

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”**  
**Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**



**TESE DE DOUTORADO**

**Caracterização das propriedades tecnológicas, nutricionais e bioativas de  
genótipos de feijões crioulos**

**Aline Machado Pereira**  
Bacharela em Química de Alimentos, MSc.

**Pelotas, 2022.**

**Aline Machado Pereira**

**Caracterização das propriedades tecnológicas, nutricionais e bioativas de genótipos de feijões crioulos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Arocha Gularte

Comitê de Orientação: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Dr<sup>a</sup>. Bianca Pio Ávila

Dr<sup>a</sup>. Helen Cristina dos Santos Hackbart

Pelotas, 2022.

**Banca examinadora:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Deborah Murowaniecki Otero

Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos/FURG

Dr<sup>a</sup>. Franciene Almeida Villanova

Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos/UFPeI

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gabriela da Rocha Lemos Mendes

Doutora em Biotecnologia/UFPeI.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Quites Larrosa

Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos/FURG

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

P436c Pereira, Aline Machado

Caracterização das propriedades tecnológicas,  
nutricionais e bioativas de genótipos de feijões crioulos /  
Aline Machado Pereira ; Marcia Arocha Gularte, orientadora.  
— Pelotas, 2022.

118 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de  
Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas,  
2022.

1. *Phaseolus vulgaris* L. 2. Armazenamento. 3. Minerais.  
4. Bioacessibilidade. I. Gularte, Marcia Arocha, orient. II.  
Título.

CDD : 664

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, pilares da minha vida, Darilice e Vignor (*in memoriam*), com muito amor, dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força e coragem que Ele tem me proporcionado, só nós dois sabemos tudo que precisei suportar, muitas vezes sozinha e calada, para chegar até aqui. Teve dias que achei que não conseguiria, mas Ele me deu força para conseguir.

À minha mãe, Darilice, a pessoa mais forte e guerreira que eu conheço, que nunca me deixa desistir e nem desiste de mim (quando nem eu mesmo acredito); por estar sempre ao meu lado em cada batalha e em cada vitória, a pessoa que mais amo e mais importante da minha vida, tudo para ela e por ela.

À minha família, em especial e minha tia, carinhosamente chamada de Carola, por ser muito mais que uma tia, por se preocupar e cuidar de mim.

Ao meu pai, Vignor e meus avós, Raul e Maria, minhas grandes saudades, espero que de onde vocês estejam tenham orgulho de mim.

Ao meu namorado Andrew, um companheiro incrível, que está sempre ao meu lado incansavelmente me apoiando, incentivando e cuidando de mim, com amor.

Aos meus filhos de quatro patas, Luti e Isis, que são muito mais que cachorros, são meus pacotinhos de amor.

À minha orientadora, Marcia Gularte, que além de orientadora, sempre foi uma grande amiga, um exemplo de pessoa e profissional, que tive o prazer de conviver todos esses anos. A profissional que estou me tornando devo aos ensinamentos, oportunidades e dedicação recebida dela. Que sorte a minha, nossos caminhos terem se cruzado.

Às minhas coorientadoras Bianca Ávila e Helen Hackbart, fundamentais nessa trajetória, grandes profissionais e grandes amigas, que estiveram ao meu lado dando apoio tanto pessoal como profissional.

Ao professor Anderson Ribeiro pela coorientação e por todo apoio proporcionado e à equipe do LabMequi, principalmente a doutoranda Daisa Bonemman, que me receberam tão bem durante o desenvolvimento do estudo, grandes parceiros para os trabalhos como para momentos de descontração.

Aos professores do Laboratório de Grãos, que por muito tempo foi minha segunda casa, como também os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelos ensinamentos, trocas e contribuições.

À equipe do Laboratório de Análise Sensorial e do Laboratório de Grãos, por todos esses anos de convivência, trabalho e momentos de descontração. Em especial aos amigos amados e incríveis que conquistei durante esse trajeto, que quero levar para o resto da minha vida, Caroline Tuchtenhagen, Estefania Dierings, Franciene Villanova, Patrick Silva e Suzane Luz, obrigada por todas as trocas, angústias e momentos felizes que compartilhamos.

Aos meus queridos estagiários, Jennifer Saraiva, Maicon Lacerda, Brenda Paz e Amanda Pereira, que foram incansáveis no desenvolvimento desse trabalho e de outros tantos, que também fizeram a trajetória mais leve e alegre, com companheirismo e carinho.

À minha pupila, Layla Damé, que começou como estagiária e hoje é uma grande amiga, sempre presente, apoiando tanto profissionalmente como pessoalmente, com carinho e leveza, fundamental no desenvolvimento desse estudo e nessa caminhada, além de estagiária, fosse meu suporte e minha dupla de trabalho.

Às minhas grandes amigas, Camilla Caetano, Elisa Arismendi, Fernanda Araújo, Leticia Batalla, Lizi Melgar, Maribel Machado, Paula Canizares, Thai Dutra e Xana Porto, por toda amizade e companheirismo durante esses anos.

À Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela oportunidade e apoio financeiro.

*“Não deixe que alguém determine se o seu sonho é importante o bastante para ser vivido”.*  
*(Autor Desconhecido)*

## Resumo

PEREIRA, Aline Machado. **Caracterização das propriedades tecnológicas, nutricionais e bioativas de genótipos de feijões crioulos**. Orientadora: Marcia Arocha Gularte. 2022. 118f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

As características tecnológicas e a qualidade nutricional de novos genótipos de feijão devem ser considerados e explorados a fim de gerar conhecimento sobre estas, antes de serem lançados comercialmente. Sendo assim, feijões provenientes de cultivo com genótipos crioulos podem apresentar características de qualidade tecnológicas e nutricionais tão, ou mais vantajosas do que cultivares comerciais, sendo uma boa alternativa para o consumo. O objetivo do estudo foi caracterizar as propriedades tecnológicas, nutricionais e bioativas de genótipos crioulos de feijões pretos (*Phaseolus vulgaris* L.). Foram utilizados os genótipos crioulos BRS Exedito, TB02-19 e TB02-23 obtidos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) - Estação Clima Temperado – Pelotas/Brasil. As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno transparente com espessura de 80 µm em sala de armazenamento, onde permaneceram até a realização das análises laboratoriais, em um período de 365 dias. Para as análises com armazenamento, as avaliações foram realizadas a cada quatro meses. O armazenamento proporcionou aumento do tempo de cocção e escurecimento até o oitavo mês, e ao final, aumento do coeficiente de hidratação. A BRS Exedito apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides totais, o TB02-19 de antocianinas e proantocianidinas totais e capacidade antioxidante média de 22% pelo método ABTS e 46% pelo método DPPH, não apresentando diferença entre eles. O amido dos três genótipos apresentaram alto teor de amilose e o feijão TB02-23 apresentou maior teor de amido resistente. Os grânulos de amido apresentaram superfícies lisas, formato oval a esférica e tamanho heterogêneo, não revelando discrepâncias. Os amidos apresentaram alta luminosidade, indicando amidos mais brancos. Os principais ácidos graxos encontrados foram  $\alpha$ -linolênico e linoleico, considerados ácidos graxos essenciais. O processo térmico proporcionou uma diminuição das antocianinas e também para a maioria dos açúcares. O estudo da concentração de minerais existentes no feijão cozido é mais importante nutricionalmente que a caracterização do grão cru, por ser consumido cozido. Os resultados encontrados nesse estudo indicam que possivelmente a água e o processo de cocção tem influência significativa no teor de minerais, sendo que a maceração do feijão provoca uma lixiviação de minerais. E os elementos mais bioacessíveis entre todos os elementos considerados, foram o cobre e o zinco. Por fim, pode-se concluir que cada genótipo crioulo estudado apresenta características distintas, e o conhecimento das características tecnológicas e nutricionais dos genótipos de feijões crioulos amplia a disponibilidade de sementes de qualidade para cultivo.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L. Armazenamento. Minerais. Bioacessibilidade.

## Abstract

PEREIRA, Aline Machado. **Characterization of technological, nutritional and bioactive properties of creole beans genotypes**. Advisor: Marcia Arocha Gularte. 2022. 118f. Thesis (Doctorate in Food Science and Technology) – Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

The technological characteristics and the nutritional quality of new bean genotypes must be considered and explored in order to generate knowledge about them, before being commercially launched. Thus, beans from cultivation with creole genotypes can present technological and nutritional quality characteristics as, or more, advantageous than commercial cultivars, being a good alternative for consumption. The aim of the study was to characterize the technological, nutritional and bioactive properties of creole genotypes of black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Creole genotypes BRS Expedito, TB02-19 and TB02-23 obtained from the Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa) - Estação Clima Temperado - Pelotas/Brazil were used. The samples were stored in transparent polyethylene bags with a thickness of 80 µm in a storage room, where they remained until the laboratory analysis was carried out, in a period of 365 days. For analyzes with storage, evaluations were performed every four months. Storage provided an increase in the cooking time and browning until the eighth month, and at the end, an increase in the hydration coefficient. BRS Expedito had a higher content of phenolic compounds and total flavonoids, TB02-19 of total anthocyanins and proanthocyanidins and an average antioxidant capacity of 22% by the ABTS method and 46% by the DPPH method, with no difference between them. The starch of the three genotypes had high amylose content and the TB02-23 bean had the highest resistant starch content. The starch granules presented smooth surfaces, oval to spherical shape and heterogeneous size, revealing no discrepancies. The starches showed high luminosity, indicating whiter starches. The main fatty acids found were  $\alpha$ -linolenic and linoleic, considered essential fatty acids. The thermal process provided a decrease in anthocyanins and also for most sugars. The study of the concentration of minerals in cooked beans is nutritionally more important than the characterization of raw beans, as they are consumed cooked. The results found in this study indicate that the water and the cooking process possibly have a significant influence on the mineral content, and the maceration of beans causes a leaching of minerals. And the most bioaccessible elements among all the elements considered were copper and zinc. Finally, it can be concluded that each creole genotype studied has different characteristics, and knowledge of the technological and nutritional characteristics of creole bean genotypes increases the availability of quality seeds for cultivation.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. Storage. Minerals. Bioaccessibility.

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> – Estrutura do feijão.....	19
<b>Figura 2</b> – Amostras de feijão.....	50
<b>Figura 3</b> – Micrografias dos amidos dos feijões.....	57
<b>Figura 4</b> – Efeito da variação da massa dos grãos durante a decomposição ácida em condições fixas: 5,0 mL de HNO <sub>3</sub> (65% v/v); 3 horas a 150 ° C (A) e 200 ° C (B); volume final de 50 mL.....	96
<b>Figura 5</b> – Efeito da variação da concentração de HNO <sub>3</sub> 30, 40 e 50% (v /v) para a decomposição. Parâmetros fixos: 1000 mg de amostra; 3 horas a 200 ° C; volume final de 50 mL.....	97
<b>Figura 6</b> – Efeito da variação do tempo de decomposição. Parâmetros fixos: 1000 mg de amostra; 5 mL de HNO <sub>3</sub> 40% (v/v); temperatura a 200 ° C; volume final de 50 mL.....	98

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> – Coeficiente de hidratação, tempo de cocção, teor de proteína, digestibilidade proteica, dureza e cor dos genótipos crioulos.....	47
<b>Tabela 2</b> – Compostos bioativos totais e capacidade antioxidante dos genótipos crioulos.....	51
<b>Tabela 3</b> – Teor de amilose, de amido resistente, propriedades viscoamilográficas, propriedades térmicas e cor do amido dos genótipos crioulos.....	53
<b>Tabela 4</b> – Quantificação e identificação de ácidos graxos nas amostras de feijão crioulo sem e com cozimento.....	75
<b>Tabela 5</b> – Quantificação de açúcares nas amostras de feijão crioulo sem e com cozimento.....	77
<b>Tabela 6</b> – Quantificação e identificação de ácidos fenólicos e flavonoides nas amostras de feijão crioulo sem e com cozimento.....	79
<b>Tabela 7</b> – Quantificação de antocianinas nas amostras de feijão crioulo sem e com cozimento.....	82
<b>Tabela 8</b> – Concentrações medidas de analitos por MIP OES após diferentes adições em feijão. Valores em mg kg <sup>-1</sup> (n = 3).....	99
<b>Tabela 9</b> – Resultados analíticos das concentrações de Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Pb e Zn em materiais de referência certificados. Valores em mg kg <sup>-1</sup> (n = 3).....	100
<b>Tabela 10</b> – Resultados analíticos das concentrações de Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Pb e Zn em materiais de referência certificados no meio de amostra de feijão. Valores em mg kg <sup>-1</sup> (n = 3).....	101
<b>Tabela 11</b> – Resultados da concentração total para feijões crus e cozidos obtidos por MIP OES.....	102
<b>Tabela 12</b> – Concentrações bioacessíveis para feijões crus.....	106
<b>Tabela 13</b> – Concentrações bioacessíveis em feijão cozido.....	107

## Sumário

<b>1. Introdução</b> .....	16
<b>2. Objetivos</b> .....	18
2.1. <i>Objetivo Geral</i> .....	18
2.2. <i>Objetivos Específicos</i> .....	18
<b>3. Revisão Bibliográfica</b> .....	19
3.1. <i>Feijão</i> .....	19
3.2. <i>Amido</i> .....	21
3.3. <i>Compostos bioativos</i> .....	22
3.4. <i>Antinutricionais</i> .....	23
3.5. <i>Minerais</i> .....	24
3.6. <i>Bioacessibilidade e biodisponibilidade</i> .....	25
3.7. <i>Genótipos crioulos</i> .....	26
<b>4. Referencias</b> .....	28
<b>Artigo I. Caracterização do amido, de compostos bioativos e efeito do armazenamento nas características tecnológicas em genótipos de feijões crioulos</b> .....	39
<b>1. Introdução</b> .....	39
<b>2. Material e Métodos</b> .....	40
2.1. <i>Amostras e Condições de armazenamento</i> .....	40
2.2. <i>Armazenamento</i> .....	41
2.2.1. <i>Coeficiente de hidratação e Tempo de cocção</i> .....	41
2.2.2. <i>Teor de proteína e Digestibilidade proteica</i> .....	41
2.2.3. <i>Dureza dos grãos</i> .....	41
2.2.4. <i>Perfil colorimétrico</i> .....	42
2.3. <i>Caracterização dos compostos bioativos totais</i> .....	42
2.3.1. <i>Extração dos bioativos</i> .....	42
2.3.2. <i>Fenólicos, antocianinas, proantocianidinas e flavonoides totais</i> .....	42
2.3.3. <i>Determinação da Capacidade Antioxidante - Método DPPH e ABTS</i> .....	43
2.4. <i>Caracterização do amido</i> .....	44
2.4.1. <i>Extração do amido</i> .....	44
2.4.2. <i>Teor de Amilose</i> .....	45
2.4.3. <i>Amido Resistente</i> .....	45
2.4.4. <i>Viscoamilografia (RVA)</i> .....	45

2.4.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	45
2.4.6. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	45
2.4.7. Perfil colorimétrico do amido .....	46
2.5. Análise estatística.....	46
<b>3. Resultados e discussão .....</b>	<b>46</b>
3.1. Efeito do armazenamento nas características tecnológicas.....	46
3.2. Compostos bioativos totais .....	50
3.3. Caracterização do amido .....	53
<b>4. Conclusão .....</b>	<b>58</b>
<b>5. Referencias .....</b>	<b>59</b>
<b>Artigo II. Efeito do cozimento na composição de compostos bioativos em genótipos de feijões crioulos .....</b>	<b>68</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>68</b>
<b>2. Material e Métodos.....</b>	<b>70</b>
2.1. Amostras.....	70
2.3. Extração e identificação de ácidos graxos .....	71
2.4. Extração e identificação de açúcares.....	72
2.5. Extração e identificação de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas .....	72
2.6. Análise estatística.....	73
<b>3. Resultados e Discussão.....</b>	<b>74</b>
<b>4. Conclusão .....</b>	<b>83</b>
<b>5. Referencias .....</b>	<b>85</b>
<b>Artigo III. Avaliação da concentração total e bioacessível de minerais em feijão crioulo .....</b>	<b>89</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>89</b>
<b>2. Materiais e Métodos.....</b>	<b>91</b>
2.1. Amostras.....	91
2.2. Reagentes .....	91
2.3. Instrumentação .....	92
2.4. Otimização do método de preparação da amostra .....	93
2.5. Fração Bioacessível.....	94
<b>3. Resultados e discussão .....</b>	<b>95</b>
3.1. Variação da massa da amostra.....	96
3.2. Efeito da concentração de HNO <sub>3</sub> e tempo de decomposição .....	96
3.3. Figuras de mérito.....	98

3.4. <i>Concentração total do analito</i> .....	101
3.5. <i>Bioacessibilidade dos elementos por digestão gastrointestinal in vitro</i> .....	106
<b>4. Conclusão</b> .....	<b>109</b>
<b>5. Referencias</b> .....	<b>111</b>
<b>Considerações Finais</b> .....	<b>118</b>

## 1. Introdução

O Brasil tem-se destacado como maior produtor mundial de feijão, na safra de 2020/2021 a produção foi de 3,1 milhões de toneladas (CONAB, 2021). Além disso, o feijão é um grão consumido diariamente pela grande maioria da população brasileira variando a preferência em relação aos aspectos físicos como cor, tamanho, forma e brilho. (VENTURELLI *et al.*, 2014). A espécie de feijão mais consumida pertence à classe Dicotiledônea, família Fabaceae, gênero *Phaseolus*, sendo *Phaseolus vulgaris* L. a mais conhecida, possuindo uma ampla variedade de tipos, tais como, carioca, preto, roxo, mulatinho, além de tipos com grãos graúdos (PIRES *et al.*, 2005; PEREIRA *et al.*, 2012).

Apesar da grande disponibilidade de feijão para consumo, é importante conhecer a composição química deste produto para obter uma dieta equilibrada. O feijão constitui-se de importante fonte de proteínas (16 – 33%), carboidratos, fibras, minerais e é rico em nutrientes essenciais ao metabolismo humano (LOS *et al.*, 2019). O conteúdo de carboidratos pode chegar a 65%, apresentando-se na forma de polissacarídeos (não amiláceos), oligossacarídeos e amido (SLUPSKI, 2010; AZARPAZHOOH; BOYE, 2013; ZAMINDAR *et al.*, 2013). Os grãos de feijão também apresentam uma composição variada de minerais, que variam em função do genótipo utilizado e, também da estrutura morfológica do grão (tegumento, eixo embrionário e cotilédone). Esses minerais apresentam importantes funções na dieta humana, auxiliando no bom funcionamento do organismo, transporte de oxigênio, metabolismo energético, balanço hídrico, cofatores e função estrutural. O feijão também apresenta fatores antinutricionais, que são compostos ou classe de compostos que minimizam o aproveitamento dos nutrientes dos alimentos de origem vegetal, que são reduzidos com o cozimento do grão. Entre esses compostos, em feijão, estão o ácido fítico e os taninos (BENEVIDES *et al.*, 2011; ZAMINDAR *et al.*, 2013).

A utilização de sementes de feijão, pelos agricultores familiares é na sua maioria proveniente de genótipos crioulos. Estes buscam nas sementes selecionadas as qualidades requeridas para multiplicação, como, maior rusticidade, resistência a doenças e capacidade de adaptação às condições do

ambiente em que são cultivados, garantindo o sustento das famílias e possibilitando os plantios das próximas safras. Genótipos crioulos ou locais são aqueles que não sofreram melhoramento genético e são chamadas assim por serem produto de seleção por agricultores de comunidades tradicionais, indígenas, caboclos, quilombolas, entre outros (BARBOSA *et al.*, 2010; PALÁCIO FILHO *et al.*, 2011).

Os aspectos de qualidade tecnológica dos grãos como, a alta capacidade de hidratação e menor tempo de cocção, são de grande significância para o desenvolvimento de novos genótipos, características essas afetadas pelo ambiente, constituição genética e armazenamento (PERINA *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2016). Frequentemente novos genótipos de feijão são desenvolvidos e o seu valor econômico depende de vários fatores, como rendimento, resistência a doenças, tamanho e cor dos grãos e qualidade nutricional, além do tempo de cocção, da textura e das características sensoriais dos grãos após a cocção (SHIMELIS, RAKSHIT, 2005). As características tecnológicas e a qualidade nutricional de novos genótipos de feijão devem ser considerados e explorados a fim de gerar conhecimento sobre estas, antes de serem lançados comercialmente. Sendo assim, feijões provenientes de genótipos crioulos podem apresentar características de qualidade tecnológicas e nutricionais tão, ou mais vantajosas do que cultivares comerciais, sendo uma boa alternativa para o consumo.

## 2. Objetivos

### 2.1. *Objetivo Geral*

Caracterizar as propriedades tecnológicas, nutricionais e bioativas de genótipos crioulos de feijões preto (*Phaseolus vulgaris* L.).

### 2.2. *Objetivos Específicos*

- Analisar as características tecnológicas, tais como tempo de cocção, coeficiente de hidratação, teor de proteína, digestibilidade proteica, cor e dureza dos genótipos crioulos de feijão preto, armazenados durante um ano;

- Caracterizar o amido dos genótipos crioulos de feijões preto;

- Quantificar os compostos bioativos totais dos genótipos crioulos de feijões preto;

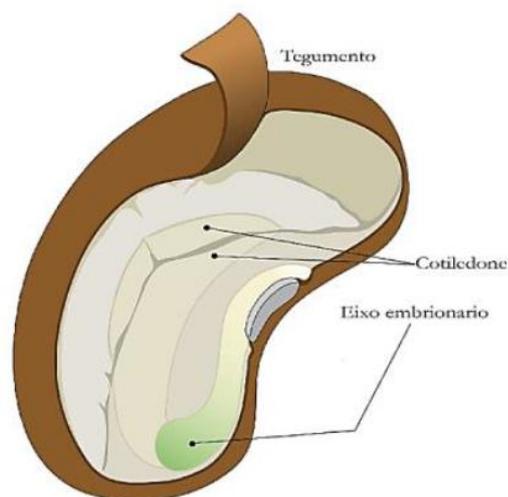
- Avaliar o efeito da cocção nos compostos bioativos, tais como açúcares, ácidos graxos, compostos fenólicos e antocianinas dos genótipos crioulos de feijão preto.

- Avaliar o efeito da cocção nos teores de minerais e determinar a porcentagem bioacessível destes minerais nos genótipos crioulos de feijão preto, mediante digestão gastrointestinal, utilizando diálise *in vitro*.

### 3. Revisão Bibliográfica

#### 3.1. Feijão

O Brasil é um dos maiores produtores de feijão do mundo, apresentando produção anual de mais de 3 milhões de toneladas, em área cultivada de 3 milhões de hectares e produtividade média de 1.000 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2021). O grão de feijão apresenta uma estrutura com três partes bem características (Figura 1), o tegumento que é o revestimento do grão e, onde há maior concentração de compostos fenólicos, o cotilédone, que concentra a maior parte de carboidratos, minerais e proteínas, além de apresentar o maior peso em relação às outras partes do grão e o eixo embrionário que origina novas plantas de feijão. Existem formas distintas de feijão comum, as principais são as arredondadas e elípticas; e dependendo do genótipo pode-se observar tamanhos diferentes e grande variedade de cores (preta, vermelhas, marrom, roxa, verdes, amarelas) (YOUSIF, KATO, DEETH, 2006; AFONSO, 2010).



**Figura 1** - Estrutura do feijão. Fonte: PAREDES, 2017.

Por ser uma cultura de ciclo curto, o feijão possibilita o plantio em até três épocas como a safra das águas, cujo plantio vai de agosto a dezembro e concentra-se na Região Sul; a safra da seca, com plantio de janeiro a abril, abrangendo todo o país e a safra do inverno, com plantio de maio a agosto, concentrando-se mais no Centro-Oeste. As safras das águas e da seca que

não levam irrigação suplementar, são responsáveis por 80% da produção mundial (SILVA; WANDER, 2013; MOURA, BRITO, 2015).

