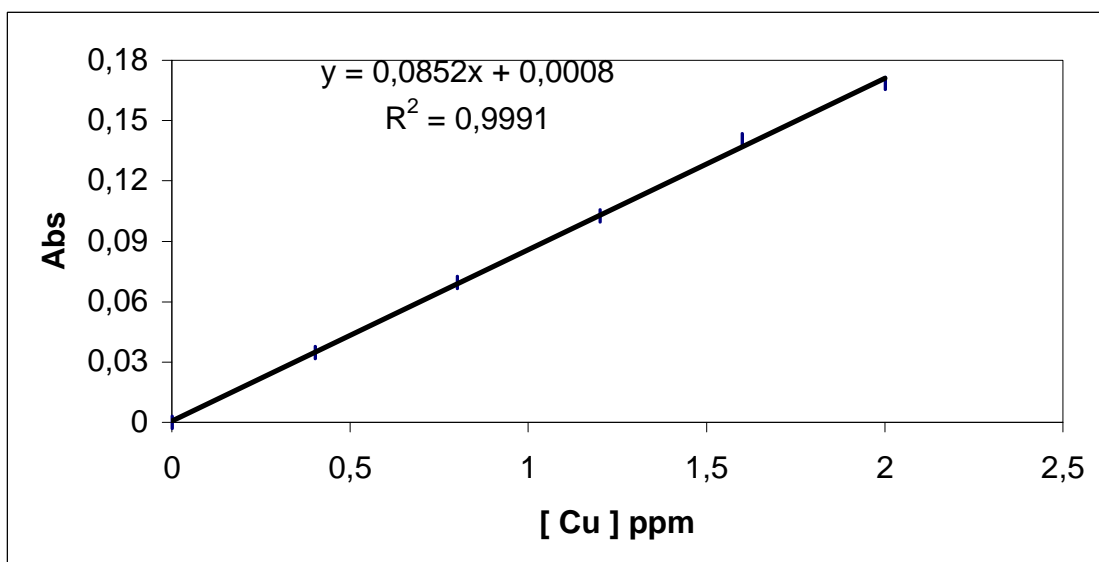


FIGURA 6A – Curva padrão para a determinação dos teores Cobre

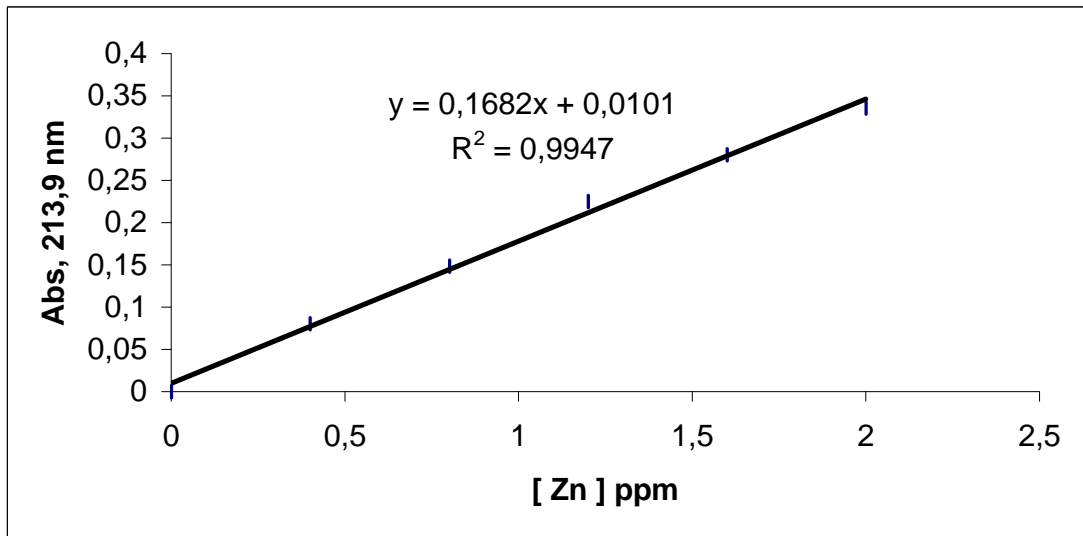


FIGURA 7A – Curva padrão para a determinação dos teores Zinco

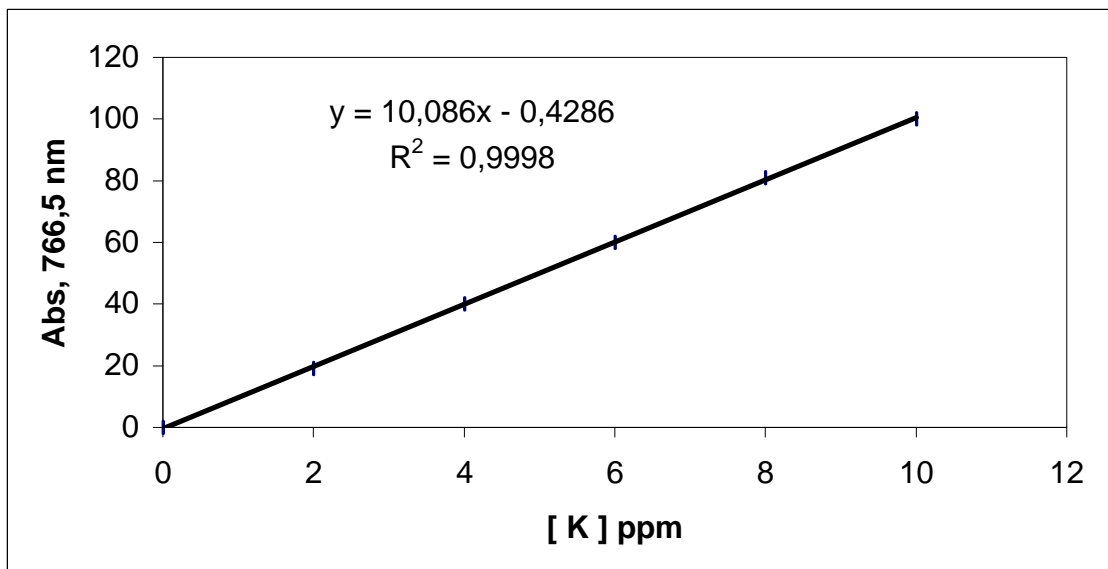


FIGURA 8A – Curva padrão para a determinação dos teores Potássio