O feijão cultivado por pequenos agricultores que conservam os genótipos crioulos, sem forte domesticação e melhoramento genético, mantem os alelos relacionados a características que conferem rusticidade, estabilidade e ampla adaptabilidade a variações ambientais. Devido a estas características é possível selecionar materiais que possuam adaptabilidade às condições climáticas de determinada região e, também resistência ao ataque de doenças e pragas comuns da cultura (LONDRES, 2014).

O consumo per capita de feijão no Brasil despencou 42% nos últimos 40 anos, passando de 24,9 quilos por habitante ao ano para 14,3 quilos por habitante ao ano (CONAB, 2021). As mudanças no estilo de vida da população e o desconforto intestinal, as vezes sentido por algumas pessoas, causado pelo feijão, pode estar limitando as preferências dos consumidores e ocasionando a diminuição do seu consumo (ALFARO *et al.*, 2020). Como destacado, uma das causas dessa diminuição do consumo é o desconforto intestinal devido ao armazenamento inadequado, que resulta no aumento do tempo de cozimento e diminuição da qualidade nutricional e sensorial do feijão (FERREIRA *et al.*, 2018).

O armazenamento prolongado é um fator determinante na perda da qualidade do feijão, caracterizado por aumento do tempo de cocção, aumento do grau de dureza, mudanças no sabor e escurecimento do tegumento em alguns genótipos. O aumento do tempo de cocção é caracterizado pela dificuldade de absorção de água pelos grãos durante o processo de hidratação e cocção, acarretando elevados tempos de cocção, reduzindo a palatabilidade, aceitabilidade e valor comercial. As principais causas deste aumento durante o armazenamento são a utilização de temperatura, teor de água e umidade elevados, que levam a formação do defeito “HTC – *Hard to cook*”. (NASAR-ABBAS *et al.*, 2008; NJOROGE *et al.*, 2014).

O feijão apresenta algumas características indesejáveis. Uma delas é o fenômeno “*Hard-to-cook*” (HTC), sendo essa uma das grandes causas de rejeição de feijão pelo consumidor. O “*Hard-to-cook*” é um defeito que ocorre após a colheita, durante o armazenamento e distribuição, antes de chegar ao consumidor (ÁVILA, 2014). Para o consumidor, esse fenômeno representa um

defeito considerado “difícil para cozinhar”, pois aumenta o tempo de cozimento do grão. Armazenamento prolongado em altas temperaturas acelera o fenômeno HTC, levando ao endurecimento dos grãos, baixando a aceitabilidade destes pelo consumidor. O “hard-to-cook” afeta a qualidade e a aceitabilidade do feijão, pois com o endurecimento dos grãos, aumenta-se o tempo de cocção e, conseqüentemente, ocorre redução de sua palatabilidade e qualidade nutricional (RIBEIRO *et al.*, 2008; COELHO *et al.*, 2009).

### 3.2. Amido

O principal carboidrato presente nos grãos de feijão é o amido e sua concentração varia entre 22 a 45%. O amido de feijão é relacionado a muitos benefícios à saúde, devido ao seu baixo índice glicêmico (WINHAM, HUTCHINS, MELDE, 2007).

O amido é composto de dois polissacarídeos, a amilose e a amilopectina, cujas proporções variáveis influem na viscosidade, no poder de geleificação e em outras propriedades. A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, originando uma cadeia linear. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6, formando uma estrutura ramificada (ELIASSON, 2004; TESTER, KARKALAS, 2004). As proporções em que as cadeias de amilose aparecem se diferem, assim podendo classificar o amido como ceroso (1-2% de amilose), conteúdo de amilose muito baixo (acima de 2 até 12%), baixo (acima de 12 até 20%), intermediário (acima de 20 até 25%) e alto (acima de 25%) (JULIANO, 1993). O amido de feijões é caracterizado por apresentar alto teor de amilose (24-65%) (SINGH, 2011).

O amido é o principal responsável pelas propriedades tecnológicas de alimentos industrializados. No feijão, alterações no amido, influenciam diretamente na viscosidade do caldo, o que auxilia na determinação da qualidade do feijão (DENARDIN e SILVA, 2009).

O feijão apresenta elevado teor de amido resistente (AR). O AR não é digerido no intestino delgado, sendo apenas fermentado pelas bactérias fermentativas no intestino grosso, também não eleva os níveis de glicose no sangue (HUGHES *et al.*, 2009). Durante o processamento e armazenamento, as mudanças ocorridas na estrutura do amido influenciam profundamente as

suas propriedades funcionais e fisiológicas. A quantidade de água, o tempo e a temperatura de armazenamento são variáveis que influenciam no processo de cristalização e afetam diretamente no teor de amido resistente (LOBO, LEMOS SILVA, 2003).

### 3.3. *Compostos bioativos*

Nas últimas décadas, o consumidor vem buscando não só alimentos nutritivamente atraentes, mas que também ofereçam propriedades bioativas. Compostos bioativos são constituintes extras nutricionais e ocorrem tipicamente em pequenas quantidades nos alimentos. Os principais compostos bioativos presentes nos alimentos com ação funcional são fitosteróis, tocoferóis, compostos fenólicos, ácidos graxos essenciais, entre outros (POKORNÝ, 2007). O teor de compostos bioativos que compõe os alimentos pode ser variar de acordo com a espécie, estágio de maturação, clima, diferentes práticas de cultivo, quantidade de incidência solar, localização da região onde a planta foi cultivada e também, de acordo com o tratamento térmico a que foi submetido (PAES, 2011). Além das suas propriedades antioxidantes que assumem um importante papel na redução do risco de doenças cardiovasculares, diabetes e alguns tipos de câncer, estes compostos também conferem cor, sabor e aroma (LUJÁN *et al.*, 2008).

O feijão contém elevado teor de compostos bioativos, tais como: inibidores enzimáticos, fitatos, oligossacarídeos e polifenóis (principalmente taninos) que podem desempenhar efeitos positivos, negativos ou ambos, sendo que alguns são considerados fatores antinutricionais e outros assumem efeitos preventivos a algumas doenças como auxiliar na redução da glicemia, doenças cardiovasculares, diabetes, possuindo capacidade antioxidante e capacidade anti-inflamatória (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2010; OOMAH *et al.*, 2010; RAMÍREZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2014; LUNA-VITAL *et al.*, 2015).

Os feijões contêm uma boa quantidade de ácidos fenólicos e flavonóides; também antocianinas, como delphinidina e cianidina, as quais se atribuem uma forte atividade antioxidante. Polifenóis estão essencialmente presentes nas camadas das sementes e em menor quantidade em cotilédones. Alguns polifenóis são capazes de exercer ação anti-envelhecimento, bem como

atividade anticarcinogênica, em geral inibindo os processos de proliferação celular (KALOGEROPOULOS *et al.*, 2010; LINDEMANN *et al.*, 2019).

No feijão podemos destacar compostos fenólicos, como as flavonas, flavonoides, isoflavonas, antocianidinas e antocianinas, sendo que a maior concentração de antocianinas resulta em feijões mais escuros (LÓPEZ *et al.*, 2013; YEO; SHAHIDI, 2015; VERMA *et al.*, 2016). Grandes concentrações de compostos fenólicos promovem a impermeabilidade do tegumento de feijões (*hard shell*) que dificulta a absorção de água, causando insolubilização de proteínas e perda de conteúdos intracelulares para a água de encharcamento, diminuindo a qualidade dos grãos (BERTOLDO *et al.*, 2009).

### 3.4. Antinutricionais

Diferentes compostos podem prejudicar a biodisponibilidade de alguns nutrientes do feijão e/ou causar dificuldades em relação à digestibilidade e produzir flatulência. Entre esses compostos, os principais são os inibidores de tripsina, os fitatos, os polifenóis, como os taninos, lectinas e oligossacarídeos, principalmente rafinose e estaquiose. Esses compostos são conhecidos como fatores antinutricionais ou antinutrientes, denominados assim pela interferência na digestibilidade e absorção dos nutrientes quando esses são ingeridos pelo homem (OLIVEIRA *et al.*, 2001).

Os principais antinutricionais do feijão são os taninos, que têm habilidade em precipitar proteínas, os oxalatos, que podem precipitar com o cálcio (formando cristais insolúveis e cálculos renais) e os fitatos, que podem formar complexos insolúveis com proteínas e minerais, havendo uma redução na biodisponibilidade destas importantes substâncias da dieta humana. (BENEVIDES *et al.*, 2011). A prática de maceração do feijão, também conhecida como “demolhar” (colocar de molho), feita previamente ao cozimento, é uma prática utilizada frequentemente para amolecer o feijão e antecipar o seu processo de cozimento. Com o aumento do tempo de maceração, o tempo de cozimento diminui, porém, a maioria dos macros e micronutrientes, principalmente minerais e vitaminas são perdidos durante este processo. O cozimento do feijão sem a água de maceração, influencia também no teor de compostos fenólicos, provocando uma redução no seu teor (RAMÍREZ-CÁRDENAS *et al.*, 2008).

### 3.5. *Minerais*

Os nutrientes usados na alimentação podem ser classificados em macronutrientes e micronutrientes. Os macronutrientes são macromoléculas que podem ser digeridas, absorvidas e utilizadas como fontes de energia, sendo eles os carboidratos, as proteínas e os lipídios. Os macronutrientes recebem esse nome pois são necessários em maior quantidade na dieta diária em relação aos outros nutrientes (micronutrientes). Os micronutrientes também são nutrientes necessários para manter a integridade celular e do metabolismo, porém em pequenas quantidades (na ordem de miligramas a microgramas) na dieta diária, sendo as vitaminas e os minerais (MAHAN, ESCOTT-STUMP, 2005; TOGNON, 2012).

Minerais são elementos químicos que desempenham papel crucial na manutenção da vida humana, pois são cofatores em muitas reações enzimáticas e estão envolvidos em inúmeras vias bioquímicas. Além de manter a homeostase, os minerais são componentes críticos das funções neurológica e muscular (HUSKISSON *et al.*, 2007; SCHUCHARDT, HAHN, 2017). Os minerais podem ser classificados como macrominerais e microminerais. Os macrominerais são aqueles que precisam estar em quantidades consideráveis no organismo humano para se ter uma vida saudável, tais como Ca (Cálcio), P (Fósforo), Na (Sódio), K (Potássio) e Mg (Magnésio); são necessários em quantidades de 100 mg/dia ou mais na dieta. Os microminerais também são importantes para a manutenção da vida, tais como Fe (Ferro), Se (Selênio), Cu (Cobre) e Zn (Zinco), porém necessários em quantidades muito menores, menos que 15 mg/dia (TOGNON, 2012).

Para que o organismo funcione bem, é importante o consumo de níveis adequados de minerais, pois desempenham funções metabólicas. A carência desses micronutrientes pode causar danos à saúde (KHOUZAM, POHL, LOBINSKI, 2011; MUTHAYYA *et al.*, 2013). Os minerais não podem ser produzidos pelo próprio organismo, então devem ser ingeridos através da alimentação. A falta de minerais geralmente leva a doenças causadas por deficiências de nutrientes, que é um problema global, especialmente em países em desenvolvimento (MARTÍNEZ-BALLESTA *et al.*, 2010; RITCHIE, ROSER, 2018).

A ingestão inadequada de ferro e zinco pode acarretar diversos danos à saúde. A deficiência de ferro é um dos mais importantes problemas nutricionais no mundo e suas principais vítimas são gestantes, lactentes e crianças em idade pré-escolar, ele é componente de uma série de proteínas, incluindo enzimas e hemoglobina, sendo importante para o transporte do oxigênio para os tecidos. Sua deficiência ocorre quando as reservas nutricionais são esgotadas, devido principalmente à ingestão inferior ao necessário, quando essa deficiência é severa, desenvolve-se a anemia por deficiência de ferro (BEARD, STOLTZFUS, 2001; BORTOLINI; FISBERG, 2010).

Nutricionalmente, o feijão é considerado excelente fonte de nutrientes essenciais e, também de micronutrientes. Por apresentar altos níveis de minerais essenciais, como ferro, zinco, fósforo e cálcio, o feijão tem potencial para suprir a anemia causada por deficiência de ferro e outras doenças associadas com micronutrientes que atingem pessoas em todo o mundo (DÍAZ, CALDAS, BLAIR, 2010).

Após a ingestão, os minerais devem ser liberados da matriz alimentar e estar em um estado livre para permitir sua absorção através das células epiteliais que revestem o trato gastrointestinal. No entanto, quando presentes nos alimentos nem sempre estão em estado livre, mas podem estar ligados a fatores antinutricionais existentes na matriz alimentar. O zinco e o ferro são frequentemente complexos com ácido fítico em muitas leguminosas e cereais. Compostos fenólicos, fibra solúvel, pectina e oxalatos são fatores antinutricionais que recebem atenção considerável, devido à sua capacidade de quelar minerais, resultando em complexos indigestíveis e limitando a bioacessibilidade do mineral (RAES *et al.*, 2014; GOFF, 2018; ROUSSEAU *et al.*, 2019).

### 3.6. *Bioacessibilidade e biodisponibilidade*

Na ingestão dos alimentos podemos destacar dois processos diferenciados, a bioacessibilidade e a biodisponibilidade. A biodisponibilidade é a quantidade em que uma substância ativa é absorvida no intestino delgado já a bioacessibilidade é a quantidade de um componente do alimento que está presente no intestino humano, após sua liberação a partir da matriz do alimento e torna-se disponível para ser absorvida pelo intestino. Para que um composto

seja potencialmente biodisponível, deve primeiro ser bioacessível no alimento (HOLST, WILLIAMSON, 2008; SHIM *et al.*, 2009; TAGLIAZUCCHI *et al.*, 2010). A fração bioacessível é influenciada pelas formas químicas dos elementos, pelo comportamento das espécies e complexos organometálicos no trato gastrointestinal e pelas interações com a matriz alimentar (KHOUZAM, POHL, LOBINSKI, 2011).

As determinações das frações, bioacessível e biodisponível, podem ser realizadas, através de duas maneiras *in vivo* ou *in vitro*. Os testes *in vivo*, geralmente são feitos utilizando cobaias animais, os quais possuem o sistema digestivo semelhante ao do ser humano. Já os testes *in vitro* simulam as condições fisiológicas e de digestão no trato gastrointestinal utilizando reagentes bioativos para o preparo das soluções digestivas, como saliva, suco gástrico, suco duodenal e bile (MINEKUS *et al.*, 2014; PEIXOTO *et al.*, 2016; TOGNON, 2012).

Os estudos *in vitro* simulam as condições fisiológicas e os eventos que ocorrem durante a digestão no trato gastrointestinal humano. Assim um método gastrointestinal *in vitro* é aplicado sobre o alimento, simulando as condições fisiológicas que acontece durante a digestão humana, levando em consideração as três áreas do sistema digestivo, boca, estômago e intestino. Os principais fatores da simulação gastrointestinal *in vitro* são a temperatura, velocidade de agitação e a composição química e enzimática da saliva e dos sucos gástrico, duodenal e biliar. Após esta simulação, a solução resultante é destinada à quantificação do nutriente de interesse, permitindo assim, avaliar sua bioacessibilidade (TOGNON, 2012). O interesse sobre a bioacessibilidade de nutrientes em alimentos vem crescendo nos últimos anos. Para os genótipos de feijão estudados, ainda não há relatos na literatura, desta forma estes estudos são importantes, permitindo a obtenção de informações nutricionais inéditas e importantes para a questão alimentar do feijão.

### 3.7. Genótipos crioulos

Os genótipos crioulos (também chamados de sementes ou variedades crioulas) são definidas como variedades local ou tradicional, conservadas, selecionadas e manejadas por agricultores familiares, quilombolas, indígenas e outros povos tradicionais (BRASIL, 2003). A diversidade genética

destes genótipos se renova a cada safra, pois o sucesso produtivo delas depende da adaptação às condições ambientais como tipo de vegetação, clima, regime de ventos e chuvas, topografia e condições dos solos onde são cultivados, também tendem a tolerar melhor as variações ambientais por serem adaptadas às condições edafoclimáticas locais (CRISOSTOMO *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2019).

O processo de armazenamento das sementes ou genótipos crioulos é comumente realizado pelos próprios agricultores familiares ou em Bancos Comunitários de Sementes Crioulas, que são manipulados por eles e visam à conservação da biodiversidade, através do resgate e destes (SANTOS *et al.*, 2017).

Dentre os genótipos crioulos de feijões há grande variação de cores, morfologia e usos. Segundo Pelwing *et al.* (2008) a preferência da utilização de feijões crioulos, de acordo com relatos dos agricultores entrevistados, foi atribuída principalmente a características como adaptabilidade, valorização dos costumes, sabor e qualidade, além do baixo custo de produção. Coelho *et al.* (2010) testaram sementes de feijão crioulo e constataram que essas foram favorecidas devido ao seu potencial fisiológico quando comparadas com cultivares comerciais, as quais possuem uma estreita base genética. Fioreze *et al.* (2018) compararam quatorze genótipos crioulos de feijoeiro e dois cultivares comerciais, sendo que os genótipos crioulos além de apresentarem variabilidade genética para a característica de resistência à antracnose foram considerados superiores aos cultivares comerciais para as características de componentes de produção.

Atualmente já existe uma grande preocupação em incorporar tal diversidade encontrada nos genótipos crioulos nas cultivares comerciais, principalmente no que se refere a características morfo-agronômicas, qualidade tecnológica e nutricional dos grãos (PEREIRA *et al.*, 2009). A identificação de genótipos crioulos com características especiais servirá como importante diferencial mercadológico para ampliar a utilização destes e gerar ganhos aos agricultores pela comercialização desses genótipos.

#### 4. Referencias

AFONSO, S. M. E. Caracterização físico-química e atividade antioxidante de novas variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Instituto Politécnico de Bragança*, p. 1–44, 2010.

ALFARO, D. A.; URÍAS, S. J. E.; LOARCA, P. G.; GAYTAN, M. M.; PRADO, R. R.; MOJICA, L. Techno-functional properties of thermally treated black bean protein concentrate generated through ultrafiltration process. *LWT - Food Science and Technology*, v. 136, p. 110296, 2020.

ÁVILA, B. P. *Efeito dos processamentos nas propriedades tecnológicas, sensoriais e nutricionais de feijão comum e caupi e sua aplicação em panificação*. Dissertação apresentada ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Pelotas – RS, 2014.

AZARPAZHOOH, E.; BOYE, J. I. Composition of processed dry beans and pulses. *In: SIDDIQ, M.; UEBERSAX, M. A. Dry beans and pulses: production, processing and nutrition*. Ames: John Wiley & Sons, p. 103-128, 2013.

BARBOSA, F. R. S.; RIBEIRO, G. G.; DIAS, M. S.; ASSUNÇÃO, H. F.; RIBEIRO, D. D. Banco de sementes: autonomia para o pequeno produtor do sudoeste goiano. *Cadernos de Agroecologia*, v. 5 n.1, p.2, 2010.

BEARD, J.; STOLTZFUS, R. J. Iron-deficiency anemia: reexamining the nature and magnitude of the public health problem. *Journal Nutrition*, v.131, p. 563S–703S, 2001.

BENEVIDES, C. M. J.; SOUZA, M. V.; SOUZA, R. D. B.; LOPES, M. V. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.

BERTOLDO, J. G.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; ROCHA, F. Tempo de cocção de grãos de feijão em função de doses de fósforo no plantio e do tempo de armazenamento. *Biotemas*, v. 22, n. 1, p. 39-47, 2009.

BRASIL. Lei nº 10.711, de 5 agosto de 2003. Dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudanças e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, 6 ago. 2003.

BORTOLINI, G. A.; FISBERG, M. Orientação nutricional do paciente com deficiência de ferro. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 32, p. 105-113, 2010.

CAMPOS-VEGA, R.; LOARCA-PIÑA, G.; OOMAH, B. D. Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, v. 43, p. 461–482, 2010.

COELHO, S. R. M.; PRUDENCIO, S. H.; NOBREGA, L. H. P.; LEITE, C. F. R. Alterações no tempo de cozimento e textura dos grãos de feijão comum durante o armazenamento. *Ciências e Agrotecnologia*, v. 33, n. 2, p. 539-544, 2009.

COELHO, C. M. M., MOTA, M. R., SOUZA, C. A., MIQUELLUTI, D. J. Potencial fisiológico em sementes de cultivares de feijão crioulo (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, v. 32, n. 3, p. 097-105, 2010.

CONAB. *Companhia Nacional de Abastecimento* (Portal de Informações Agropecuárias. Grãos – Série Histórica. Disponível em: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/index.php/safra-serie-historica-dashboard>. Acesso em: jun, 2021.

CRISOSTOMO, N. M. S., COSTA, E. A., SILVA, C. L., BERTO, T. S., RAMOS, M. G. C., JUNIOR, J. L. A. M., MELO, L. D. F., NETO, J. C. A. (2018).

Qualidade fisiológica de sementes de milho crioulo proveniente de diferentes localidades. *Revista Craibeiras de Agroecologia*, v. 3, n. 1, p. e6555.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. *Ciência Rural*, v.39, n.3, p.945-954, 2009.

DÍAZ, A. M.; CALDAS, G. V.; BLAIR, M. W. Concentration of condensed tannins and anthocyanins in common bean seed coats. *Food Research International*, v. 43, p. 595-601, 2010.

ELIASSON, A. C. *Starch in food – Structure, function and applications*. New York: Boca Raton, CRC,. 605p, 2004.

FERREIRA, C. D.; ZIEGLER, V.; LINDEMANN, S. I.; HOFFMANN, J. F.; VANIER, N. L.; DE OLIVEIRA, M. Quality of black beans as a function of long-term storage and moldy development: Chemical and functional properties of flour and isolated protein. *Food chemistry*, v. 246, p. 473-480, 2018.

FIOREZE, A. C. C. L., GRIGOLO, S., PIVA, C. A. G., SARTORI, L. Variedades locais de feijoeiro como fontes potenciais de resistência a antracnose. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 48, n. 2, p. 126-133, 2018.

GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidante status, and diet considerations to improve mineral status. *Journal Dairy Science*, v. 101, p. 2763 – 2813, 2018.

HOLST, B.; WILLIAMSON, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current Opinion in Biotechnology*, 2008.

HUGHES, T.; HOOVER, R.; LIU, Q.; DONNER, E.; CHIBBAR, R.; JAISWAL, S. Composition, morphology, molecular structure, and physicochemical properties

of starches from newly released chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars grown in Canada. *Food Research International*, v. 42, n. 5-6, p. 627–635, 2009.

HUSKISSON, E.; MAGGINI, S.; RUF, M. The Role of Vitamins and Minerals in Energy Metabolism and Well-Being. *The Journal of International Medical Research*, v. 35, 2007.

JULIANO, B. O.,. *Rice in human nutrition*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 1993.

KALOGEROPOULOS, N.; CHIOU, A.; IOANNOU, M.; KARATHANOS, V. T., M.; HASSAPIDOU, M.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries, *Food Chemistry*, v. 121, n. 3, p. 682–690, 2010.

KHOUZAM, R. B.; POHL, P.; LOBINSKI, R. Bioaccessibility of essential elements from white cheese, bread, fruit and vegetables. *Talanta*, v.86, p.425 – 428, 2011.

LINDEMANN, I. S.; LANG, G. H.; FERREIRA, C. D.; COLUSSI, R.; ELIAS, M. C.; VANIER, N. L. Cowpea storage under nitrogen-modified atmosphere at different temperatures: Impact on grain structure, cooking quality, in vitro starch digestibility, and phenolic extractability. *Journal of Food Processing and Preservation*, p. e14368., 2019.

LOBO, A. R.; LEMOS SILVA, G. M. Resistant starch and its physicochemical properties. *Rev. Nut.*, v. 16, n. 2, p. 219-226, 2003.

LONDRES, F. *As sementes da paixão e as políticas de distribuição de sementes na Paraíba*. AS-PTA, 83 p., 2014.

LÓPEZ, A.; EL-NAGGAR, T.; DUEÑAS, M.; ORTEGA, T.; ESTRELLA, I.; HERNÁNDEZ, T.; GÓMEZ-SERRANILLOS, M. P.; PALOMINO, O. M.;

CARRETERO, M. E. Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, Barking, v. 138, p. 547-555, 2013.

LOS, F. G. B.; ZIELINSKI, A. A. F.; WOJEICCHOWSKI, J. P.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M. Extraction optimization of phenolic extracts from carioca bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using response surface methodology. *Food Analytical Methods*, v. 12, n. 1, p. 148-159, 2019.

LUJÁN, D. L. B.; LEONEL, A. J.; BASSINELLO, P. K.; COSTA, N. M. B. Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade proteica, na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, p 142-149, dez. 2008.

LUNA-VITAL, D. A.; DE MEJÍA, E. G.; MENDOZA, S.; LOARCA-PIÑA, G. Peptides present in the non-digestible fraction of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) inhibit the angiotensin-I converting enzyme by interacting with its catalytic cavity independent of their antioxidant capacity. *Food & Function*, v. 6, p. 1470-1479, 2015.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. *Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*, 11<sup>a</sup> Edição, 2005.

MARTÍNEZ-BALLESTA, M. C.; DOMINGUEZ-PERLES, R.; MORENO, D. A.; MURIES, B.; ALCARAZ OPEZ; C., BASTÍAS, E.; CARVAJAL, M.. Minerals in plant food: effect of agricultural practices and role in human health. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 30, p. 295–309, 2010.

MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALLANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIE, C.; CARRRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EGGER, L.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MARCIERZANKA, A.; MACKIE, A.; MARZE, S.; MCCLEMENTS, D. J.; MÉNARD, O.; RECIO, I.; SANTOS, C. N.; SINGH, R. P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, M. S. J.; WEITSCHIES, W.; BRODKORB, A.; A

standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Function*, v. 5, p. 1113-1124, 2014.

MOURA A. D.; BRITO, L. M. *Aspectos Socioeconômicos*. In: CARNEIRO, J. E.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed). *Feijão do Plantio a Colheita*. Viçosa-MG: UFV, 16-36p., 2015.

MUTHAYYA, S., RAH, J. H., SUGIMOTO, J. D., ROOS, F., KRAEMER, K., BLACK, R. The global hidden hunger indices and maps: an advocacy tool for action. *PLoS One*, v. 8, n. 1, p. 1-12, 2013.

NASAR-ABBAS, S. M.; PLUMMER, J. A.; SIDDIQUE, K. H. M.; WHITE, P.; HARRIS, D.; DODS, K. Cooking quality of faba bean after storage at high temperature and the role of lignins and other phenolics in bean hardening. *LWT – Food Science and Technology*, v.41, p.1260 – 1267, 2008.

NJOROGE, D. M.; KINYANJUI, P. K.; MAKOKHA, A. O.; CHRISTIAENS, S.; SHPIGELMAN, A.; SILA, D. N.; HENDRICKX, M. E. Extraction and characterization of pectic polysaccharides from easy- and hard-to-cook common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Research International*, v. 64, p. 314–322, 2014.

OLIVEIRA, A. C.; QUEIROZ, K.S.; HELBIG, E.; REIS, S.M.; CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. *Archives Latinoamericanas de Nutrición*, v.51, p.276-283, 2001.

OOMAH, B.D.; CORBÉ, A.; BALASUBRAMANIAN, P. Antioxidant and antiinflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.58, n.14, p.8225- 8230, 2010.

PAES, J. *Estudo da concentração do licopeno da polpa do mamão (Carica papaya L.) Por ultrafiltração em escala piloto*. 103 p Dissertação (Mestrado em

Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2011.

PALÁCIO FILHO, A. M.; ARAÚJO, D. V.; BORGES, J. M.; ANDRADE, L. P. Oficinas sobre uso de sementes crioulas – Incentivo para produção Agroecológica na região do Agreste Meridional de Pernambuco. *Cadernos de Agroecologia*, v. 6, n. 2, p. 03, 2011.

PAREDES, R. S. V. *Bioacessibilidade de compostos fenólicos e minerais em feijão comum (Phaseolus vulgaris L.)* Dissertação apresentada a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Piracicaba - SP, 2017.

PEIXOTO, R. R. A.; DEVESA, V.; VÉLEZ, D.; CERVERA, M. L.; CADORE, S. Study of the factors influencing the bioaccessibility of 10 elements from chocolate drink powder. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 48, p.41-47, 2016.

PELWING, A. B., FRANK, L. B., BARROS, I. I. B. Sementes crioulas: o estado da arte no Rio Grande do Sul. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, v. 46, n. 2, p. 391-420, 2008.

PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; ALMEIDA, V. M. de; MAGALDI, M. C. de S. Environmental influence in common bean cultivars grown in Brazilian savannah with low altitude. *Bragantia*, v. 71, n. 2, p. 165-172, 2012.

PEREIRA, T., COELHO, C.M.M., BOGO, A., GUIDOLIN, A.F., MIQUELLUTI, D.J. Diversity in common bean landraces from South-Brazil. *Acta Botanica Croatica*, v.68, n.1, p.79-92, 2009.

PERINA, E. F.; CARVALHO, C. R. L.; CHIORATO, A. F.; LOPES, RODRIGO L.; GONÇALVES, J. G. R.; CARBONELL, S. A. M. Technological quality of

common bean grains obtained in different growing seasons. *Bragantia*, v. 73, n. 1, p. 14-22, 2014.

PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M. A. G.; CRUZ, G. A. D. R.; MENDES, F. Q.; REZENDE, S. T.; MOREIRA, M. A. Physicochemical composition of different cultivars of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Alimentação e Nutrição*, v. 16, p. 157-162, 2005.

POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better - and safer - than synthetic antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 109, p. 629-642, 2007.

RAES, K.; KNOCKAERT, D.; STRUIJS, K.; VAN CAMP, J. Role of processing on bioaccessibility of minerals: Influence of localization of minerals and anti-nutritional factors in the plant. *Trends Food Sci. Technol*, v. 37, n. 32-41, 2014.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L. A.; LEONEL, A. J.; COSTA, N. M. B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 28, p. 200-213, 2008.

RAMÍREZ-JIMÉNEZ, A. K.; REYNOSO-CAMACHO, R.; MENDOZA-DÍAZ, S.; LOARCA-PIÑA, G. Functional and technological potential of dehydrated *Phaseolus vulgaris* L. flours. *Food Chemistry*, v. 161, p. 254-260, 2014.

RIBEIRO, N. D.; ANTUNES, I. F.; POERSCH, N. L.; ROSA, S. S.; TEIXEIRA, M. G.; GOMES, A. L. da S. Potencial de uso agrícola e nutricional de cultivares crioulas de feijão. *Ciência Rural*, v. 38, n.3, p. 628-634, 2008.

RITCHIE, H.; ROSER, M. *Micronutrient Deficiency*. Our World in Data (2018). Disponível em: <https://ourworldindata.org/micronutrient-deficiency>. Acesso em: Nov. 2021.

ROUSSEAU, S.; KYOMUGASHO, C.; CELUS, M.; HENDRICKX, M. E. G.; GRAUWET, T. Barriers impairing mineral bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods and the perspectives for food processing. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, p. 1–18, 2019.

SANTOS, G. G.; RIBEIRO, N. D.; MAZIERO, S. M. Evaluation of common bean morphological traits identifies grain thickness directly correlated with cooking time. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 46, n. 1, p. 35-42, 2016.

SANTOS, M. S. Sementes crioulas: Sustentabilidade no semiárido paraibano. *Agrarian Academy*, v. 4, n. 7, p. 403, 2017.

SANTOS, A. S., CURADO, F. F., TAVARES, E. D. Pesquisa com sementes crioulas e suas interações com as políticas públicas na região Nordeste do Brasil. *Cadernos de Ciência e Tecnologia*, v. 36, n. 3, p. e26514, 2019.

SCHUCHARDT, J. P.; HAHN, A. Intestinal Absorption and Factors Influencing Bioavailability of Magnesium-Na Update. *Curr. Nutr. Food Sci*, v. 13, p. 260–278, 2017.

SHIM, S.; FERRUZZI, M.; KIM, Y.; JANLE, E.; SANTERRE, C. Impact of phytochemical-rich foods on bioaccessibility of mercury from fish. *Food Chemistry*, 2009.

SHIMELIS, E. A.; RAKSHIT, S. K. Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. *LWT - Food Science and Technology*, v. 38, n. 4, p. 331–338, 2005.

SILVA, O. F.; WANDER, A. E. *O Feijão-Comum no Brasil Passado, Presente e Futuro*. 1 Ed., Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 60 p., 2013.

SINGH, N. Functional and physicochemical properties of pulse starch. In: Pulse foods: processing, quality and technological applications. *Academic press*, p. 91-120, 2011.

SLUPSKI, J. Effect of cooking and sterilization on the composition of amino acids in immature seeds of flageolet bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Food Chemistry*, Barking, v. 121, n. 1, p.1171–1176, 2010.

TAGLIAZUCCHI, D.; VERZELLONI, E.; BERTOLINI, D.; CONTE, A. In vitro bio accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, 2010.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch – composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, v. 39, n. 1, p. 151-165, 2004.

TOGNON, A. L. *Quantificação e avaliação da bioacessibilidade in vitro de micro e macroelementos em frutas, hortaliças e cereais*. Dissertação apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências (área: Química).. Ribeirão Preto – SP, 2012.

VENTURELLI, G. L.; BROD, F. C.; ROSSI, G. B.; ZIMMERMANN, N.; F.; OLIVEIRA, J. P.; FARIA, J. C.; ARISI, A. C. A specific endogenous reference for genetically modified common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) DNA quantification by realtime PCR targeting lectin gene. *Molecular biotechnology*, v. 56, n. 11, p. 1060- 1068, 2014.

VERMA, M.; SHARMA, P.; GOUR, V. S.; KOTHARI, S. L. Moisture--irradiation on antioxidant properties of mung bean (*Vigna radiate* L.) cultivars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 34, p. 59-67, 2016.

WINHAM, D. M.; HUTCHINS, A. M.; MELDE, C. L. Pinto bean, navy bean, and black eyed pea consumption do not significantly lower the glycemic treatment in normoglycemic adults. *Nutrition Research*, v. 27, p. 535-541, 2007.

YEO, J.; SHAHIDI, F. Critical evaluation of changes in the ratio of insoluble bound to soluble phenolics on antioxidant activity of lentils during germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 63, p. 379–381, 2015.

YOUSIF, A. M.; KATO, J.; DEETH, H. C. Food Reviews International Effect of Storage on the Biochemical Structure and Processing Quality of Adzuki Bean (*Vigna angularis*) Effect of Storage on the Biochemical Structure and Processing Quality of Adzuki Bean (*Vigna angularis*). *Food Reviews International*, v. 231, n. 23, p. 1–33, 2006.

ZAMINDAR, N.; BAGHEKHANDAN, M. S.; NASIRPOUR, A.; SHEIKHZEINODDIN, M. Effect of line, soaking and cooking time on water absorption, texture and splitting of red kidney beans. *Journal of Food Science and Technology*, Mysore, v. 50, n. 1, p. 108 -114, 2013.

## **Artigo I. Caracterização do amido, de compostos bioativos e efeito do armazenamento nas características tecnológicas em genótipos de feijões crioulos**

### **1. Introdução**

O feijão é considerado um dos alimentos mais completos devido ao seu alto conteúdo de proteínas, minerais, vitaminas e fibras, também apresenta conteúdo de amido entre 45 e 60%, podendo variar de um genótipos de feijão para outro (Kotue et al., 2018; Bortolheiro et al., 2021). O feijão vem ganhando cada vez mais atenção pois são excelentes fontes de constituintes funcionais, incluindo compostos bioativos, além de possuir ação antioxidante (Dueñas et al., 2016), apresentando uma grande diversidade de flavonóides, antocianinas e proantocianidinas, bem como alguns ácidos fenólicos, os quais reduzem o risco de desenvolvimento de patologias e são importantes fitonutrientes (Xu, Chang, 2009; Mojica et al., 2015). Além de genótipos comerciais já conhecidos, grande parte da agricultura familiar utiliza genótipos crioulos na sua produção.

Genótipos ou sementes crioulas são gerados a partir de cruzamentos naturais, os quais não passaram por melhoramento genético. A utilização de feijões crioulos é atribuída a características como adaptabilidade, valorização dos costumes, sabor e qualidade dos genótipos tradicionais, além do baixo custo de produção. Estes constituem um patrimônio agrícola importante e fundamental para a manutenção da agricultura, sendo que as famílias agricultoras desempenham, ao longo dos anos, seleção de uma ampla diversidade de materiais genéticos que são melhorados e ajustados aos mais variados agroecossistemas. As sementes ou genótipos crioulos são de extrema importância para sistemas orgânicos, simbolizam autonomia aos agricultores, representam um material genético fundamental na produtividade agrícola, além de marcar a cultura alimentar de uma região (Berto et al., 2018; Santos et al., 2019; Silveira et al., 2019).

Na produção do feijão, é possível a realização de três safras ao ano e o armazenamento é adotado para abastecer a demanda deste grão durante o período de entressafra (Ferreira et al., 2017). O principal objetivo do armazenamento é manter as características que os grãos possuem, tais como

a viabilidade de grãos, a qualidade industrial e as propriedades nutritivas, que afetam diretamente o valor comercial dos grãos (Demitto et al., 2019). Uma das principais dificuldades no armazenamento de feijão é impedir o escurecimento dos grãos, que é resultado da oxidação dos compostos fenólicos, pela ação da enzima polifenoloxidase na presença de oxigênio, formando novos compostos que alteram significativamente a cor dos grãos e deprecia seu valor comercial (Siqueira et al., 2014). Outra alteração bastante relevante que ocorre em grãos de feijão durante o armazenamento, é o aumento do tempo de cocção e da dureza. As principais causas deste aumento são a utilização de temperatura e teor de água elevados durante o armazenamento, que levam a formação do defeito “HTC – *Hard to cook*”, que significa difícil de cozinhar. (Njoroge et al., 2014). O consumidor está cada vez mais exigente a qualquer alteração na qualidade dos grãos, sendo que o endurecimento e a coloração são facilmente perceptíveis e definem a escolha do produto no momento da compra, assim a identificação de genótipos crioulos que apresentem características esperadas pelo consumidor servirá como importante diferencial para ampliar a utilização destes e gerar renda aos agricultores.

Com a escassez de informações sobre as características tecnológicas e bioativas de genótipos crioulos de feijão preto, objetivou-se avaliar o efeito do armazenamento por 12 meses nas características tecnológicas, avaliar os compostos bioativos totais e caracterizar o amido de três genótipos de feijão crioulo.

## **2. Material e Métodos**

### *2.1. Amostras e Condições de armazenamento*

Grãos íntegros de feijão comum de tegumento preto (*Phaseolus vulgaris* L.), do grupo de genótipos crioulos BRS Expedito, TB02-23 e TB02-19, foram obtidos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) - Estação Clima Temperado – Pelotas/Brasil. As amostras apresentaram umidade inicial de 12%. Os feijões sem cozimento foram moídos em moinho de martelos, (modelo Lab Mill 3100 - Perten, São Paulo, Brasil) e depois homogeneizados em um misturador vórtice (Kasvi, São Caetano, Brasil) para a realização das análises. As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno

transparente com espessura de 80 µm em sala de armazenamento, onde permaneceram até a realização das análises laboratoriais, em um período de 365 dias. Para as análises com armazenamento, as avaliações foram realizadas a cada quatro meses.

## 2.2. *Armazenamento*

### 2.2.1. *Coeficiente de hidratação e Tempo de cocção*

O coeficiente de hidratação foi estabelecido de acordo com o método descrito por El-Refai et al. (1988) e Nasar-Abbas et al. (2008). Os grãos de feijão após hidratados, foram submetidos ao teste de cozimento, com o uso do cozedor de Mattson (Mattson, 1946), modificado por Proctor, Watts (1987), composto de 25 hastes verticais, com peso padrão de 90 gramas, as quais permaneceram apoiadas nos grãos de feijão durante o cozimento sob água destilada fervente. O equipamento com os grãos foi colocado em Becker de 2000 mL, contendo 400 mL de água destilada, fervendo em chapa elétrica. Em continuidade, o tempo de cocção das amostras passou a ser cronometrado após a água atingir a temperatura de 90 °C. O tempo de cocção foi finalizado pela queda da 13ª haste (mais de 50% dos grãos) e expresso em minutos.

### 2.2.2. *Teor de proteína e Digestibilidade proteica*

O teor de proteína bruta foi determinado segundo metodologia indicada pela AOAC (2005). A digestibilidade proteica foi realizada seguindo a metodologia descrita por Hsu (1977), com adaptações. Foram utilizadas para a hidrólise da solução de proteínas uma solução enzimática contendo as enzimas tripsina e pancreatina. Ajustou-se o pH de 50 mL da suspensão proteica em água destilada (contendo 6,25 mg de proteína mL<sup>-1</sup>), para pH 8,0 sob agitação, em banho-maria a 37 °C. Cinco mililitros da solução enzimática foram adicionados à suspensão proteica mantida em banho-maria a 37 °C. A queda do pH foi medida após a adição da solução enzimática, a partir de 15 segundos e posteriormente a cada minuto até o tempo de 10 minutos, usando-se um potenciômetro.

### 2.2.3. *Dureza dos grãos*

A dureza dos grãos cozidos foi determinada, por teste, utilizando-se um único grão, o qual foi colocado na base do equipamento (*Stable Micro Systems Texture Analysers*, modelo TAXT plus, Inglaterra) e submetido a uma compressão de 80% com um probe cilíndrico de acrílico, de 35 mm, velocidade de teste de  $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$  em um ciclo, empregando-se carga de 5 kg para calibração, com 10 repetições.

#### 2.2.4. Perfil colorimétrico

A cor do tegumento dos feijões foi determinada com o uso de um colorímetro Minolta modelo CR-310 (Osaka, Japão), o qual indica as cores em um sistema tridimensional, onde o valor  $L^*$  expressa a luminosidade, que varia do preto (0) ao branco (100), o valor de  $a^*$  expressa a variação de cor verde (-) ao vermelho (+) e o valor de  $b^*$  expressa a variação de cor azul (-) ao amarelo (+).

### 2.3. Caracterização dos compostos bioativos totais

#### 2.3.1. Extração dos bioativos

O extrato foi obtido conforme método descrito por Nasar-Abbas et al. (2008), com algumas modificações. Foram pesados 2 g de grãos moídos em tubo de Falcon, sendo posteriormente realizadas três extrações com 10 mL de acetona: água, 70:30 (v/v). As amostras foram agitadas durante 20 min a cada extração e em seguida foram centrifugadas a 7500xg por 15 min, sendo que os sobrenadantes foram unidos. O extrato foi utilizado para as análises de compostos fenólicos totais, proantocianidinas totais e flavonoides totais.

#### 2.3.2. Fenólicos, antocianinas, proantocianidinas e flavonoides totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, descrito por Zieliński, Kozowska (2000), com algumas modificações. Foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de extrato em tubo de Falcon de 15 mL e completado o volume para 500  $\mu\text{L}$  com água destilada. Foram adicionados 250  $\mu\text{L}$  de reagente Folin-Ciocalteu 1 N e aguardou-se 8 minutos, seguido de adição de 1,25 mL da solução de carbonato de sódio (7% m/v). Após, o tubo foi agitado e coloca ao abrigo da luz por 2h. A leitura foi realizada em

espectrofotômetro (Jenway, 6705 UV/Vis) a 725 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g.

As antocianinas totais foram determinadas segundo o método dsxzsto por Abdel-Aal, Hucl (1999) utilizando 0,5 gramas de grãos moídos adicionados de 30 mL de metanol acidificado (metanol e 1 N HCl, 85:15 v/v). As amostras foram centrifugadas a 5000 rpm durante 15 minutos. Posteriormente a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Jenway, 6705 UV/Vis) a 535 nm e os resultados foram expressos em mg de equivalente de cianidina 3-glicosídeo (EC-3-G)/100 g.

As proantocianidinas totais foram determinadas segundo Porter et al. (1985). Foram pipetados 0,5 mL do extrato em tubos de vidro com tampa, em seguida foram adicionados 3,0 mL de butanol acidificado (butanol:HCl, 95:5) e 0,1 mL de reagente férrico (2% de sulfato férrico de amônia em 2N HCl). A mistura foi levada a banho (97-100°C), por 30 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 550 nm e os resultados expressos em mg de leucoantocianidinas (LE)/100 g.

O conteúdo de flavonoides totais foi realizado conforme método proposto por Zieliński e Kozowska (2000). Adicionou-se 0,5 mL do extrato em tubo de Falcon de 15 mL juntamente com 2 mL de água e 0,15 mL de NaNO<sub>2</sub> (5%), deixou-se reagir durante 5 min., em seguida foi adicionado 0,15 mL de AlCl<sub>3</sub> (10%), deixou-se reagir por mais 6 min., após adicionou-se 1 mL de NaOH 1 mol/L e 1,2 mL de água destilada, posteriormente realizou-se a leitura em espectrofotômetro (Jenway, 6705 UV/Vis) a 510 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de catequina (EC)/100 g.

### 2.3.3. *Determinação da Capacidade Antioxidante - Método DPPH e ABTS*

Para realizar a capacidade antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazila) foi utilizado o método adaptado de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Este método se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante (presente nas amostras) para um radical livre, o DPPH. Para realizar o extrato pesou-se 0,8 g de amostra e acrescentou-se 10 mL de etanol P.A., após o extrato foi centrifugado a 6000 rpm por 10 minutos. A solução padrão de DPPH foi feita com 0,042 g de DPPH dissolvidos em etanol P.A. A solução diluída foi preparada com uma alíquota de 10mL de solução

padrão de DPPH em 45mL de etanol P.A. Foi certificado que a absorvância inicial a 515 nm da solução diluída estava em torno de  $1,1 \pm 0,02$ . A solução para leitura compreendia de 500 mL de extrato em tubo Falcon de 15 mL (envolto em papel alumínio), com 3 mL de etanol P.A e 300 mL de solução diluída DPPH. Aguardou-se 45 minutos e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515 nm.

Para determinar a capacidade antioxidante pelo método ABTS, utilizou-se o método descrito por Re et al. (1999). O radical ABTS foi formado pela reação de 2,45 mM de persulfato de potássio com 7 mM de 2,2azino-bis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico), armazenado no escuro, à temperatura ambiente, durante 16 horas. Uma vez formado, o radical ABTS foi diluído em etanol até obter-se uma medida de absorvância de  $0,70 \pm 0,02$  em comprimento de onda de 734 nm. A absorvância foi medida em espectrofotômetro no tempo de 6 minutos após a adição da amostra. A capacidade antioxidante total da amostra foi calculada em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox nas mesmas condições, e os resultados foram expressos em porcentagem de inibição.

## 2.4. *Caracterização do amido*

### 2.4.1. *Extração do amido*

A extração de amido foi realizada conforme método descrito por Rupollo et al. (2011). O feijão moído foi embebido em água destilada contendo 0,16% de sulfito de hidrogênio de sódio por 24 horas a 4 °C, sendo, posteriormente, drenado o bissulfito. A amostra foi suspensa em 400 mL de água destilada e homogeneizada em um liquidificador de laboratório (marca Oster, clássico, 3 velocidades, Brasil). O material homogeneizado, foi selecionado através de uma peneira de 200 mesh e deixado em repouso por três horas. O sobrenadante foi removido e a camada de amido decantada foi ressuspensa em água destilada e centrifugada a 1200 rpm por 20 min. A camada superior não-branca foi removida com uma espátula e a camada branca foi ressuspensa em água destilada e centrifugada a 1200 rpm por 15 min. A camada superior não-branca foi removida. O amido foi coletado e seco em estufa a 40 °C por 12 horas.

#### 2.4.2. Teor de Amilose

O teor de amilose foi determinado por método colorimétrico com iodo, conforme método de McGranc et al. (1998), com as modificações sugeridas por Hoover e Ratnayake (2001) com a leitura da absorvância em 600 nm. Para a realização da curva de calibração foi utilizado 20 mg de amilose de batata pura (Sigma-Aldrich) submetida ao mesmo processo das amostras, sendo retiradas alíquotas de 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mL para determinação da absorvância.

#### 2.4.3. Amido Resistente

O teor de amido resistente foi realizado segundo método oficial da AOAC Method 2002.02 e AACC Method 32-40.01 para determinação de amido resistente, utilizando um kit de reagentes da marca Megazyme International Ireland.

#### 2.4.4. Viscoamilografia (RVA)

A viscosidade das amostras foi determinada através do analisador rápido de viscosidade (*Rapid Visco Analyser*, modelo RVA-3D+ da Newport Scientific Pty. Ltd., Sidney, Austrália), provido do *software Termocline*. O perfil utilizado foi o *Standard Analysis 1*. Os resultados das análises são interpretados a partir dos gráficos fornecidos pelo *software* do aparelho.

#### 2.4.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia do amido foi examinada por microscopia eletrônica de varredura (Jeol, JSM - 6610LV, com microsonda de EDS). Uma pequena quantidade do amido foi colocada diretamente sobre a superfície dos stubs e seco em estufa. Subsequente, todas as amostras foram revestidas com ouro e examinadas sob uma voltagem de aceleração de 15 kV.

#### 2.4.6. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As características de gelatinização do amido do feijão foram determinadas através de Calorimetria Diferencial de Varredura (TA-60WS, Shimadzu, Japão). Amostras de amido (cerca de 2,5 mg, em base seca) foram pesadas diretamente em panela de alumínio (Mettler, ME-27.331), com uma micro seringa foi adicionada água destilada para obter uma suspensão com

75% de água. O cadinho foi hermeticamente selado e deixou-se estabilizar. Uma panela vazia foi utilizada como referência. Os cadinhos com a amostra foram aquecidos 10-120 °C, à taxa de 10 °C.min<sup>-1</sup>.

#### *2.4.7. Perfil colorimétrico do amido*

A cor dos amidos foi determinada com o uso de um colorímetro Minolta modelo CR-310 (Osaka, Japão), o qual indica as cores em um sistema tridimensional, onde o valor L\* expressa a luminosidade, que varia do preto (0) ao branco (100), o valor de a\* expressa a variação de cor verde (-) ao vermelho (+) e o valor de b\* expressa a variação de cor azul (-) ao amarelo (+).

#### *2.5. Análise estatística*

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA com comparação de médias por meio do teste de Tukey a um nível de significância de 5%.

### **3. Resultados e discussão**

#### *3.1. Efeito do armazenamento nas características tecnológicas*

Na Tabela 1, estão apresentados o coeficiente de hidratação, tempo de cocção, teor de proteína, digestibilidade proteica, dureza e cor dos genótipos crioulos, armazenados durante doze meses, com coletas realizadas em intervalos de quatro meses.

**Tabela 1** - Coeficiente de hidratação, tempo de cocção, teor de proteína, digestibilidade proteica, dureza e cor dos genótipos crioulos

Amostras	Tempo (meses)	Coeficiente de Hidratação (%)	Tempo de cocção (min)	Proteína (%)	Digestibilidade Proteica (%)	Dureza (N)	L*	a*	b*
BRS	0	192,95±0,82 <sup>abB</sup>	19±0,58 <sup>cB</sup>	23,60±0,52 <sup>bB</sup>	69,26±0,00 <sup>cB</sup>	151,58±3,98 <sup>aB</sup>	22,71±1,39 <sup>abA</sup>	-0,37±0,08 <sup>cB</sup>	0,45±0,04 <sup>bA</sup>
Expedito	4	191,36±1,44 <sup>bB</sup>	32±0,58 <sup>bB</sup>	25,45±0,80 <sup>aA</sup>	72,88±0,00 <sup>bA</sup>	158,90±5,87 <sup>aA</sup>	23,57±0,72 <sup>aA</sup>	-0,08±0,07 <sup>bB</sup>	0,52±0,13 <sup>a<sup>b</sup>B</sup>
	8	192,32±0,83 <sup>bA</sup>	55±1,53 <sup>aB</sup>	26,00±0,07 <sup>aA</sup>	75,59±0,91 <sup>aA</sup>	151,82±7,48 <sup>aA</sup>	19,46±0,80 <sup>cB</sup>	-0,31±0,03 <sup>cB</sup>	0,59±0,03 <sup>aB</sup>
	12	198,08±3,83 <sup>aA</sup>	54±0,58 <sup>aB</sup>	26,59±0,26 <sup>aA</sup>	75,29±1,05 <sup>aA</sup>	156,90±3,79 <sup>aA</sup>	21,80±0,96 <sup>bB</sup>	0,64±0,07 <sup>aC</sup>	-0,27±0,09 <sup>cB</sup>
TB02-23	0	186,11±0,50 <sup>cC</sup>	26±0,00 <sup>dA</sup>	24,51±0,27 <sup>abA</sup>	74,69±1,81 <sup>abA</sup>	137,78±5,06 <sup>bC</sup>	21,92±0,88 <sup>bA</sup>	0,81±0,23 <sup>cA</sup>	0,28±0,09 <sup>bB</sup>
	4	189,95±0,67 <sup>bB</sup>	44±0,00 <sup>cA</sup>	25,48±1,46 <sup>aA</sup>	72,88±0,00 <sup>bA</sup>	146,79±8,14 <sup>aA</sup>	21,08±1,41 <sup>bB</sup>	1,11±0,31 <sup>bA</sup>	0,54±0,36 <sup>bB</sup>
	8	191,40±0,69 <sup>abA</sup>	64±1,00 <sup>aA</sup>	22,20±0,90 <sup>bcB</sup>	74,69±1,81 <sup>abA</sup>	131,29±3,16 <sup>bC</sup>	20,66±0,65 <sup>bA</sup>	0,43±0,11 <sup>dA</sup>	1,42±0,13 <sup>aA</sup>
	12	192,78±0,69 <sup>aA</sup>	62±0,58 <sup>bA</sup>	19,96±0,98 <sup>cC</sup>	77,40±0,91 <sup>aA</sup>	144,07±2,22 <sup>abB</sup>	24,26±1,42 <sup>aA</sup>	2,16±0,20 <sup>aA</sup>	0,49±0,25 <sup>bA</sup>
TB02-19	0	197,68±0,50 <sup>aA</sup>	20±1,15 <sup>cB</sup>	24,23±0,21 <sup>aAB</sup>	72,88±0,00 <sup>bA</sup>	172,71±5,27 <sup>aA</sup>	22,16±0,92 <sup>bA</sup>	-0,27±0,13 <sup>bB</sup>	0,41±0,06 <sup>bA</sup>
	4	199,30±1,36 <sup>aA</sup>	31±1,15 <sup>bB</sup>	24,55±0,75 <sup>aA</sup>	72,88±0,00 <sup>bA</sup>	154,03±8,26 <sup>b<sup>c</sup>A</sup>	24,26±1,46 <sup>aA</sup>	-0,18±0,11 <sup>bB</sup>	0,49±0,18 <sup>abB</sup>
	8	193,97±1,71 <sup>bA</sup>	52±0,00 <sup>aC</sup>	23,40±0,86 <sup>aB</sup>	76,50±0,00 <sup>aA</sup>	144,40±3,14 <sup>cB</sup>	17,37±0,52 <sup>dC</sup>	-0,30±0,05 <sup>bB</sup>	0,57±0,03 <sup>aB</sup>
	12	196,65±1,05 <sup>abA</sup>	52±1,00 <sup>aC</sup>	24,16±0,65 <sup>aB</sup>	76,50±1,81 <sup>aA</sup>	156,15±4,59 <sup>bA</sup>	20,36±0,74 <sup>cC</sup>	0,99±0,12 <sup>aB</sup>	-0,49±0,12 <sup>cC</sup>

Médias aritméticas simples (n=3) ± desvio padrão. Diferentes letras minúsculas na coluna diferem entre si, comparando os tempos de armazenamento na mesmo genótipo, e com diferentes letras maiúsculas na coluna diferem entre si, comparando os tempos de armazenamento entre os genótipos, pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Ao final do armazenamento observou-se um aumento do coeficiente de hidratação ( $p \leq 0,05$ ) para os três genótipos crioulos. O coeficiente de hidratação dos grãos de feijão antes do cozimento pode ser indicativo do tempo de cocção, ou seja, maior quantidade de água absorvida causaria um menor tempo de cocção (Rodrigues et al., 2005), porém Dalla Corte (2003) e Carbonell et al. (2003) citam que não há relação entre a capacidade de hidratação e tempo de cocção, o que também foi observado nesse estudo. A capacidade de hidratação dos grãos de feijão depende do tipo e da quantidade de proteínas, bem como da presença de componentes não proteicos, entre eles destaca-se os carboidratos, que aumentam a capacidade de retenção de água no feijão (Sathe, 2002).

No início do armazenamento, os feijões apresentaram tempo de cocção de 19, 26 e 20 min, respectivamente para a BRS Expedito, TB02-23 e TB02-19. Os três genótipos apresentaram aumento ( $p \leq 0,05$ ) até o oitavo mês de armazenamento. O genótipo TB02-23 apresentou o maior ( $p \leq 0,05$ ) tempo de cocção entre os genótipos durante todo armazenamento. Coelho et al. (2009), encontraram resultados semelhantes aos desse estudo, os autores identificaram aumentos dos tempos de cozimento de feijão comercial preto e carioca, envelhecidos tanto naturalmente como de forma acelerada, durante o armazenamento. Esse comportamento pode ser resultado das interações entre as partículas de amido e dessas com os outros constituintes do grão durante o armazenamento, reforçando as ligações químicas e dificultando a absorção de água (Ziegler et al., 2018).

O conteúdo inicial de proteína variou entre 23,60 a 24,51% e durante o armazenamento foram verificadas mínimas alterações. Para a BRS Expedito foi observado menor ( $p \leq 0,05$ ) teor de proteínas apenas no tempo inicial. Para o TB02-23 foi observado uma diminuição ( $p \leq 0,05$ ) a partir do oitavo mês de armazenamento e o TB02-19 não apresentou alteração ( $p \leq 0,05$ ) durante o armazenamento. Berrios et al. (1999) também não constataram alterações nos teores de proteínas em grãos de feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) após dois anos de armazenamento.

A digestibilidade proteica para a BRS Expedito e TB02-19 apresentou aumento ( $p \leq 0,05$ ) até o oitavo mês de armazenamento. Já para o TB02-23, a digestibilidade diminuiu ( $p \leq 0,05$ ) no quarto mês de armazenamento e

aumentou a partir do oitavo mês. A BRS Expedito apresentou menor ( $p \leq 0,05$ ) digestibilidade comparada as outras amostras no início do armazenamento, porém a partir do quarto mês, os feijões não apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ). A digestibilidade é utilizada para avaliar o aproveitamento de uma fonte proteica e, no caso de feijões é influenciada por inibidores de enzimas digestivas e antinutricionais, presentes em quantidades variadas entre os genótipos, gerando valores diferentes de digestibilidade entre as espécies de feijão e, dentro de uma mesma espécie (Ntatsi et al., 2018).

Durante o armazenamento, a BRS Expedito não apresentou alteração ( $p \leq 0,05$ ) na dureza. O feijão TB02-19 apresentou maior dureza no início do armazenamento e o feijão TB02-23 apresentou menor dureza que os outros feijões ao longo do armazenamento. A dureza é um parâmetro textuométrico que permite expressar a força necessária para deformar os grãos após o processo de cocção e o aumento no grau de dureza é um sinal de perda de qualidade do feijão, como consequências, acréscimos no tempo de cocção e de mudanças no sabor e cor do tegumento (Sartori, 1996). Entre os fatores relacionados ao endurecimento de feijões durante o armazenamento, destacam-se a complexação de pectina-cation-fitado, compactação das células de parede, interação entre proteínas e amido, ligações de taninos e outros compostos fenólicos com proteínas e lignificação da lamela média (Njoroge et al., 2014).

A BRS Expedito e o TB02-19 apresentaram uma diminuição ( $p \leq 0,05$ ) da luminosidade no oitavo mês de armazenamento. Já o TB02-23 apresentou aumento da luminosidade ao final do armazenamento. No oitavo mês, os três feijões crioulos apresentaram menor luminosidade, indicando um escurecimento dos feijões. O escurecimento dos grãos de feijão é resultado de reações de oxidação dos compostos fenólicos presentes no tegumento dos grãos pela enzima polifenoxidase associado a atividade enzimática da peroxidase, produzindo compostos escuros (Rios et al., 2002). Segundo Re et al. (1999) em feijões pretos, valores de  $L^*$  dentro da faixa de 20 a 22 podem ser considerados adequados.

Os feijões apresentaram valores baixos de  $a^*$ , o TB02-23 apresentou valor de  $a^*$  positivo no fim do armazenamento, o que significa que estes grãos tendem a cor avermelhada. Já a BRS Expedito e o TB02-19 apresentaram

valores de  $a^*$  negativos no oitavo mês de armazenamento, indicando tendência a cor esverdeada. Os feijões apresentaram croma  $b^*$  positivo até o oitavo mês de armazenamento, indicando tendência a cor amarelada e ao final do armazenamento croma  $b^*$  negativo, indicando tendência a cor azulada, o que comprova o escurecimento dos feijões. No início do armazenamento, a BRS Expedito apresentou maior valor de luminosidade e menor valor de  $a^*$ , indicando serem estes os mais claros e o TB02-23 apresentou menor valor de luminosidade e maior valor de  $a^*$ , indicando que foram os mais escuros (Figura 2).



**Figura 2** - Amostras de feijão, A – BRS Expedito, B – TB02-23 e C – TB02-19

Silva et al. (2009) avaliaram o perfil colorimétrico para o feijão comercial BRS Supremo (tegumento preto) e encontraram valores correspondentes a este estudo ( $L = 18,13$ ,  $a^* = 0,32$  e  $b^* = 0,47$ ). As características de cor, tamanho e o brilho do feijão podem determinar o seu consumo, sendo que alguns consumidores preferem grãos menores e opacos, outros desejam grãos maiores e que apresentem brilho. A preferência do consumidor determina a seleção e a obtenção de novos genótipos, exigindo destas não apenas boas características agrônômicas, mas também aspectos de cor que agreguem valor econômico (Siloichi, 2015).

### 3.2. *Compostos bioativos totais*

Na Tabela 2, estão apresentados os compostos bioativos (fenólicos, antocianinas, proantocianidinas e flavonóides) totais e a capacidade antioxidante pelos métodos de ABTS e DPPH dos genótipos crioulos.

**Tabela 2** – Compostos bioativos totais e capacidade antioxidante dos genótipos crioulos

	BRS Expedito	TB02-23	TB02-19
Compostos bioativos totais			
Fenólicos (mg/100g EAG)	305,01±5,51 <sup>a</sup>	274,82±4,38 <sup>b</sup>	278,86±2,38 <sup>b</sup>
Antocianinas (mg/100g EC-3-G)	3,78±0,29 <sup>c</sup>	6,25±0,33 <sup>b</sup>	8,51±0,65 <sup>a</sup>
Flavonóides (mg/100g EC)	76,91±5,15 <sup>a</sup>	51,18±2,12 <sup>b</sup>	15,77±1,71 <sup>c</sup>
Proantocianidinas (mg/100g LE)	7,00±0,60 <sup>c</sup>	11,07±1,39 <sup>b</sup>	14,68±1,30 <sup>a</sup>
Capacidade antioxidante			
ABTS (% de inibição)	22,23±2,23 <sup>a</sup>	21,08±1,26 <sup>a</sup>	22,72±1,16 <sup>a</sup>
DPPH (% de inibição)	47,35±3,64 <sup>a</sup>	46,35±2,34 <sup>a</sup>	46,87±0,29 <sup>a</sup>

Médias aritméticas simples (n=3) ± desvio padrão. Diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05).

O conteúdo de compostos fenólicos totais variou de 274,82 a 305,01 mg/100g EAG, sendo que os feijões TB02-23 e TB02-19 não apresentaram diferença significativa e a BRS Expedito apresentou maior concentração (p≤0,05). Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas, que se relacionam às características sensoriais e à pigmentação das plantas, as quais têm sido estudadas devido a suas propriedades farmacológicas, antinutricionais e antioxidante (Manach et al., 2004). Silva et al. (2009) avaliaram o conteúdo de fenólicos totais para o feijão comercial BRS Supremo (tegumento preto) e encontraram valores 213 mg/100g de EAG. Paredes (2017) encontrou para o feijão de tegumento preto, BRS Esteio, valores de 174 mg/100g de EAG. Ambos estudos apresentaram valores abaixo dos encontrados no presente estudo.

O conteúdo de antocianinas totais variou de 3,78 a 8,51 mg/100g EC-3-G e as amostras apresentaram diferença significativa, sendo que o TB02-19 apresentou maior conteúdo (p≤0,05). As antocianinas presentes, principalmente nos tegumentos de feijão preto, podem ser usadas como suplementos ou corantes naturais em alimentos, podem também apresentar benefícios para a saúde (Mojica et al., 2015).

O conteúdo de flavonoides totais variou de 15,77 a 76,91 mg/100g EC e os feijões apresentaram diferença significativa, sendo que a BRS Expedito

apresentou maior conteúdo ( $p \leq 0,05$ ) de flavonoides totais. O conteúdo de proantocianidinas totais variou de 7,00 a 14,68 mg/100g LE, apresentando diferença significativa entre os feijões. O feijão TB02-19 apresentou maior conteúdo de proantocianidinas, as quais são os principais flavonoides ocorrentes em grãos de feijão e apresentam elevada capacidade antioxidante (Díaz, Caldas, Blair, 2010). Campos-Vega et al. (2010) observaram para feijão preto valores de flavonoides totais de 249 mg EC. 100g e proantocianidinas de 349 mg EC. 100g, valores esses maiores que os encontrados neste estudo.

A variação do conteúdo total de metabólitos nos grãos crus, pode ser devido as diferenças dos genótipos avaliados e ao tamanho dos grãos, essas variações estão geralmente ligadas à coloração do tegumento dos grãos de feijão comum, porém outros fatores como variações nas condições de cultivo, mudanças climáticas, processamento pós-colheita, tempo e condições de armazenamento, podem influenciar (Marathe et al., 2011; Mojica et al., 2015). O consumo de compostos bioativos pode desempenhar efeitos positivos a saúde, como proporcionar efeitos preventivos a algumas doenças, como doenças cardiovasculares e diabetes, auxiliando na redução da glicemia, possuindo atividade anticarcinogênica, capacidade antioxidante e capacidade anti-inflamatória (Oomah et al., 2010; Luna-Vital et al., 2015).

Os feijões não apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para capacidade antioxidante tanto pelo método de ABTS como pelo método de DPPH. A capacidade antioxidante é a capacidade de diminuir a concentração de radicais livres que causam prejuízo às moléculas (Xu, Chang, 2009), sendo que a capacidade antioxidante de um alimento pode apresentar resultados distintos pela diversidade de radicais que existem, por isso deve ser avaliada através de mais de um teste (Soriano Sancho, Pavan, Pastore, 2015). Hayat et al. (2014) estudaram a capacidade antioxidante de feijão comercial preto pelo método de DPPH e verificaram de 10 a 46% de inibição do radical DPPH, valores que corroboram com os encontrados no presente estudo. Ferreira et al. (2017) estudaram a capacidade oxidante de feijão preto pelo método DPPH, obteve como resultado 75,47% de inibição, resultados esses maiores que o encontrado nesse estudo. Silva et al. (2009) estudaram a capacidade antioxidante de feijão preto pelo método de ABTS e encontraram 1,26% de inibição, valor inferior aos encontrados no presente estudo.

### 3.3. Caracterização do amido

Na Tabela 3, estão apresentados os teores de amilose, amido resistente, as propriedades viscoamilográficas, as propriedades térmicas e a cor dos amidos dos feijões crioulos. As propriedades viscoamilográficas avaliadas foram: pico de viscosidade, viscosidade de quebra, viscosidade final, retrogradação (também chamado de *setback*), expressos em RVU (unidade de medida viscoamilográfica fornecida pelo Rapid Visco Analyser) e temperatura de pasta em °C. As propriedades térmicas avaliadas foram: temperatura inicial de gelatinização ( $T_0$ ), temperatura de pico de gelatinização ( $T_p$ ), temperatura final de gelatinização ( $T_c$ ), faixa de temperatura de gelatinização ( $\Delta T$ ) e entalpia de gelatinização ( $\Delta H$ ).

**Tabela 3** - Teor de amilose, amido resistente, propriedades viscoamilográficas, propriedades térmicas e cor do amido dos genótipos crioulos

	BRS Expedito	TB02-23	TB02-19
Teor de amilose (%)	33,27±0,65 <sup>a</sup>	33,28±0,72 <sup>a</sup>	35,18±1,67 <sup>a</sup>
Amido Resistente - cru (%)	7,36±0,79 <sup>b</sup>	12,81±0,78 <sup>a</sup>	7,65±0,23 <sup>b</sup>
Propriedades viscoamilográficas			
Pico de Viscosidade (RVU)	250,83±0,01 <sup>b</sup>	248,92±0,01 <sup>c</sup>	259,17±0,01 <sup>a</sup>
Quebra (RVU)	58,42±0,01 <sup>c</sup>	59,58±0,01 <sup>b</sup>	76,58±0,01 <sup>a</sup>
Viscosidade final (RVU)	423,33±0,01 <sup>a</sup>	413,75±0,01 <sup>b</sup>	346,17±0,01 <sup>c</sup>
Retrogradação (RVU)	230,92±0,01 <sup>a</sup>	224,42±0,01 <sup>b</sup>	163,58±0,01 <sup>c</sup>
Temperatura de pasta (°C)	76,60±0,01 <sup>c</sup>	77,50±0,01 <sup>b</sup>	77,55±0,01 <sup>a</sup>
Propriedades térmicas*			
$T_0$ (°C)	68,47±0,02 <sup>c</sup>	69,68±0,01 <sup>a</sup>	68,56±0,02 <sup>b</sup>
$T_p$ (°C)	73,81±0,02 <sup>b</sup>	74,71±0,02 <sup>a</sup>	68,11±0,02 <sup>c</sup>
$T_c$ (°C)	78,50±0,01 <sup>b</sup>	78,71±0,02 <sup>a</sup>	77,13±0,02 <sup>c</sup>
$\Delta T$ ( $T_c - T_0$ )	10,02±0,01 <sup>a</sup>	8,73±0,02 <sup>b</sup>	8,57±0,02 <sup>c</sup>
$\Delta H$ (J/g)	3,22±0,02 <sup>a</sup>	3,03±0,01 <sup>b</sup>	2,22±0,02 <sup>c</sup>
Cor			
L	88,02±0,80 <sup>b</sup>	87,02±0,79 <sup>c</sup>	91,08±0,30 <sup>a</sup>
a*	0,13±0,02 <sup>a</sup>	-1,27±0,04 <sup>c</sup>	-0,77±0,03 <sup>b</sup>
b*	1,20±0,07 <sup>c</sup>	2,72±0,07 <sup>b</sup>	2,87±0,08 <sup>a</sup>

Médias aritméticas simples (n=3) ± desvio padrão. Diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Os amidos dos feijões crioulos apresentaram teor de amilose entre 33 e 35%, não apresentando diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) e segundo Juliano (1993) são considerados de alto teor de amilose. Bedin (2014) estudou o teor de amilose aparente de amido de feijão preto, e obteve valores de aproximadamente 31,5%, resultado esse, menor que o encontrado nesse estudo. O amido isolado a partir de grãos de feijão pode apresentar valores de amilose entre 27,2 e 39,3%, exercendo papel importante nas propriedades de pasta, dureza inicial do gel de amido, inchamento e retrogradação (Hoover et al., 2010).

O teor de amido resistente variou entre 7,36 e 12,81% e o feijão TB02-23 apresentou maior teor ( $p \leq 0,05$ ). Costa et al. (2006) avaliaram o teor de amido resistente em feijão preto e encontraram valores médios de 3,72%, menores que no presente estudo. Quanto a digestibilidade, o amido, é classificado como amido de rápida digestão (RDS), amido de lenta digestão (SDS) e o amido resistente (RS), que não é hidrolisado e chega intacto ao intestino grosso. O teor de amido resistente (RS) em grânulos de amidos crus é mais alto que em amidos que passam por processo térmico, pois suas regiões amorfas e cristalinas não sofrem nenhuma alteração, com o cozimento o teor de RS diminui, pois, a absorção de água causa inchamento dos grânulos e rearranjo entre as moléculas facilitando o acesso das enzimas à amilose e amilopectina (Yao et al., 2019).

Para as propriedades viscoamilográficas, o pico de viscosidade variou de 248,92 a 259,17 RVU e as amostras apresentaram diferença significativa. Vanier et al. (2019) estudaram as propriedades viscoamilográficas de amidos de feijão preto de diferentes cultivares, encontrando para o pico de viscosidade valores entre 229,33 e 305,58 RVU.

A quebra ou *setback* é a diferença entre o pico de viscosidade e a viscosidade mínima e variou entre 58,42 e 76,56 RVU, apresentando diferença significativa entre os genótipos crioulos. Singh, Inouchi, Nishinari (2006) observaram a maior quebra de viscosidade em amidos que apresentaram menor conteúdo de amilose, o que não ocorreu neste estudo, o amido do feijão TB02-19 apresentou maior quebra (76,56 RVU) e maior teor de amilose (35,18%).

A viscosidade final variou de 346,17 a 423,33 RVU e as amostras apresentaram diferença significativa. A BRS Expedito apresentou maior valor de viscosidade final, indicando a habilidade do amido para formar uma pasta viscosa. Vanier et al. (2019) encontraram para amidos extraídos de feijão de tegumento preto valores entre 337,91 e 368,77 RVU antes do armazenamento, valores que corroboram com os encontrados no presente estudo.

A retrogradação variou de 163,58 a 230,92 RVU. A maior retrogradação foi observada no amido extraído da BRS Expedito. A capacidade de retrogradação é influenciada pela quantidade de amilose lixiviada, pelo tamanho dos grânulos de amido, pela presença de grânulos inchados desfragmentados e rígidos (Lan et al., 2008). Hughes et al. (2009) indicam que maiores valores de quebra de viscosidade e de retrogradação refletem no maior poder de inchamento dos grânulos de amido.

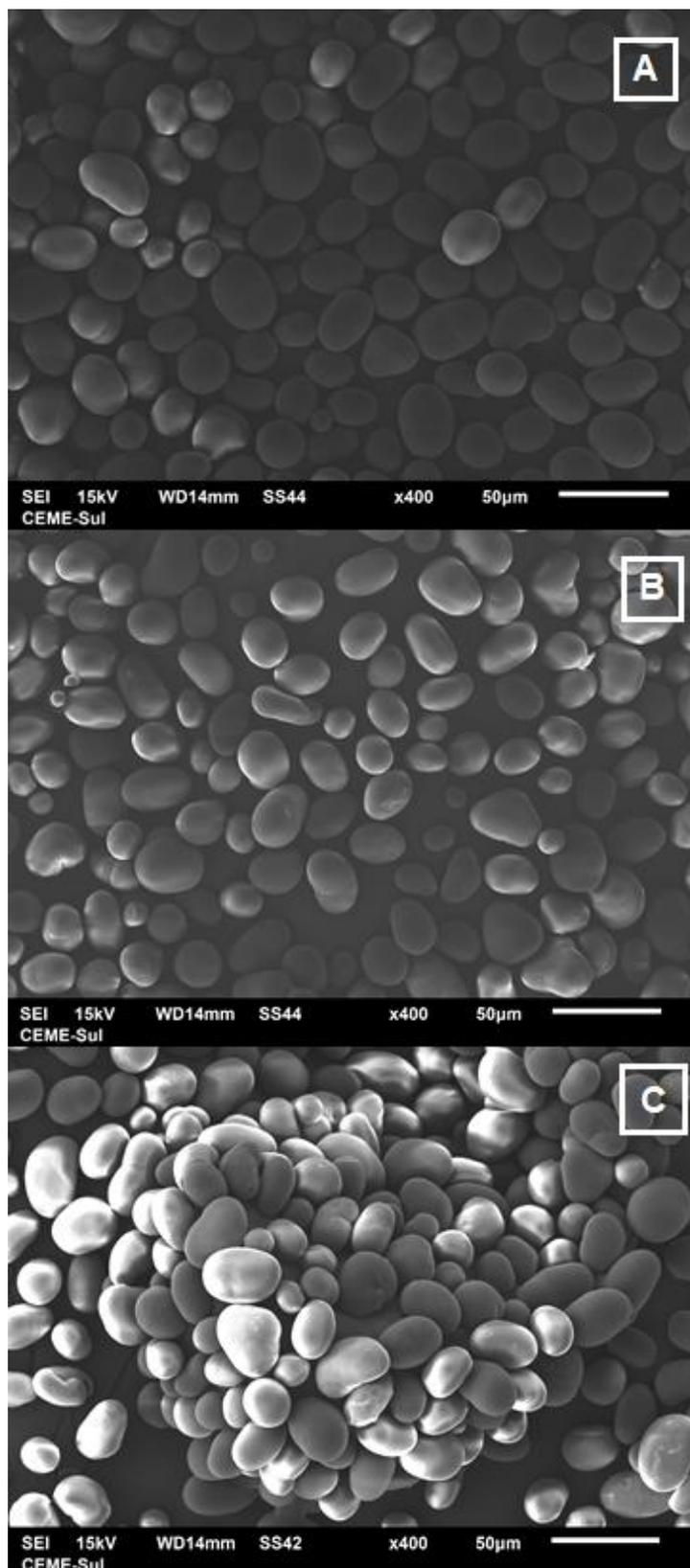
A temperatura de pasta indica o aumento na viscosidade do amido e variou entre 76,63 e 77,55°C. A temperatura de pasta mais elevada indica que mais ligações cruzadas estão atuando no grânulo do amido e este apresenta maior resistência ao inchamento e ruptura, assim sendo necessário maior calor para que essas ligações se rompam e formem a pasta (Singh, Sandhu, Kaur, 2004; Zavareze, Dias, 2011). O destino do amido depende principalmente das suas propriedades viscoamilográficas (ou de pasta), elevados picos de viscosidade estão associados a maior facilidade dos grânulos de amido a intumescerem sem ruptura, esta característica também faz com que ocorra uma rápida quebra de viscosidade. Em leguminosas, como no feijão, são verificados altos níveis de retrogradação, que pode ser relacionado a lixiviação da amilose, o qual é muito elevado em amidos de leguminosas e proporciona ao final da retrogradação um gel firme, e pode ocorrer a formação da sinérese e o aparecimento de água livre (Hoover et al., 2010; Vanier et al., 2019).

Para as propriedades térmicas do amido, a temperatura inicial de gelatinização ( $T_0$ ) variou entre 68,47 e 69,68 °C, a temperatura de pico de gelatinização ( $T_p$ ) variou entre 68,11 e 74,71°C e a temperatura final de gelatinização ( $T_c$ ) variou entre 77,13 e 78,73 °C. A entalpia de gelatinização ( $\Delta H$ ) variou entre 2,23 e 3,22 J/g é considerada como um indicativo da perda da organização molecular ou do rompimento das pontes de hidrogênio no interior do grânulo (Alvani et al., 2011). Vanier et al. (2019) analisaram as

propriedades térmicas do amido, para feijão preto de diferentes cultivares, encontrando para  $T_0$  valores entre 64,42 a 72,10 °C, para  $T_p$  valores entre 69,72 a 76,53 °C, para  $T_c$  valores entre 78,40 a 81,33 °C e para  $\Delta H$  valores entre 2,96 e 5,59 J/g, resultados esses, similares aos encontrados nesse estudo. Segundo Hoover et al. (2010) não há uma faixa de temperatura de gelatinização ( $T_0$ ,  $T_p$  e  $T_c$ ) diferente para cada feijão, mas sim temperaturas que variam em função da cultivar, sendo difícil afirmar se estes parâmetros representam fielmente a espécie ou o grupo, sendo que essas temperaturas são influenciadas pela arquitetura molecular da região cristalina, que corresponde a distribuição das cadeias curtas de amilopectina e não pela proporção da região cristalina, a qual corresponde a proporção de amilose e amilopectina.

A luminosidade dos amidos variou de 87,02 a 91,08 e o TB02-19 apresentou maior valor de L, indicando ser o amido mais branco. Os valores de  $a^*$  variaram de -1,27 a 0,13, sendo que o TB02-23 apresentou menor valor, indicando tendência a cor esverdeada. Os valores de  $b^*$  variaram entre 1,20 e 2,87 e o TB02-19 apresentou maior valor, indicando uma tendência a cor amarelada. Segundo Falade, Ayetigbo (2015) a diferença na coloração entre diferentes tipos de amido deve-se ao fato de apresentarem pequenas quantidades de proteínas, fibras, açúcares, látex, pigmentos, lipídeos, minerais entre outros, que não se desprendem no momento da extração.

Na Figura 3 está apresentada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos amidos dos feijões crioulos.



**Figura 3** - Micrografias dos amidos dos feijões, A - BRS Expedito, B – TB02-23 e C – TB02-19.

Os grânulos de amido apresentaram superfícies lisas, forma de oval a esférica e tamanho heterogêneo. Segundo Hoover et al. (2010) a maioria dos grânulos de amido de leguminosas apresentam formatos ovais, elípticos, esféricos e irregulares, com superfícies lisas e alguns genótipos podem apresentar fendas nos grânulos do amido, sendo que o alto teor de amilose pode refletir na integridade do grânulo, que pode apresentar algumas quebras ou fissuras. Granza et al. (2015) e Ferreira et al. (2018) observaram que os grânulos de amido de feijão preto possuem forma de oval a esférica e tamanho heterogêneo, superfície lisa, sem variação morfológica. As imagens de microscopia deste estudo não revelaram grandes diferenças entre os grânulos dos amidos dos três genótipos.

#### **4. Conclusão**

O armazenamento proporcionou aumento do tempo de cocção e escurecimento até o oitavo mês, e ao final, aumento do coeficiente de hidratação, para os três genótipos estudados. O genótipo TB02-23 apresentou o maior tempo de cocção e a menor dureza entre os genótipos ao longo do armazenamento e para o TB02-23 foi observado uma diminuição do teor de proteína a partir do oitavo mês. A BRS Expedito apresentou menor digestibilidade comparada os outros genótipos no início do armazenamento, porém a partir do quarto mês, os feijões não apresentaram diferença significativa. A BRS Expedito também apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides totais e o TB02-19 de antocianinas e proantocianidinas totais. Os genótipos apresentaram capacidade antioxidante média de 22% pelo método ABTS e 46% pelo método DPPH, não apresentando diferença entre eles.

Os amidos apresentaram alto teor de amilose e o TB02-23 apresentou maior teor de amido resistente. Os grânulos de amido apresentaram superfícies lisas, forma de oval a esférica e tamanho heterogêneo, não revelando grandes diferenças entre os genótipos. Por fim, pode-se concluir que cada genótipo crioulo estudado apresenta características distintas, e o conhecimento das características tecnológicas e nutricionais dos genótipos de feijões crioulos amplia a disponibilidade de sementes de qualidade para cultivo.

## 5. Referencias

AACC – American Association Cereal Chemists. (2001). *Approved methods of the AACC*. 10 ed. Saint Paul, p. 1200.

Abdel-Aal, E. S. M.; Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry*, 76 (3), 350–354.

Alvani, K.; Qi, X.; Tester, R.; Snape, C. E. (2011). Physico-chemical properties of potato starches. *Food Chemistry*, 125, 958-965.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (2002). *Official methods of Analysis of AOAC*. 17 ed. Washington.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official methods of Analysis*. 18 ed. Washington DC US.

Bedin, A. C. (2014). *Caracterização de misturas de amidos de feijão e tuberosas (mandioca e batata-doce) e sua aplicação na obtenção de biofilmes*. 2014, 147 fls. Tese (Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

Berrios, J. J.; Swanson, B. G.; Cheong, W. A. (1999). Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Research International*, 32 (10), 669-676.

Berto, T. S.; Crisostomo, N. M. S.; Ramos, M. G. C.; Silva, C. L.; Costa, E. A.; Junior, J. L. A. M.; Melo, L. D. F. A.; Neto, J. C. A. (2018). Qualidade fisiológica de sementes de feijão crioulo proveniente de diferentes localidades. *Revista de Ciência Agrícola*, 16, 13-17.

Bortolheiro, F. P. A. P.; Silva, M. A. (2021). Low doses of glyphosate can affect the nutrient composition of common beans depending on the sowing season. *Science of the Total Environment*, 794, 148733.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 30, 25–30.

Campos-Vega, R.; Loarca-Piña, G.; Oomah, B. D. (2010). Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43, 461–482.

Carbonell, S. A. M.; Carvalho, C. R. L.; Azevedo Filho, J. A. D.; Sartori, J. A. (2003). Qualidade tecnológica de grãos de genótipos de feijoeiro cultivados em diferentes ambientes. *Bragantia*, 62, 369-379.

Coelho, S. R. M.; Prudencio, S. H.; Nobrega, L. H. P.; Leite, C. F. R. (2009). Alterações no tempo de cozimento e textura dos grãos de feijão comum durante o armazenamento. *Ciências e Agrotecnologia*, 33 (2), 539-544.

Dalla Corte, A. (2003). Environment effect on grain quality in early common bean cultivars and lines. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 4725, 193-202.

Demito, A., Ziegler, V., Goebel, J. T. S., Konopatzki, E. A., Coelho, S. R. M., Elias, M. C. (2019). Effects of refrigeration on biochemical, digestibility, and technological parameters of carioca beans during storage. *J. Food Biochem.*, 43, 1e11.

Díaz, A. M.; Caldas, G. V.; Blair, M. W. (2010). Concentration of condensed tannins and anthocyanins in common bean seed coats. *Food Research International*, 43, 595-601.

Dueñas, M.; Sarmiento, T.; Aguilera, Y.; Benitez, V.; Mollá, E.; Esteban, R. M.; Martín-Cabrejas, M. A. (2016). Impact of cooking and germination on phenolic composition and dietary fibre fractions in dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and lentils (*Lens culinaris* L.). *LWT-Food Science and Technology*, 66, 72-78.

El-Refai, A. A.; Harras, H. M.; El-Nemr, K. M.; Noaman, M. A. (1988). Chemical and technological Studies on faba bean seeds. Effect of storage on some physical and chemical properties. *Food Chemistry*, 29, 27-39.

Falade, K. O.; Ayetigbo, O E. (2015). Effects of annealing, acid hydrolysis and citric acid modifications on physical and functional properties of starches from four yam (*Dioscorea* spp.) cultivars. *Food hydrocolloids*, 43, 529-539.

Ferreira, C. D., Ziegler, V., Cappelari, M. R., Peter, M., Oliveira, M. (2017). Pré-tratamento com radiação UV-C: influências sobre as propriedades tecnológicas e metabólitos em feijão armazenado. *Brazilian Journal of Food Research*, 8 (2), 1-15.

Ferreira, C. D.; Ziegler, V.; Lindemann, S. I.; Hoffmann, J. F.; Vanier, N. L.; De Oliveira, M. (2018). Quality of black beans as a function of long-term storage and moldy development: Chemical and functional properties of flour and isolated protein. *Food chemistry*, 246, 473-480.

Granza, A.; Travalini, A.; Farias, F.; Colman, T.; Schnitzler, E.; Demiate, I. (2015). Effects of acetylation and acetylation-hydroxypropylation (dual-modification) on the properties of starch from Carioca bean (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 119, 769-777.

Hayat, I.; Ahmad, A.; Masud, T.; Ahmed, A.; Bashir, S. (2014). Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54 (5), 580–592.

Hoover, R.; Ratnayake, W. S.; In: Wrolstad, R. E.; Acree, T. E.; An, H., Decker, E. A. (2001). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons Inc.: New York.

Hoover, R.; Hughes, T.; Chung, H. J.; Liu, Q. (2010). Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: A review. *Food research international*, 43 (2), 399-413.

Hsu, H. W.; Vavak, D. L.; Satterlee, L. D.; Miller, G. A. (1977). Multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal Food Science*, 42 (5), 1269- 1273.

Hughes, T.; Hoover, R.; Liu, Q.; Donner, E.; Chibbar, R.; Jaiswal, S. (2009). Composition, morphology, molecular structure, and physicochemical properties of starches from newly released chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars grown in Canada. *Food Research International*, 42 (5-6), 627–635.

Juliano, B. O. (1993). *Rice in human nutrition*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 168p.

Kotue, T. C.; Marlyne Josephine, M.; Wirba, L. Y.; Amalene, S. R. H.; Nkenmeni, D. C.; Kwuimgoin, I.; Djote, W. N. B.; Kansci, G.; Fokou, E.; Fokam, D. P. (2018). Nutritional properties and nutrients chemical analysis of common beans seed. *MOJ Biol. Med.*, 2, 41-47.

Lan, H.; Hoover, R.; Jayakody, L.; Liu, Q.; Donner, E.; Baga, M.; Asare, E.K.; Hucl, P.; Chibbar, R. N. (2008). Impact of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of normal, waxy and high amylose bread wheat starches. *Food Chemistry*, 111 (3), 663-675.

Luna-Vital, D. A.; De Mejía, E. G.; Mendoza, S.; Loarca-Piña, G. (2015). Peptides present in the non-digestible fraction of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) inhibit the angiotensin-I converting enzyme by interacting with its

catalytic cavity independent of their antioxidant capacity. *Food & Function*, 6, 1470-1479.

Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, L. J. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79 (5), 727-747.

Marathe, S. A.; Rajalakshmi, V.; Jamdar, S. N.; Sharma, A. (2011). Comparative study on antioxidant activity of different varieties of commonly consumed legumes in India. *Food Chem. Toxicol.*, 49, 2005-2012.

Mattson, S. (1946). The cookability of yellow peas: a colloidchemical and biochemical study. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 2 (1), 185-231.

McGrane, S. J.; Cornell, H. J.; Rix, J. R. (1998). Simple and rapid colorimetric method for the determination of amylose in starch products. *Starch/Stärke*, 50, 158–163.

Mojica, L.; Meyer, A.; Berhow, M. A.; Mejía, E. G. de. (2015). Bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) have similar high antioxidant capacity, in vitro inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase while diverse phenolic composition and concentration. *Food Research International*, 69, 38–48.

Nasar-Abbas, S. M.; Plummer, J. A.; Siddique, K. H. M.; White, P.; Harris, D.; Dods, K. (2008). Cooking quality of faba bean after storage at high temperature and the role of lignins and other phenolics in bean hardening. *LWT – Food Science and Technology*, 41, 1260 – 1267.

Njoroge, D. M.; Kinyanjui, P. K.; Makokha, A. O.; Christiaens, S.; Shpigelman, A.; Sila, D. N.; Hendrickx, M. E. (2014). Extraction and characterization of pectic polysaccharides from easy and hard-to-cook common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Research International*, 64, 314–322.

Ntatsi, G.; Gutiérrez-Cortines, M. E.; Karapanos, I.; Barros, A.; Weiss, J.; Balliu, A.; Rosa, E. A. dos S.; Savvas, D. (2018). The quality of leguminous vegetables as influenced by preharvest factors. *Scientia Horticulturae*, 232 (17), 191-205.

Oomah, B.D.; Corbé, A.; Balasubramanian, P. (2010). Antioxidant and antiinflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58 (14), 8225- 8230.

Paredes, R. S. V. (2017). *Bioacessibilidade de compostos fenólicos e minerais em feijão comum (Phaseolus vulgaris L.)*. Dissertação apresentada na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências. Piracicaba - SP.

Porter, L. J.; Hrstich, L. N.; Chan, B. G. (1985). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25, 223-230.

Proctor, J. R.; Watts, B. M. (1987). Development of a modified mattson bean cooker procedure based on sensory panel cookability evaluation. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 20 (1), 9-14.

Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Riceevans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABST radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol.*, 26 (9), 1231-1237.

Rios, A. O.; Abreu, C. M. P.; Correa, A. D. (2002). Efeitos da época de colheita e do tempo de armazenamento no escurecimento do tegumento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, 26 (3), 550-558.

Rodrigues, J. A.; Ribeiro, N. D.; Londero, P. M. G.; Cargnelutti Filho, A.; Garcia, D. C. (2005). Correlação entre absorção de água e tempo de cozimento em cultivares de feijão. *Ciência Rural*, 35, 209-214.

Rupollo, G.; Vanier, N. L.; Zavareze, E. R.; De Oliveira, M.; Pereira, J. M.; Paraginski, R. T.; Dias, A. R. G.; Elias, M. C. (2011). Pasting, morphological,

thermal and crystallinity properties of starch isolated from beans stored under different atmospheric conditions. *Carbohydrate Polymers*, 83, 1403-1409.

Santos, A. S., Curado, F. F., Tavares, E. D. (2019). Pesquisa com sementes crioulas e suas interações com as políticas públicas na região Nordeste do Brasil. *Cadernos de Ciência e Tecnologia*, 36, 3, e26514.

Sartori, M. R. (1996). Armazenamento. In: ARAUJO, R. S.; AGUSTÍN, C. R.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. *Cultura do feijoeiro comum no Brasil*. Piracicaba: Potafos.

Sathe, S. K. (2002). Dry bean protein functionality. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22 (2), 175-223.

Silochi, R. M. H. Q.; Coelho, S. R. M.; Bischoff, T. Z.; Cassol, F. D. R.; Prado, N. V.; Bassinello, P. Z. (2016). Nutritional technological characterization and secondary metabolites in stored carioca bean cultivars. *African Journal of Agricultural Research*, 11 (24), 2102-2111.

Silva, A. G.; Rocha, L. C.; Canniati Brazaca, S. G. (2009). Caracterização físico-química, digestibilidade protéica e atividade antioxidante de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). *Alimentos e Nutrição*, 24 (4), 591-598.

Silveira, D. C.; Machado, J. M.; Faccioli, M. W. F.; Tolfo, A. M.; Eich, C. (2019). Diversidade genética de acessos de feijão crioulo na região Noroeste do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, 25 (1/2), 133-146.

Singh, N.; Sandhu, K. S.; Kaur, M. (2004). Characterization of starches separated from Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Journal of Food Engineering*, 63 (4), 441-449.

Singh, N.; Inouchi, N.; Nishinari, K. (2006). Structural, thermal and viscoelastic characteristics of starches separated from normal, sugary and waxy maize. *Food Hydrocolloids*, 20, 923–935.

Siqueira, B. S., Pereira, W. J., Batista, K. A., Oomah, D. B., Fernandes, K. F., Bassinello, P. Z. (2014). Influence of storage on darkening and hardening of slow – and regular – carioca bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *Journal of Agriculture Studies*, 2:2, 2166-0369.

Soriano Sancho, R. A.; Pavan, V.; Pastore, G. M. (2015). Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidante activity of common bean seed coats. *Food Research International*, 76, 74-78.

Vanier, N. L.; Ferreira, C. D.; Lindemann, I. S.; Santos, J. P.; Bassinello, P. Z.; Elias, M. C. (2019). Physicochemical and technological properties of common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in Brazil and their starch characteristics. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 14, 1-10.

Xu, B.; Chang, S. K. C. (2009). Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (11), 4754–4764.

Yao, M.; Tian, Y.; Yang, W.; Huang, M.; Zhou, S.; Liu, X. (2019). The multi-scale structure, thermal and digestion properties of mung bean starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 871–878.

Zavareze, E. R.; Dias, A. R. G. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83, 317–328.

Ziegler, V.; Ferreira, C. D.; Hoffmann, J. F.; Chaves, F. C.; Vanier, N. L.; Oliveira, M.; Elias, M. C. (2018). Cooking quality properties and free and bound phenolics content of brown, black, and red rice grains stored at different temperatures for six months. *Food Chemistry*, 242, 427-434.

Zieliński, H.; Kozowska, H. (2000). Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48 (6), 2008–16.

## **Artigo II. Efeito do cozimento na composição de compostos bioativos em genótipos de feijões crioulos**

### **1. Introdução**

Genótipos crioulos são aqueles que não sofreram melhoramento genético, através de técnicas específicas aplicadas pela indústria e são utilizados principalmente pelos agricultores familiares (Tokatlidis e Vlachostergios, 2016). Os agricultores familiares atrelaram variedades crioulas aos seus modos de vida, alguns são motivados por aspectos produtivos, como produtividade ou relação custo-benefício, ou mesmo por estabilidade da produção. Para outros, aspectos ligados à nutrição, ou mesmo às qualidades organolépticas e adequação às práticas culinárias e regionais são motivos para serem preservadas determinadas variedades. É importante destacar que não sofreram modificações genéticas por meio de técnicas, como de melhoramento genético, mas através do manejo desenvolvido por comunidades tradicionais e agricultores familiares, agricultura orgânica e sustentável, pois não faz uso de agrotóxicos, como fertilizantes artificiais, pesticidas e reguladores de crescimento, utilizando apenas de técnicas mecânicas, como barreiras naturais, capinas, controle biológico para amenizar o ataque de pragas e doenças (Pereira, Dal Soglio, 2020). Uma maior compreensão da composição química de genótipos crioulos de feijão ajudará os agricultores a definir genótipos com maior potencial nutricional e também ajudará a informar os consumidores sobre suas características nutricionais.

O feijão é uma excelente fonte de compostos bioativos naturais é a mais importante para o consumo humano direto, sendo indispensável na dieta alimentar pelo seu aporte nutritivo (Broughton et al., 2003, Ombra et al., 2016). Além de conter elevado teor de proteínas, o grão apresenta riqueza em carboidratos, vitaminas, minerais, fibras e metabólitos secundários, como polifenóis, flavonoides, antocianinas e carotenoides (Suárez-Martínez et al., 2015; Dueñas et al., 2016). Os metabólitos secundários biodisponíveis no grão promovem uma alta capacidade antioxidante; assim, o feijão pode ser considerado um alimento funcional (Rocha-Guzmán et al., 2013).

O feijão contém uma grande diversidade de flavonóides, antocianinas, proantocianidinas e isoflavonas, bem como ácidos fenólicos. Segundo alguns estudos que investigaram o perfil fenólico de genótipos de feijão, as principais classes fenólicas encontradas foram: flavonoides, que englobam as antocianinas (delfinidina, malvidina, petunidina e suas formas glicosiladas), os flavonóis (campferol, epicatequina, quercetina, catequina e suas formas glicosiladas), também os ácidos fenólicos (p-cumárico, gálico, ferúlico, cafeico, sinápico, entre outros) e as proantocianidinas (Mojica et al., 2015; Ombra et al., 2016).

Os compostos fenólicos, conhecidos por reduzirem o risco de desenvolvimento de patologias encontram-se presentes predominantemente no tegumento (revestimento) do feijão, e são importantes fitonutrientes. Os compostos fenólicos podem combater os radicais livres, quelarem metais de transição, interromperem reação de propagação dos radicais livres, modificar o potencial redox do meio e reparar a lesão de moléculas atacadas por radicais livres (Xu, Sam, Chang, 2009; Mojica et al., 2015). As antocianinas podem fornecer benefícios anti-inflamatórios, antidiabéticos, vasotônicos e antioxidantes, uma vez que inibem as citocinas pró-inflamatórias, diminuem sua produção e previnem a disfunção das células. Assim desempenham um papel importante na prevenção de doenças degenerativas, como câncer, doença de Alzheimer ou doenças cardiovasculares (Mejia et al., 2015; Hu et al., 2014) ganhando a distinção de ser benéfico para a saúde, o que tem levado ao aumento de sua produção.

Alguns ácidos graxos insaturados produzem efeitos especiais no organismo vivo e são chamados de ácidos graxos essenciais. Os ácidos graxos essenciais para o organismo humano são os ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico, esses dois ácidos graxos são compostos que dão origem a outros ácidos graxos. Estes, não são sintetizados pelo organismo humano e, deste modo, devem ser adquiridos durante a dieta. A composição em ácidos graxos dos lipídios do feijão comum é bastante variável, com quantidade substancial representam cerca de 65 a 87% do total, sendo os mais frequentes o palmítico, o oleico e o linoleico (Cohn et al., 2010).

Os oligossacarídeos da família rafinose são açúcares de baixo peso molecular e são representados pela rafinose, estaquiose e verbascose. Eles

estão presentes em quantidades relativamente altas (2-15% de peso seco) em sementes de leguminosas, principalmente no feijão, sendo que a estaquiose é o oligossacarídeo mais encontrado, seguido pela rafinose e verbascose, esses oligossacarídeos são denominados antinutricionais pois são causadores de flatulência (Zhao et al., 2017; Ávila et al., 2019).

Não há relato na literatura sobre a composição bioquímica de compostos fenólicos, açúcares e ácidos graxos de genótipos de feijão crioulo e nem sobre o efeito que a cocção pode causar nestes. Com isso, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do cozimento sobre o perfil de ácidos graxos, açúcares e compostos fenólicos em genótipos de feijões crioulos.

## **2. Material e Métodos**

### *2.1. Amostras*

Grãos íntegros de feijão comum de tegumento preto (*Phaseolus vulgaris* L.), do grupo de genótipos crioulos BRS Exedito, TB02-19 e TB02-23, foram obtidos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) - Estação Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil. As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno transparente com espessura de 80 µm e armazenadas em sala de armazenamento até a realização das análises.

### *2.2. Preparo de Amostra*

Para as amostras de feijão sem cozimento, os grãos foram liofilizados (Liotop K108, Liobras SP) por 48 horas e pulverizadas utilizando moinho de bola (MA 350, Marconi SP) para obtenção de uma farinha fina (mesh 100) de feijão sem cozimento. Para as amostras de feijão com cozimento foi utilizada a metodologia descrita por Mattson (1946) para o ajuste do tempo de cozimento para cada amostra. Após o cozimento as cascas, pasta e restante do caldo, de cada amostra, foram maceradas e homogeneizadas utilizando gral e pistilo, em seguida, estes foram liofilizados (Liotop K108, Liobras SP) por 72 horas e pulverizadas utilizando moinho de bola (MA 350, Marconi SP) para obtenção de uma farinha fina (mesh 100) de feijão cozido. As análises foram realizadas em triplicata.

### 2.3. *Extração e identificação de ácidos graxos*

Para a extração da fração lipídica empregou-se o método de Soxhlet, segundo método IUPAC 1.122, com *n*-hexano (faixa de ebulição 68-70 °C). Foi fixada a velocidade/quantidade de 6 a 8 sifonagens por hora à temperatura constante e com fluxo de gotejamento entre 150 e 200 gotas por segundo. Foram pesadas aproximadamente 5 g de cada amostra e as extrações foram realizadas pelo período de 6 horas. Após o término do período de extração e evaporação do solvente restante, foram retiradas alíquotas para análises de ácidos graxos. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para análise de ácidos graxos, estes foram convertidos em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) para torná-los voláteis. Para isso, 100 mg de óleo foi misturado em 2 mL de hexano sob agitação utilizando vórtex por 1 minuto, em seguida foi adicionado 2 mL de hidróxido de potássio metanólico (2M) e novamente agitado em vortex por 1 min. A camada superior foi retirada e mantida a 4 °C para análise.

Para análise cromatográfica foi utilizado cromatógrafo a gás Shimadzu GC-MS QP2010 Ultra equipado com injetor automático AOC-20i e processador LabSolution. Foi utilizada coluna capilar OV-5MS (30,0m x 0,25 mm x 0,25um) (RESTEK, USA) e injetados 1 uL de amostra, em modo splitless, na coluna com temperatura inicial de 78 °C, temperatura do injetor de 240 °C e fluxo de gás hélio de 1 mL/min. O gradiente para análise dos FAMES iniciou com programação isotérmica de temperatura inicial de 78 °C por 6,50 min, em seguida uma rampa de aquecimento de 60 °C/min até a temperatura de 180 °C mantendo-se por 13,44 min e, por fim, uma rampa de aquecimento de 35°C/min até a temperatura de 280 °C mantendo-se por 10,50 min, totalizando 35 min de corrida. Para análise do espectro de massas foi utilizado temperatura da fonte de íon de 260 °C e interface de 270 °C, faixa de massa de 40-450 m/z, 0,2 scans/s e corte de solvente em 1,5 min.

Para a identificação dos ácidos graxos foi utilizada uma mistura FAME MIX C4-C24 (18919-1AMP, 37 Component, Sigma Aldrich, USA) e a quantificação foi expressa em porcentagem relativa.

#### 2.4. *Extração e identificação de açúcares*

Os açúcares foram extraídos de 10 g de cada amostra diluindo-se em 10 mL de álcool etílico 80% (Muzquiz et al.,1992). As amostras foram colocadas em banho-maria a 50 °C por 3 horas, agitando 15 segundos a cada hora. Coletado o sobrenadante, realizou-se novamente o mesmo procedimento ao precipitado acrescentando mais 10 mL de etanol e deixado em banho por mais uma hora. Centrifugou-se a aproximadamente 8000 xg por 15 minutos. Os sobrenadantes foram rotineiramente evaporados a 50 °C e filtrados em papel filtro com gramatura de 90 mm. O líquido filtrado foi colocado em placas de petri com 52 mm de diâmetro e secos em estufa ventilada a 30 °C por 6 horas.

A quantificação foi realizada em cromatógrafo que consistiu no sistema HPLC Shimadzu, provido de injetor automático, coluna com uma bomba quaternária, detector de índice de refração, coluna modelo Luna NH2 100A (250 x 4,6 mm, 5 µm - Phenomenex - USA) e fase móvel contendo acetonitrila-água ultrapura (70:30). Para análise quantitativa foram utilizadas curvas analíticas construídas utilizando triplicatas de cada nível e que obtiveram coeficiente de determinação 0,95. Os limites de detecção e quantificação foram considerados os que produziram 3 e 10 vezes o sinal ruído, respectivamente.

#### 2.5. *Extração e identificação de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas*

Foram pesadas 1 g de amostra em tubos falcon de 50 mL, adicionado 25 mL da solução de metanol:água acidificada com ácido fórmico e homogeneizado por 60 minutos em agitador de tubos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a aproximadamente 4000 xg por 15 minutos. Após foi separado o sobrenadante e repetido o processo a fim de garantir completa extração. Por fim, as amostras foram filtradas em filtro de seringa de nylon de 0,22 µm para posterior injeção.

Após o preparo da amostra, 10 µL da amostra diluída foram injetados em cromatógrafo líquido de alta eficiência (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para a separação cromatográfica foi utilizada pré-coluna C18 (2,0 x 4 mm) e coluna Cogent Bidentate C18 – 2.2 µm 120 A – 100mm x 2,1mm. As fases móveis foram: água

acidificada com 0,1% de ácido fórmico (eluente A) e acetonitrila acidificada com 0,1% de ácido fórmico (eluente B). Para separação foi utilizado gradiente de eluição de: 0–2 min, 10% B; 2–15 min, 10–75% B; 15-18 min, 90% B; 18-21 min 90% B; 21-23 min, 10% B, 23-30 min, 10% B. O fluxo foi de 0,2 mL min<sup>-1</sup> e a temperatura da coluna foi mantida a 40 °C.

O espectrômetro de massas foi operado nos modos ESI negativo (ácidos fenólicos e flavonoides) e positivo (antocianinas) com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de  $m/z$  50 a 1200, com voltagem capilar em 3,5 kV, pressão do gás de nebulização (N<sub>2</sub>) de 2 bar, gás de secagem em 8 L min<sup>-1</sup>, temperatura da fonte de 180 °C, colisão de RF de 150 Vpp; transfer 70 mS e armazenamento pré-pulso de 5 mS. O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10 mM, cobrindo a faixa de aquisição de  $m/z$  50 até 1200. Experimentos automáticos de MS/MS foram realizados ajustando os valores de energia de colisão foram:  $m/z$  100, 15 eV;  $m/z$  500, 35 eV;  $m/z$  1000, 50 eV, usando nitrogênio como gás de colisão. Os dados de MS e MS/MS foram processados por meio do software Data analysis 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

Os ácidos fenólicos e flavonoides foram caracterizados pelo espectro de UV/Vis (210-800 nm) e massa exata, padrões de fragmentação MS<sup>n</sup> em comparação com os dados da biblioteca do equipamento, bases de dados (padrões, Metlin, MassBank, KeggCompound, ChemSpider). A quantificação dos ácidos fenólicos e flavonoides foi realizada através de curva de calibração externa com padrões de cada composto e os resultados foram expressos em µg g<sup>-1</sup>. Os resultados de ácidos fenólicos e flavonoides foram expressos em µg mL<sup>-1</sup>. Para as antocianinas, a quantificação foi em relação à curva de calibração externa de pelargoinidina e os resultados foram expressos em ng mL<sup>-1</sup>.

## 2.6. *Análise estatística*

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA com comparação de médias por meio do teste de Tukey a um nível de significância de 5% comparando todos os genótipos dentro de um mesmo tratamento, ou seja, sem e com cozimento. E os resultados dos feijões sem e com cozimento

para cada genótipo separadamente foram submetidos ao teste t de Student a um nível de significância de 5%.

### **3. Resultados e Discussão**

Os resultados de ácidos graxos nas amostras sem e com cozimento estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4** – Quantificação e identificação de ácidos graxos nas amostras de feijão crioulo sem e com cozimento

Compostos		Amostras					
		BRS Expedito	TB02-23	TB02-19	BRS Expedito	TB02-23	TB02-19
		Sem cozimento			Com cozimento		
hexadecanóico	palmítico	11,00±0,08 <sup>a</sup>	8,83±0,08 <sup>b</sup>	11,04±0,10 <sup>an/s</sup>	10,53±0,07 <sup>B</sup>	7,83±0,16 <sup>C</sup>	11,09±0,07 <sup>An/s</sup>
9,12-octadecadienoico	linoleico	32,69±0,12 <sup>a</sup>	29,06±0,07 <sup>b</sup>	28,26±0,09 <sup>c</sup>	31,88±0,18 <sup>A</sup>	29,51±0,12 <sup>B</sup>	29,53±0,03 <sup>B</sup>
9,12,15-octadecatrienoico	αlinolênico	36,89±0,09 <sup>c</sup>	47,33±0,09 <sup>a</sup>	43,85±0,07 <sup>b</sup>	38,38±0,35 <sup>C</sup>	46,80±0,02 <sup>A</sup>	41,09±0,18 <sup>B</sup>
9-octadecenoico	oleico	11,84±0,38 <sup>an/s</sup>	7,79±0,38 <sup>bn/s</sup>	8,50±0,11 <sup>b</sup>	11,51±0,23 <sup>An/s</sup>	7,93±0,07 <sup>Cn/s</sup>	10,03±0,06 <sup>B</sup>
trans-9-octadecenóico	elaidico	2,31±0,11 <sup>bn/s</sup>	3,27±0,18 <sup>an/s</sup>	3,36±0,05 <sup>an/s</sup>	2,34±0,11 <sup>Bn/s</sup>	3,72±0,28 <sup>An/s</sup>	3,33±0,10 <sup>An/s</sup>
octadecanóico	esteárico	2,78±0,14 <sup>an/s</sup>	2,07±0,05 <sup>b</sup>	2,39±0,18 <sup>bn/s</sup>	2,91±0,14 <sup>An/s</sup>	2,27±0,07 <sup>B</sup>	2,52±0,18 <sup>Bn/s</sup>
docosanoico	behênico	1,14±0,06 <sup>an/s</sup>	0,88±0,05 <sup>b</sup>	1,18±0,06 <sup>a</sup>	1,09±0,08 <sup>Bn/s</sup>	1,03±0,06 <sup>B</sup>	1,37±0,03 <sup>A</sup>
tetracosanóico	ligonocérico	1,35±0,02 <sup>an/s</sup>	0,77±0,05 <sup>b</sup>	1,42±0,02 <sup>a</sup>	1,36±0,04 <sup>An/s</sup>	0,91±0,01 <sup>C</sup>	1,04±0,02 <sup>B</sup>
<b>ΣAGS</b>		16,26±0,17 <sup>a</sup>	12,54±0,09 <sup>b</sup>	16,02±0,28 <sup>an/s</sup>	15,88±0,02 <sup>a</sup>	12,03±0,26 <sup>b</sup>	16,01±0,25 <sup>an/s</sup>
<b>ΣAGMI</b>		14,15±0,29 <sup>an/s</sup>	11,07±0,27 <sup>cn/s</sup>	11,86±0,15 <sup>b</sup>	13,85±0,11 <sup>an/s</sup>	11,65±0,31 <sup>bn/s</sup>	13,36±0,10 <sup>a</sup>
<b>ΣAGPI</b>		69,58±0,05 <sup>c</sup>	76,38±0,15 <sup>an/s</sup>	72,11±0,15 <sup>b</sup>	70,26±0,21 <sup>b</sup>	76,31±0,11 <sup>an/s</sup>	70,62±0,16 <sup>b</sup>

Médias aritméticas simples (n=3) ± desvio padrão. Diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos sem cozimento e com diferentes letras maiúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos com cozimento, pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*n/s (não significativo) pelo teste t-Student (p≤0,05) comparando os tratamentos (sem e com cozimento) em cada genótipo; Σ somatório dos AGS: Ácidos graxos saturados; AGMI: Ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: Ácidos graxos poli-insaturados.

Os ácidos graxos encontrados nos feijões foram, palmítico, linoleico,  $\alpha$ -linolênico, oleico, elaidico, esteárico, behênico e ligonocérico. Os ácidos graxos majoritários nos genótipos foram os  $\alpha$ -linolênico e linoleico e estes são ácidos graxos essenciais para a alimentação humana, sendo importantes pela sua capacidade de se transformar em substâncias biologicamente mais ativas, com funções especiais no equilíbrio homeostático e em componentes estruturais das membranas celulares e do tecido cerebral e nervoso. Esses ácidos graxos também participam da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular, sendo denominados essenciais por não serem sintetizados pelo organismo (Martin et al., 2006). O genótipo TB02-23 apresentou maior concentração do ácido  $\alpha$ -linolênico e a BRS Exedito do linoleico, antes e após o cozimento.

Entre as classes, os ácidos graxos saturados, apresentaram concentração variando de 12,54 a 16,26% para os genótipos sem cozimento e, 12,03 a 16,01% para os genótipos com cozimento. A cocção proporcionou uma diminuição na concentração dos ácidos graxos saturados (AGS) na BRS Exedito e no TB02-23. Os ácidos graxos mono insaturados (AGMI) apresentaram a menor concentração variando de 11,07 a 14,15% e, 11,65 a 13,85% para os genótipos sem e com cozimento, respectivamente. A cocção proporcionou um aumento dos AGMI no genótipo TB02-23. Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) foram aproximadamente seis vezes maiores que os monoinsaturados e saturados e apresentaram a maior concentração em todos os genótipos, variando de 69,58 a 76,38% e, 70,26 a 76,31% sem e com cozimento, respectivamente. Observa-se que para a BRS Exedito houve um aumento no teor dos AGPI após o cozimento, o que não foi observado para o TB02-23 que apresentou uma diminuição do teor de AGPI após o cozimento. O aumento nos teores de ácidos graxos após a cocção pode ser atribuído a um fenômeno de lipólise que ocasionalmente é catalisado pelo processo de alguns alimentos na presença de água e altas temperaturas, nos quais as ligações éster de triglicerídeos e fosfolipídios são hidrolisadas, liberando ácidos graxos (Boye et al., 2010; Corzo-Ríos et al., 2020).

O teor os açúcares dos feijões sem e com cozimento estão apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5** – Quantificação de açúcares nas amostras de feijão crioulo sem e com cozimento

Compostos	Amostras (mg/100g)					
	BRS Expedito	TB02-23	TB02-19	BRS Expedito	TB02-23	TB02-19
	Sem cozimento			Com cozimento		
Raminose	14687,36±1,14 <sup>a</sup>	6275,75±0,77 <sup>c</sup>	9067,13±1,14 <sup>b</sup>	468,38±1,13 <sup>C</sup>	661,61±1,12 <sup>B</sup>	841,32±1,11 <sup>A</sup>
Manitol	6189,53±1,12 <sup>c</sup>	8708,55±1,14 <sup>b</sup>	9256,80±1,11 <sup>a</sup>	3836,03±1,02 <sup>B</sup>	5815,07±1,01 <sup>A</sup>	3417,03±1,02 <sup>C</sup>
Manose	14645,98±2,04 <sup>c</sup>	15013,91±1,04 <sup>b</sup>	15201,14±1,10 <sup>a</sup>	14107,29±1,10 <sup>B</sup>	14316,20±1,13 <sup>A</sup>	13862,76±1,12 <sup>C</sup>
Frutose	334,12±2,10 <sup>c</sup>	481,01±1,01 <sup>b</sup>	513,72±1,12 <sup>a</sup>	304,34±1,13 <sup>B</sup>	402,37±1,11 <sup>A</sup>	199,65±1,08 <sup>C</sup>
Glicose	15,32±1,08 <sup>b</sup>	30,72±1,13 <sup>a</sup>	31,91±1,13 <sup>a</sup>	18,77±1,14 <sup>B</sup>	23,28±1,10 <sup>A</sup>	12,24±1,10 <sup>C</sup>
Sacarose	29,05±0,15 <sup>c</sup>	51,97±1,10 <sup>b</sup>	77,93±1,01 <sup>a</sup>	33,22±1,17 <sup>A</sup>	33,56±1,12 <sup>A</sup>	18,08±0,09 <sup>B</sup>
Rafinose	17,15±0,23 <sup>bn/s</sup>	21,32±1,11 <sup>a</sup>	20,76±1,10 <sup>a</sup>	16,49±1,10 <sup>Bn/s</sup>	27,63±1,15 <sup>A</sup>	11,03±0,13 <sup>C</sup>
Estaquiose	162,49±0,91 <sup>c</sup>	583,03±0,60 <sup>b</sup>	755,69±1,12 <sup>a</sup>	459,72±1,12 <sup>B</sup>	576,86±1,09 <sup>A</sup>	409,01±0,12 <sup>C</sup>

Médias aritméticas simples (n=3) ± desvio padrão. Diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos, sem cozimento e com diferentes letras maiúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos com cozimento, pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*n/s (não significativo) pelo teste t-Student (p≤0,05) comparando os tratamentos (sem e com cozimento) em cada genótipo;

Nos três genótipos, os açúcares que apresentaram maiores teores foram raminose, manitol e manose. Para os genótipos sem cozimento, a TB02-19 apresentou maior teor de manitol, manose, frutose, glicose, sacarose e estaquiose e a BRS Expedito apresentou menores valores para rafinose e estaquiose. Após a cocção, o TB02-23 apresentou maior teor para todos açúcares, exceto para a raminose. A TB02-19 apresentou menores valores para rafinose e estaquiose.

O cozimento não proporcionou diferença significativa para rafinose no genótipo BRS Expedito. Matella et al. (2005) também não observaram redução na rafinose no feijão vermelho cozido. O cozimento proporcionou diminuição do teor de açúcares nos feijões, exceto para glicose, sacarose e estaquiose na BRS Expedito e rafinose no TB02-23, no qual proporcionou um aumento. Este efeito pode ser atribuído a diferenças na solubilidade dos açúcares. Segundo Xu, Chao e Wan (2009) a cocção das leguminosas não só melhora o sabor e a palatabilidade, mas também aumenta a biodisponibilidade de nutrientes e reduz os oligossacarídeos, chamados *Foodmaps*, o que não foi verificado nesse estudo. *Foodmaps* é a flatulência do feijão, resultado da fermentação de oligossacarídeos (estaquiose e rafinose) pela microflora no intestino. Siddiq et al. (2006) estudou o teor de rafinose e estaquiose em feijão preto, sem e com cozimento, para a rafinose os feijões sem cozimento apresentaram teor de 97,3 mg/100g e de estaquiose foi de 2222 mg/100g, resultados maiores que os encontrados neste estudo. Após o cozimento os autores relataram uma diminuição de cerca de 96% para rafinose e 83,4% para estaquiose, o que também não ocorreu no presente estudo. Ávila et al. (2019) avaliaram o conteúdo de rafinose e estaquiose em feijão preto após o cozimento, encontrando valores em torno de 13 mg/100g e 40 mg/100g para rafinose e estaquiose, respectivamente, sendo que os valores de rafinose correspondem aos encontrados nesse estudo.

O conteúdo de ácidos fenólicos e flavonoides dos feijões sem e com cozimento são apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6** – Quantificação e identificação de ácidos fenólicos e flavonoides nas amostras de feijão crioulo sem e com cozimento

Compostos	Amostras ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )					
	BRS Expedito	TB02-23	TB02-19	BRS Expedito	TB02-23	TB02-19
	Sem cozimento			Com cozimento		
<b>Ácidos Fenólicos</b>						
Ácido 4-hidroxibenzoico	14,81±0,59 <sup>bn/s</sup>	12,83±0,34 <sup>b</sup>	19,31±1,02 <sup>an/s</sup>	12,84±1,48 <sup>Bn/s</sup>	15,23±1,29 <sup>AB</sup>	18,51±1,25 <sup>An/s</sup>
Ácido <i>p</i> -cumárico	5,91±0,04 <sup>c</sup>	6,91±0,03 <sup>a</sup>	6,14±0,07 <sup>b</sup>	5,40±0,26 <sup>A</sup>	5,63±0,36 <sup>A</sup>	5,64±0,24 <sup>A</sup>
Ácido gálico	0,04±0,00 <sup>an/s</sup>	0,04±0,00 <sup>an/s</sup>	0,04±0,00 <sup>an/s</sup>	0,04±0,00 <sup>An/s</sup>	0,03±0,01 <sup>An/s</sup>	0,04±0,00 <sup>An/s</sup>
Ácido cafeico	7,51±0,04 <sup>an/s</sup>	7,32±0,14 <sup>an/s</sup>	7,41±0,19 <sup>an/s</sup>	7,29±0,41 <sup>An/s</sup>	7,07±0,44 <sup>An/s</sup>	7,17±0,21 <sup>An/s</sup>
Ácido ferúlico	22,50±0,72 <sup>a</sup>	16,24±0,44 <sup>b</sup>	13,83±0,41 <sup>c</sup>	17,11±1,41 <sup>A</sup>	8,72±0,73 <sup>C</sup>	11,18±0,22 <sup>B</sup>
Ácido seringico	4,77±0,10 <sup>a</sup>	4,25±0,01 <sup>b</sup>	3,91±0,20 <sup>c</sup>	5,11±0,18 <sup>A</sup>	3,64±0,20 <sup>B</sup>	3,31±0,07 <sup>B</sup>
<b>Flavonóides</b>						
Kaempferol	2,87±0,04 <sup>bn/s</sup>	2,92±0,06 <sup>bn/s</sup>	4,42±0,04 <sup>a</sup>	2,73±0,15 <sup>ABn/s</sup>	2,65±0,21 <sup>Bn/s</sup>	3,10±0,08 <sup>A</sup>
(-)-Epicatequina	ND	8,75±0,29 <sup>a</sup>	8,75±0,33 <sup>a</sup>	14,12±0,88 <sup>B</sup>	22,53±1,82 <sup>A</sup>	22,54±0,67 <sup>A</sup>
Catequina	1,28±0,17 <sup>c</sup>	15,70±0,48 <sup>an/s</sup>	13,27±0,23 <sup>bn/s</sup>	6,95±0,51 <sup>B</sup>	14,48±1,59 <sup>An/s</sup>	15,10±1,21 <sup>An/s</sup>
Quercetina	1,43±0,03 <sup>c</sup>	1,78±0,03 <sup>b</sup>	2,97±0,05 <sup>a</sup>	1,19±0,10 <sup>B</sup>	1,28±0,07 <sup>B</sup>	1,52±0,05 <sup>A</sup>
Miricetina	5,54±0,03 <sup>bn/s</sup>	6,33±0,09 <sup>a</sup>	6,46±0,04 <sup>a</sup>	5,27±0,33 <sup>An/s</sup>	5,57±0,35 <sup>A</sup>	5,65±0,18 <sup>A</sup>
Rutina	0,48±0,05 <sup>bn/s</sup>	0,38±0,02 <sup>b</sup>	0,70±0,05 <sup>an/s</sup>	0,39±0,06 <sup>Bn/s</sup>	0,51±0,05 <sup>B</sup>	0,66±0,06 <sup>An/s</sup>

Médias aritméticas simples (n=3) ± desvio padrão. Diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos sem cozimento e com diferentes letras maiúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos com cozimento, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*n/s (não significativo) pelo teste t-Student ( $p \leq 0,05$ ) comparando os tratamentos (sem e com cozimento) em cada genótipo; ND: Não detectado;

Seis ácidos fenólicos foram detectados tanto nos feijões sem cozimento quanto nos cozidos, são eles: ácido 4-hidroxibenzoico, ácido *p*-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido seringico, sendo que o ácido 4-hidroxibenzoico e o ácido ferúlico foram os predominantes para os genótipos. As diferenças nos perfis fenólicos entre as amostras de feijões preto podem ser devidas às diferenças nas distribuições e composições dos componentes fenólicos individuais no tegumento e cotilédone. Ross et al. (2009) analisaram amostras de feijão preto e, também encontraram em seus estudos os ácidos *p*-cumárico, gálico, cafeico e ferulico, corroborando com os encontrados nesse estudo.

O cozimento proporcionou uma diminuição ( $p \leq 0,05$ ) para os ácidos *p*-cumárico, ferúlico e seringico em todos os genótipos. Essas perdas podem ser atribuídas aos fenólicos solúveis em água, que podem ter lixiviado para a água de imersão, antes ou durante o processamento térmico, bem como também pela quebra de fenólicos durante o processamento que pode causar degradação e liberar composições fenólicas ligadas (Xu, Sam, Chang, 2009). Já para os ácidos 4-hidroxibenzoico, gálico e cafeico não foram detectadas diferenças significativas. Segundo Luthria e Pastor-Corrales (2006) os processos de encharcamento e cocção do feijão podem causar mínimo efeito sobre os ácidos fenólicos, os autores estudaram o destino dos ácidos fenólicos de 15 genótipos de feijão preto e relatam que 83% do total dos ácidos fenólicos fora retido no feijão após o cozimento.

Foram detectados seis flavonoides nas amostras de feijão com e sem cozimento, são eles, kaempferol, (-)-epicatequina, catequina, quercetina, miricetina e rutina. Nos genótipos sem cozimento, os principais flavonoides foram miricetina para a BRS Expedito e catequina para o TB02-23 e TB02-19. Após o cozimento, a (-)-epicatequina apresentou maior teor para os três genótipos de feijão.

O cozimento não afetou significativamente os conteúdos de kaempferol, miricetina e rutina para a BRS Expedito, de kaempferol e catequina para o TB02-23, e de catequina e rutina para TB02-19. O conteúdo de (-)-epicatequina aumentou significativamente com o processo de cocção nos genótipos. O processo de cocção também proporcionou um aumento de catequina na BRS Expedito e de rutina no TB02-23. As mudanças do conteúdo de ácidos

fenólicos e flavonoides em feijão preto durante a cocção resultam principalmente de três conjuntos de reações: a degradação oxidativa dos ácidos fenólicos, incluindo escurecimento enzimático; a liberação de ácidos livres das formas conjugadas; e a formação de estruturas complexas de substâncias fenólicas de compostos relacionados, como proteínas, taninos e antocianinas (Fleuriet e Macheix, 2003).

O conteúdo de antocianinas dos feijões sem e com cozimento são apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7** – Quantificação de antocianinas nas amostras de feijão crioulo sem e com cozimento

Compostos	Amostras ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )					
	BRS Expedito	TB02-23	TB02-19	BRS Expedito	TB02-23	TB02-19
	Sem cozimento			Com cozimento		
Malvidina-3-glicosideo	45,10 $\pm$ 0,82 <sup>a</sup>	38,79 $\pm$ 0,62 <sup>b</sup>	40,22 $\pm$ 0,68 <sup>b</sup>	36,60 $\pm$ 2,09 <sup>A</sup>	34,70 $\pm$ 2,40 <sup>A</sup>	35,99 $\pm$ 1,17 <sup>A</sup>
Delfinidina-3-glicosideo	51,45 $\pm$ 0,74 <sup>b</sup>	49,64 $\pm$ 0,96 <sup>b</sup>	69,89 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>	ND	34,97 $\pm$ 2,46 <sup>A</sup>	ND
Petunidina-3-glicosideo	47,06 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>	41,48 $\pm$ 0,49 <sup>c</sup>	44,78 $\pm$ 0,57 <sup>b</sup>	35,93 $\pm$ 2,04 <sup>A</sup>	34,45 $\pm$ 2,37 <sup>A</sup>	ND
Cianidina-3-glicosideo	37,54 $\pm$ 0,19 <sup>bn/s</sup>	36,45 $\pm$ 0,44 <sup>bn/s</sup>	42,27 $\pm$ 0,90 <sup>a</sup>	36,14 $\pm$ 2,07 <sup>An/s</sup>	34,59 $\pm$ 2,36 <sup>An/s</sup>	37,85 $\pm$ 1,29 <sup>A</sup>
Malvidina-3,5-diglicosideo	39,45 $\pm$ 2,63 <sup>a</sup>	36,77 $\pm$ 0,42 <sup>a</sup>	36,84 $\pm$ 0,61 <sup>a</sup>	ND	ND	ND

Médias aritméticas simples (n=3)  $\pm$  desvio padrão. Diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos sem cozimento e com diferentes letras maiúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos com cozimento, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*n/s (não significativo) pelo teste t-Student ( $p \leq 0,05$ ) comparando os tratamentos (sem e com cozimento) em cada genótipo; ND: Não detectado;

Cinco antocianinas, as quais malvidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo e malvidina-3,5-diglucosídeo foram detectadas nos feijões sem cozimento. Nas três genótipos, delphinidina-3-glicosídeo e petunidina-3-glicosídeo foram as principais antocianinas detectadas. Para os feijões cozidos, foram detectadas quatro antocianinas, malvidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo e cianidina-3-glicosídeo, as quais não apresentaram diferença significativa entre as amostras.

O cozimento não proporcionou diferença significativa para cianidina-3-glicosídeo na BRS Expedito e na TB02-23. Não foi detectado conteúdo de malvidina-3,5-diglucosídeo nos três genótipos de feijão após o cozimento, de delphinidina-3-glicosídeo para a BRS Expedito e para TB02-19 e de petunidina-3-glicosídeo para a TB02-19. Para as demais antocianinas o cozimento reduziu o conteúdo, indicando a degradação das antocianinas após o processamento térmico.

Xu, Sam, Chang (2009) detectou cinco antocianinas em feijão preto cru, delphinidina-3-glicosídeo, malvidina-3,5-diglucosídeo, petunidina-3-glicosídeo, malvidina-3-galactosídeo e malvidina-3-glicosídeo, em maiores concentrações que no presente estudo. Sendo que após o cozimento todas as antocianinas diminuíram os conteúdos e a malvidina-3-galactosídeo não foi detectada, resultados que corroboram com os encontrados nesse estudo. Wu e Prior (2005) afirmam que delphinidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo e malvidina-3-glicosídeo são as principais antocianinas no feijão comum preto.

Prietto et al. (2017) identificou sete estruturas de antocianinas em feijão preto, sendo a estrutura predominante delphinidina-3-glicosídeo (174.91 µg/g), seguida por petunidina-3-glicosídeo (127.61 µg/g) e malvidina-3-glicosídeo (107.40 µg/g), porém em nosso estudo foram encontrados menores teores. Segundo Choung et al. (2003) a delphinidina-3-glicosídeo é a principal antocianina presente no feijão, o que está de acordo com o encontrado nesse estudo. As antocianinas são de grande importância pois apresentam capacidade antioxidante, atuando contra radicais livres e retardando doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas.

#### **4. Conclusão**

Este estudo encontrou variabilidade na composição bioquímica dos compostos fenólicos, açúcares e ácidos graxos dos três genótipos de feijões

crioulos. Os principais ácidos graxos encontrados foram  $\alpha$ -linolênico e linoleico, considerados ácidos graxos essenciais. Já os principais açúcares foram raminose, manitol e manose. Sobre os ácidos fenólicos, o ácido 4-hidroxibenzoico e o ácido ferúlico foram os principais ácidos encontrados. Nos genótipos cozidos o principal flavonoide encontrado foi a (-)-epicatequina. As principais antocianinas detectadas foram delfinidina-3-glicosideo e petunidina-3-glicosideo nos feijões sem cozimento, após a cocção não foram detectadas diferenças entre os genótipos. O processo de cocção altera significativamente o conteúdo da maioria desses compostos.

O processo térmico proporcionou uma diminuição das antocianinas e também para a maioria dos açúcares, porém para raminose no feijão TB02-23 e estaquiase para a BRS Expedito proporcionou um aumento, fato negativo, pois esses são os oligossacarídeos causadores de flatulências (*Foodmaps*). O conteúdo de (-)-epicatequina com o processo de cocção aumentou em todas as amostras, fator relevante pois esse flavonoide possui fortes propriedades antioxidantes.

A identificação e quantificação de compostos fenólicos, açúcares e ácidos graxos em genótipos de feijões crioulos é importante para que os agricultores possam definir genótipos com maior potencial, proporcionando o desenvolvimento de novos produtos com base nos feijões crioulos, que podem agregar valor e incentivar a produção.

## 5. Referencias

Ávila, B. P., Bragança, G. C. M., Pereira, A., Gularte, M. A., Elias, M. C. (2019). Effect of preparation and freezing methods on the concentration of resistant starch, antinutritional factors and FOODMAPS in beans. *Current Nutrition & Food Science*, 15, 265-273.

Boye, J., Zare, F., Pletch, A. (2010). Pulse proteins: processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Res. Int.* 43, 414–431.

Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.) – Model food legumes. *Plant and Soil*, 252, 55–128.

Choung, M. G., Choi, B. R., An, Y. N., Chu, Y. H., Cho, Y. S. (2003). Anthocyanin profile of Korean cultivated kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7040-7043.

Cohn, J. S., Kamili, A., Wat, E., Rosanna, W. S. C., Sally, T. (2010). Reduction in intestinal cholesterol absorption by various food components: mechanism and implications. *Atherosclerosis Supplements*, 11:1, 45-48.

Corzo-Ríos, L. J., Sánchez-Chino, X. M., Cardador-Marínez, A., Martínez-Herrera, J., Jiménez-Martínez, C. (2020). Effect of cooking on nutritional and non-nutritional compounds in two species of *Phaseolus* (*P. vulgaris* and *P. coccineus*) cultivated in Mexico. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 20.

Dueñas, M., Sarmiento, T., Aguilera, Y., Benitez, V., Mollá, E., Esteban, R. M., Martín Cabrejas, M. A. (2016). Impact of cooking and germination on phenolic composition and dietary fibre fractions in dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and lentils (*Lens culinaris* L.). *LWT-Food Science and Technology*, 66, 72-78.

Fleuriet, A., Macheix, J. J. (2003). *Phenolic acids in fruits and vegetables*. In *Flavonoids in Health and Disease*; Rice-Evans, C., Packer, L., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1-42.

Hu, N., Zheng, J., Li, W., Suo, Y. (2014). Isolation, stability, and antioxidant activity of anthocyanins from *Lycium ruthenicum murray* and *Nitraria tangutorum* Bobr of Qinghai-Tibetan plateau. *Separation Science and Technology*, 49, 2897–2906.

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). (1979). *Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives*, 6<sup>th</sup> ed., Pergamon Press: Oxford.

Luthria, D. L., Pastor-Corrales, M. A. (2006). Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 205–211.

Martin, C. A., Almeida, V. V., Ruiz, M. R., Visentainer, J. E. L., Matshushita, M., Souza, N. E., Visentainer, J. V. (2006). Omega-3 and ômega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. *Nutrition Magazine*, 19:6.

Matella, N. J., Dolan, K. D., Stoeckle, A. W., Bennink, M. R., Lee, Y. S., Uebersax, M. A. (2005). Use of hydration, germination, and  $\alpha$ -galactosidase to reduce oligosaccharides in dry beans. *Journal of Food Science*, 70, 203–7.

Mejia, E. G. de, Dia, V. P., West, L., West, M., Singh, V., Wang, Z., Allen, C. (2015). Temperature dependency of shelf and thermal stabilities of anthocyanins from corn distillers' dried grains with solubles in different ethanol extracts and a commercially available beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 10032–10041.

Mojica, L., Meyer, A., Berhow, M. A., Mejia, E. G. de. (2015). Bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) have similar high antioxidant capacity, in vitro inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase while diverse phenolic composition and concentration. *Food Research International*, 69, 38–48.

Muzquiz, M., Rey, C., Cuadrado, C., Fenwick, G. R. (1992). Effect of germination on the oligosaccharide content of lupin species. *Journal of Chromatography*, 607(2), 349-352.

Ombra, M. N., D'Acierno, A., Nazzaro, F., Riccardi, R., Spigno, P., Zaccardelli, M., Pane, C., Maione, M., Fratianni, F. (2016). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-12.

Pereira, V. C., Dal Soglio, F. K. (2020). *A conservação da agrobiodiversidade: mais além da Biologia da Conservação*. In: Pereira, V. C., Soglio, F. K. (org.). *A Conservação das sementes crioulas: uma visão interdisciplinar da agrobiodiversidade*. Porto Alegre: UFRGS, 51-79.

Prietto, L., Mirapalhete, T. C., Pinto, V. Z., Hoffmann, J. F., Vanier, N. L., Lim, L-T., Dias, A. R. G., Zavareze, E. R. (2017). pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. *LWT – Food Science and Technology*, 80, 492-500.

Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Cardoza, C. V., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., García-Gasca, T. de-Anda-Salazar, A. (2013). Evaluation of culinary quality and antioxidant capacity for Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) canned in pilot plant. *International Food Research Journal*, 20, 1087-1093.

Ross, K. A., Beta, T., Arntfield, S. D. (2009). A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chemistry*, 113, 336-344.

Siddiq, M., Nyombaire, G., Dolan, K. D., Matella, N. J., Harte, J. B. (2006). Processing of Sugar-Coated Red Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris*): Fate of Oligosaccharides and Phytohemagglutinin (PHA), and Evaluation of Sensory Quality. *Journal of Food Science*, 71:9, C521-C526.

Suárez-Martínez, S. E., Ferriz-Martínez, R. A., Campos-Veja, E., Elton-Punete, J. E., de la Torre-Carbot, K., García-Gasca, T. (2015). Bean seeds: leading nutraceutical source for human health. *CyTA - Journal of Food*, 14:1, 131-137.

Tokatlidis, I., Vlachostergios, D. (2016). Sustainable Stewardship of the Landrace Diversity. *Diversity*, 8:4, 29-38.

Wu, X. L., Prior, R. L. (2005). Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry in common foods in the United States: Vegetables, nuts, and grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 3101–3113.

Xu, B., Sam, K., Chang, C. (2009). Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:11, 4754–4764.

Xu, Q., Chao, Y. L., Wan, Q. B. (2009). Health benefit application of functional oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 77, 435-441.

Zhao, Y., Wang, Y., Jiang, Z., Li, R. (2017). Screening and evaluation of active compounds in polyphenol mixtures by HPLC coupled with chemical methodology and its application. *Food Chemistry*, 227, 187-193.

### **Artigo III. Avaliação da concentração total e bioacessível de minerais em feijão crioulo**

Pereira, A. M.; Bonemann, D. H.; Scherdien, S. H.; Ávila, B. P.; Antunes, I. P.; Ribeiro, A. S.; Gularte, M. A. (2020). Evaluation of total and bioaccessible concentration of minerals in creole beans. *Journal of Food Composition and Analysis*, 94, 103622.

#### **1. Introdução**

As leguminosas são o principal tipo de alimento na dieta dos países em desenvolvimento e desempenham um papel significativo na nutrição humana. Dentre essas leguminosas, o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), é o mais consumido pela população e constitui uma mistura complexa de nutrientes. O feijão comum apresenta compostos bioativos, sendo rico em vitaminas (tiamina, riboflavina, vitamina K, vitamina B6) e minerais (ferro, zinco, manganês, cobre, magnésio, cálcio, fósforo e potássio).

O corpo humano necessita de uma quantidade apropriada de minerais para seu bom funcionamento, visto que estes são fundamentais em inúmeras reações enzimáticas, além de exercer funções na síntese de nutrientes e em processos fisiológicos (Carvalho et al., 2012; Ribeiro et al., 2012; Galán et al., 2013). Os minerais não podem ser sintetizados pelo próprio organismo, portanto, devem ser ingeridos através dos alimentos. O feijão apresenta efeitos benéficos a saúde, pois atua na prevenção e/ou redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis como as cardiovasculares, obesidade, diabetes *mellitus* e câncer (Mesquita et al., 2007; Afonso, 2010; Hayat et al., 2014; Nyau, 2014).

Porém, o feijão, como qualquer outro vegetal, é cultivado no solo, por isso merece atenção na determinação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos, uma vez que esses elementos se acumulam no solo, provenientes principalmente da fumaça, chuva, resíduos urbanos e industriais e do uso de fertilizantes. Portanto, algumas plantas absorvem muitos elementos que podem ser incorporados aos grãos, trazendo riscos à saúde humana (Pereira et al., 2018). Em relação a esses elementos, alguns deles são considerados essenciais para a vida humana, incluindo oxigênio (O), carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N), cálcio (Ca), fósforo (P), enxofre (S), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg), ferro (Fe), cobre

(Cu), cobalto (Co), manganês (Mn), molibdênio (Mo), iodo (I), zinco (Zn), entre outros. Existem também alguns elementos considerados potencialmente tóxicos, como bário (Ba), cádmio (Cd), cromo (Cr), chumbo (Pb) e lítio (Li). Sua toxicidade dependerá da exposição contínua do organismo a altas concentrações desses elementos (Lasat, 2002; Marsola et al., 2005; Turkmen et al., 2009).

Durante o preparo, o debulho e o cozimento são etapas comuns no processamento doméstico do feijão. Acredita-se que alguns minerais lixiviam para água de imersão ou de cozimento, no entanto, ainda não está claro se isso é inferível a todos os minerais ou até que ponto isso acontece. Além disso, a influência das etapas de armazenamento ou descascamento no grau de lixiviação ainda é uma questão em aberto (Oghbaei & Prakash, 2016).

A concentração total de elementos presentes nos alimentos não fornece informações sobre a fração que pode estar bioacessível para o corpo humano, ou seja, o que está sendo liberado da matriz alimentar para o trato gastrointestinal (Jacob et al., 2012; Minekus et al., 2014; Pereira et al., 2018; Souza et al., 2019). No que diz respeito a ingestão alimentar, podemos destacar dois processos distintos: a biodisponibilidade, que é a quantidade em que uma substância ativa é absorvida no intestino delgado, e a bioacessibilidade, que é a quantidade de um componente do alimento que está presente no intestino humano, após sua liberação a partir da matriz do alimento e torna-se disponível para ser absorvida pelo intestino (Holst & Williamson, 2008; Shim et al., 2009; Tagliazucchi et al., 2010). A fração bioacessível é influenciada pelas formas químicas dos elementos, pelo comportamento das espécies, complexos organometálicos no trato gastrointestinal e pelas interações com a matriz alimentar (Khouzam et al., 2011).

Portanto, avaliar a concentração total e bioacessível é muito importante, pois não há evidências de que o conteúdo total de um elemento em um determinado alimento seja uma boa indicação do seu real valor nutricional; ou até que ponto a quantidade de elementos potencialmente tóxicos presentes em qualquer tipo de alimento, pode realmente ser liberada no organismo humano (Paredes, 2017). Não há evidências na literatura sobre a concentração de minerais em feijão crioulo, sobre a bioacessibilidade desses minerais e sobre as mudanças que o cozimento dos feijões causará (ou não) na concentração e bioacessibilidade de minerais. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar as concentrações total e bioacessível de minerais em feijão cru e cozidos. Para tanto, otimizamos a metodologia analítica, que

envolveu diversas etapas desde o preparo das amostras, estudo de exatidão, tratamento de dados e análise instrumental, que no caso foi utilizado o espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Amostras

Grãos íntegros de feijão comum de tegumento preto (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo de genótipos crioulos BRS Expedito, TB02-19 e TB02-23, foram obtidos da Embrapa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) – Estação Clima Temperado. Uma amostra comercial de feijão de tegumento preto comum também foi usada para otimizar o método, uma vez que não havia mais amostras de feijão crioulo disponíveis. As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno transparente com espessura de 80  $\mu\text{m}$  e armazenadas a  $16 \pm 1$  °C, por um período máximo de 365 dias, até a realização das análises. Para cada genótipo de feijão crioulo (BRS Expedito, TB02-19 e TB02-23), as análises foram realizadas em triplicata, ou seja, um genótipo foi preparada três vezes para posterior quantificação das triplicatas, obtendo-se assim uma média dos resultados.

### 2.2. Reagentes

Os reagentes utilizados para este estudo foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas utilizando água deionizada, a qual foi obtida a partir de um sistema de destilação de vidro, modelo MA078/5 (Marconi, Brasil) e, posteriormente, deionizada passando por uma coluna, modelo CS1800 Evolution (Permuton, Brasil). A solução multi-elementar dos analitos foi preparada a partir da solução estoque nº 6 para ICP (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Alemanha) contendo 100 mg L<sup>-1</sup> de cada analito. O HNO<sub>3</sub> (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) utilizado na etapa de preparo de amostra e o HCl (Qhemis, Jundiaí, Brasil) foram destilados duas vezes, abaixo do ponto de ebulição, em destiladores de quartzo, modelo MA-075 (Marconi, Piracicaba, Brasil). Para esta etapa, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (v/v) também foi utilizada (Synth, Diadema, Brasil).

Na geração química de vapor, foram utilizadas soluções de NaBH<sub>4</sub> 0,5% (m/v) estabilizadas em NaOH 0,5% (m/v) e HCl 2,0% (m/v) (Qhemis, Jundiaí, Brasil). Para os estudos de bioacessibilidade foram utilizados os seguintes reagentes:  $\alpha$ -*Amylase*

a partir de *Aspergillus oryzae*, Pepsina, Bile e Pancreatina (Sigma, St. Louis, EUA);  $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$  (Vetec, Rio de Janeiro Brasil), NaOH (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), KCl (Merck, Darmstadt, Alemanha), NaCl (Merck, Kenilworth, EUA),  $\text{NaHCO}_3$  (Synth, Diadema, Brasil),  $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$  (Sigma, St. Louis, EUA),  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  (Synth, Diadema, Brasil), HCl (Qhemis, Jundiaí, Brasil),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA).

Todos os materiais e vidrarias utilizados foram lavados com água e detergente e, a seguir, imersos por 48 horas em  $\text{HNO}_3$  10% (v/v) (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil). Posteriormente, foram enxaguados com água deionizada e secos à temperatura ambiente.

### 2.3. Instrumentação

Para determinação elementar, um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) modelo Agilent 4200 (Agilent Technologies, Melbourne, Austrália) equipado com um nebulizador OneNeb e uma câmara de nebulização *Multimode Sample Introduction System* (MSIS, "multimode") foi utilizado. O nitrogênio utilizado para geração do plasma é extraído do ar atmosférico utilizando um gerador de nitrogênio modelo 4107 (Agilent Technologies, Melbourne, Austrália). As medições foram realizadas com velocidade da bomba de 15 rpm, tempo de aspiração de amostras de 15 segundos, tempo de estabilização de 15 segundos e tempo de leitura de 3 segundos.

Para a decomposição ácida e estudos de bioacessibilidade, as amostras de feijão cru foram moídas em moinho de laboratório modelo Lab Mill 3100 (Perten, São Paulo, Brasil) e depois homogeneizadas em um misturador vórtice (Kasvi, São Caetano, Brasil). Para o feijão cozido, o tempo de cozimento de cada amostra foi realizado previamente utilizando a metodologia descrita por Mattson (1946), comumente utilizada para feijão. Todos os recipientes e utensílios utilizados no cozimento do feijão foram previamente descontaminados por 48 h em  $\text{HNO}_3$  a 10% (v/v). Água deionizada foi utilizada para cocção e todos os procedimentos foram realizados evitando qualquer contaminação e interferência nas amostras. Em seguida, as amostras foram cozidas durante o tempo pré-estabelecido com água deionizada. Amostras de feijão cozido (casca de feijão, pasta de feijão e restante do caldo de cozimento) foram maceradas e homogeneizadas com pistões de porcelana. Para a decomposição ácida, foi utilizado um bloco digestor modelo MA-4025 (Marconi, Piracicaba, Brasil). Um sistema de refluxo foi acoplado a cada tubo

digestor, conforme descrito por Oreste et al. (2013), com recirculação de água a 15 °C, mantido sob refrigeração por uma unidade modelo Q MA083 (Marconi, Piracicaba, Brasil).

Para a determinar a fração bioacessível, um medidor de pH modelo pHs-3B (PHtec, Santa Bárbara d'Oeste, Brasil), um banho Dubnoff com agitação e aquecimento a 37 °C modelo Q226M2 (Quimis, Diadema, Brasil) e uma centrífuga de velocidade máxima modelo 5804 (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) foram utilizadas para a preparação da amostra.

#### 2.4. *Otimização do método de preparação da amostra*

Para possibilitar a determinação da concentração total, foi realizado um estudo para o preparo da amostra. Os testes de decomposição variaram em função da quantidade de amostra de feijão, tempo e temperatura do bloco digestor, além da variação da concentração de HNO<sub>3</sub>. Portanto, massas de 250 a 1000 mg; períodos que variam de 2 a 4 horas; temperaturas de 150 e 200 °C; concentração de HNO<sub>3</sub> de 65, 50, 40 e 30% v/v foram utilizadas. Após definir as melhores condições, as massas de amostras foram pesadas, em triplicata, diretamente em tubos de decomposição e adicionados 5 mL de HNO<sub>3</sub>, em concentrações variadas. O sistema de refluxo foi acoplado ao tubo e as amostras foram colocadas em bloco digestor sob aquecimento, variando as temperaturas e o tempo de decomposição de acordo com a concentração de HNO<sub>3</sub>. Ao final de cada tempo, as soluções foram retiradas do bloco e resfriadas para posterior adição de 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, retornando novamente ao bloco por mais 1 h. Em seguida, as soluções de amostras obtidas foram resfriadas e transferidas para frascos de polipropileno (PP) e avolumadas a 50 mL com água deionizada.

Para cada condição alterada no estudo de decomposição, foi realizada a determinação do teor de sólidos dissolvidos e do teor de acidez resultante da solução final (IAL – Instituto Adolfo Lutz, 2008). Essas determinações são importantes, pois o fabricante do MIP OES recomenda que as soluções introduzidas no equipamento tenham no máximo 3% de sólidos dissolvidos e 5% de acidez, a fim de preservar as partes óticas do equipamento (Agilent Technologies, 2016; Sampaio et al., 2020). Com isso, buscou-se otimizar uma metodologia de preparação de amostras de feijão que fosse adequada para a análise por esta técnica, evitando diluições sucessivas após o preparo, o que poderiam comprometer os limites de

detecção do método e impedir a determinação de microconstituintes. A condição que apresentou o menor percentual de acidez e sólidos solúveis, foi a condição escolhida para a decomposição das amostras de feijão e conseqüentemente para a determinação multi-elementar por MIP OES foi a massa da amostra de 1000 mg, com um período de 4 h de digestão a uma temperatura de 200 °C e utilização de ácido nítrico diluído (40% v/v) para a decomposição. Para os grãos cozidos, o teor de umidade foi analisado a fim de pesar a massa da amostra correspondente a uma massa de 1000 mg de grãos crus.

A precisão do método foi avaliada primeiro através da decomposição de duas folhas de tomate CRMs (CRM-Agro FT\_012016) e uma fórmula infantil (NIST Infant Formula 1846), separadamente, e usando as mesmas condições otimizadas para a amostra de feijão. Posteriormente, foi realizada uma nova decomposição ácida, misturando os MRCs com a amostra de feijão. Para isso, foram pesados juntamente com os grãos (500 mg de cada) para posterior decomposição ácida. O cálculo da porcentagem de recuperação é apresentado na Eq. 1:

$$\% \text{ Rec} = \text{DV/RV} \times 100 \text{ (Eq. 1)}$$

Onde:

DV = valor detectado para mistura de CRM mais amostra de feijão

RV = valor de referência para mistura de CRM mais amostra de feijão. Obtido através dos resultados do CRM nas condições do método e correlacionados com a massa pesada (500 mg).

### 2.5. Fração Bioacessível

Para os estudos de bioacessibilidade, foi utilizado o processo de digestão *in vitro*, adaptado de Minekus et al. (2014). O método simula o processo digestivo humano que ocorre na boca, estômago e intestino, usando fluidos simulados de digestão (saliva, suco gástrico e intestinal). Aproximadamente 5 g de cada amostra de feijão cru e cozido foram colocados em frascos de PP e pesados. Na primeira etapa, 10 mL de saliva sintética e 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 7,5 mmol L<sup>-1</sup> foram adicionados diretamente as amostras, o pH da solução foi ajustado para 7 com a adição de NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> e, posteriormente encaminhadas ao banho Dubnoff (Ethik Technology, Vargem Grande, Brasil) com aquecimento a 37 °C e agitação por 10

minutos. Na segunda etapa, foram adicionados 9,1 mL de suco gástrico sintético, 700 µL de  $\text{CaCl}_2$  2 mmol L<sup>-1</sup> e HCl 1 mol L<sup>-1</sup>, para ajustar o pH da solução para 3, e novamente encaminhadas ao banho Dubnoff (Ethik Technology, Vargem Grande, Brasil) com aquecimento a 37 °C e agitação por 2 horas. Na terceira etapa, adicionou-se 18,5 mL de suco intestinal, 1,35 mL de  $\text{CaCl}_2$  9 mmol L<sup>-1</sup> e NaOH 1 mol L<sup>-1</sup>, para ajustar o pH a 7, e encaminhou-se as soluções novamente ao banho à 37 °C com agitação por mais 2 horas.

Em seguida, as soluções foram colocadas em banho de gelo por 20 minutos para inativar as enzimas e, posteriormente, centrifugadas por 10 minutos a 11,200 g para separação da fração bioacessível (sobrenadante), a qual foi utilizada para determinação dos analitos por MIP OES. Já a parte sólida, foi submetida a uma nova decomposição ácida, conforme já descrita, a fim de avaliar a exatidão da bioacessibilidade através de um balanço de massas, sendo já relatada na literatura por Souza et al. (2019). As quantidades de minerais bioacessíveis foram determinadas usando o teste de bioacessibilidade *in vitro*. A bioacessibilidade foi calculada usando a Equação 2:

$$\% B = [TB]/[T] \times 100 \text{ (Eq. 2)}$$

Onde:

[TB]: concentração do elemento obtida pelo teste de bioacessibilidade *in Vitro*;

[T]: concentração total do elemento no alimento, obtida pela digestão total.

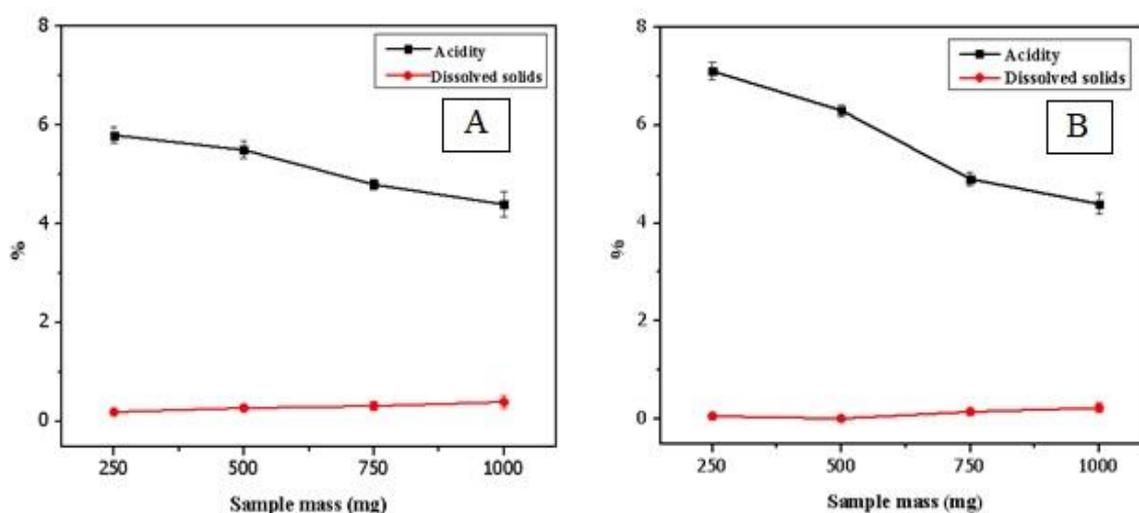
## 2.6. Estatística

Os resultados da concentração total de minerais foram submetidos a análise de variância ANOVA com comparação de médias através do teste Tukey a um nível de significância de 5% comparando todas os genótipos dentro do mesmo tratamento (cru e cozido). E os resultados da concentração total de minerais cru e cozido para cada genótipo separadamente foram submetidos a análise de variância ANOVA através do teste t – *Student* a 5% de significância.

## 3. Resultados e discussão

### 3.1. Variação da massa da amostra

Para avaliar a influência da massa da amostra utilizada na decomposição em relação à acidez e aos sólidos dissolvidos, massas entre 250 e 1000 mg foram pesadas e submetidas à decomposição ácida nas temperaturas de 150 e 200 ° C por 3 horas. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 4 (A e B), respectivamente.



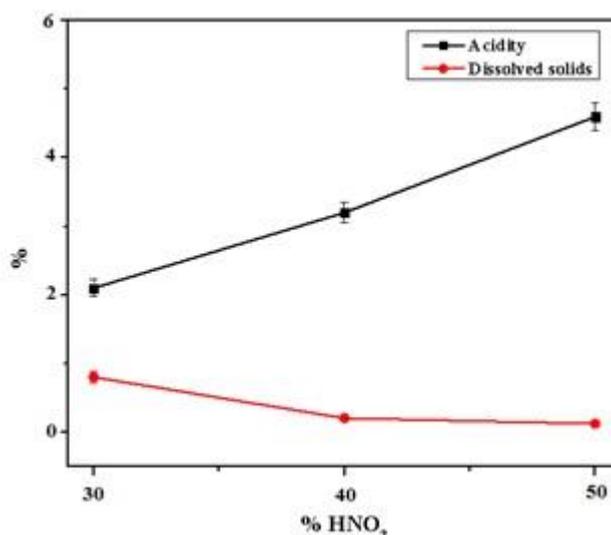
**Figura 4** - Efeito da variação da massa dos grãos durante a decomposição ácida em condições fixas: 5,0 mL de HNO<sub>3</sub> (65% v/v); 3 horas a 150 °C (A) e 200 °C (B); volume final de 50 mL.

De acordo com os gráficos, foi possível observar que massas maiores provocam diminuição no teor de acidez, não ultrapassando 5,0% (v/v). O teor de sólidos dissolvidos não aumentou significativamente, permanecendo abaixo de 3% (p/v) mesmo em massas maiores. O mesmo foi observado no trabalho de Sampaio et al. (2020), que usou uma variação de massa e a correlacionou com a acidez e o teor de carbono para amostras de açúcar. Assim, a massa de amostra escolhida foi de 1000 mg, uma vez que massas maiores favorecem a obtenção de melhores limites de detecção para o método proposto.

### 3.2. Efeito da concentração de HNO<sub>3</sub> e tempo de decomposição

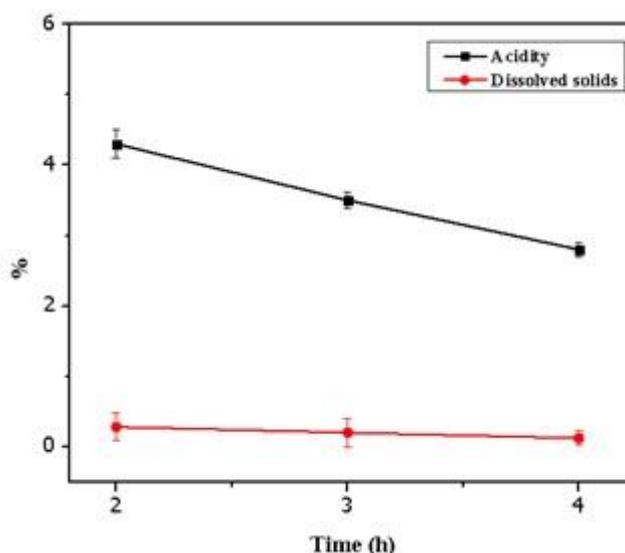
Um dos principais fatores para a escolha das melhores condições de decomposição é a acidez, por isso foram testados diferentes concentrações de

HNO<sub>3</sub> (50, 40 e 30%) para a decomposição de uma amostra de 1000 mg. Os resultados obtidos para acidez e sólidos totais dissolvidos são mostrados na Figura 5.



**Figura 5** - Efeito da variação da concentração de HNO<sub>3</sub> 30, 40 e 50% (v/v) para a decomposição. Parâmetros fixos: 1000 mg de amostra; 3 horas a 200 °C; volume final de 50 mL.

Foi possível observar que com HNO<sub>3</sub> a 30%, o teor de acidez foi baixo, mas não houve decomposição completa, resultando em partículas sólidas e em maior teor de sólidos dissolvidos. Em 40%, houve diminuição dos sólidos dissolvidos na solução final e a acidez foi de aproximadamente 3% (v/v). Quando a concentração de HNO<sub>3</sub> foi elevada para 50%, observou-se aumento na acidez, mas houve diminuição no teor de sólidos dissolvidos. Assim, a condição escolhida para a decomposição e que permaneceu com uma solução mais límpida e com menor teor de acidez foi a concentração de HNO<sub>3</sub> em 40% (v/v). Embora as decomposições estivessem sendo realizadas com um período fixo de 3 horas, para avaliar se um tempo de decomposição maior ou menor teria diferença, os períodos de 2, 3 e 4 horas também foram testados em relação ao teor de sólidos dissolvidos e acidez. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 6.



**Figura 6** - Efeito da variação do tempo de decomposição. Parâmetros fixos: 1000 mg de amostra; 5 mL de HNO<sub>3</sub> 40% (v/v); temperatura a 200 °C; volume final de 50 mL.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 6, observou-se que o período de tempo influencia na decomposição das amostras e principalmente no teor de acidez. Assim, o tempo de decomposição foi fixado em 4 horas. O mesmo resultado também foi observado no trabalho de Sampaio et al. (2020): concluíram que 4 horas também eram suficientes para decompor as amostras de açúcar no bloco digestor, obtendo um menor teor de acidez.

Após todos os parâmetros apresentados, constatamos que as melhores condições de decomposição foram para uma massa de 1000 mg; 5 ml de HNO<sub>3</sub> a 40% (v/v); e 200 °C durante 4 horas. Seguido pela adição de 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por uma hora extra. Ao final, a solução foi avolumada com água deionizada até o volume de 50 mL.

### 3.3. Figuras de mérito

Para verificar a veracidade e precisão dos resultados obtidos pela decomposição ácida, foram realizados testes de adição de analito em três diferentes concentrações nas amostras de feijão, obtendo recuperações variando de 81 a 113%, e os desvios padrão relativos (RSDs) foram menores que 10%. As concentrações adicionadas estavam na faixa linear das curvas analíticas obtidas por MIP OES (Tabela 8).

**Tabela 8** - Concentrações medidas de analitos por MIP OES após diferentes adições em feijão. Valores em mg kg<sup>-1</sup> (n = 3)

Analito	Adic.	Feijão	Rec. (%)	Analito	Adic.	Feijão	Rec. (%)
Ba	0	5.6 ± 0.1	-	Li	0	< LD <sub>(m)</sub>	-
	10	15.2 ± 0.5	96		10	9.1 ± 0.2	90
	20	23.9 ± 1.1	91		20	18.1 ± 0.8	90
	30	33.7 ± 1.9	94		30	25.6 ± 0.9	85
Cd	0	< LD <sub>(m)</sub>	-	Mg	0	2030 ± 42	-
	10	8.1 ± 0.2	81		1510	3260 ± 33	81
	20	16.5 ± 0.9	82		3020	4710 ± 420	89
	30	26.1 ± 1.1	87		4530	5990 ± 150	87
Co	0	0.6 ± 0.1	-	Mn	0	18.4 ± 1.5	-
	10	9.4 ± 0.3	81		10	28.2 ± 0.5	98
	20	18.1 ± 3.6	82		20	34.7 ± 0.6	82
	30	26.9 ± 2.4	87		30	46.3 ± 1.4	93
Cr	0	1.0 ± 0.1	-	Mo	0	0.6 ± 0.1	-
	10	9.3 ± 0.4	82		10	9.8 ± 0.3	92
	20	19.4 ± 1.5	92		20	17.3 ± 0.5	83
	30	34.4 ± 2.8	111		30	32.5 ± 2.5	106
Cu	0	9.1 ± 0.5	-	Pb	0	0.9 ± 0.1	-
	10	20.4 ± 0.5	113		10	9.2 ± 0.2	83
	20	25.6 ± 1.8	82		20	20.1 ± 0.4	96
	30	33.9 ± 2.2	83		30	30.9 ± 0.5	100
Fe	0	77.5 ± 1.7	-	Zn	0	18.8 ± 0.3	-
	50	127 ± 3	99		50	71.4 ± 1.7	105
	75	152 ± 3	99		75	87.1 ± 3.2	91
	100	190 ± 4	112		100	102 ± 6	83
K	0	1370 ± 32	-				
	8750	10700 ± 230	107				
	17500	16700 ± 170	87				
	26250	25800 ± 500	93				

Além disso, a precisão do método proposto também foi avaliada pela decomposição dos CRMs de folhas de tomate (CRM-Agro FT\_012016) e da fórmula infantil CRM (NIST Infant Formula 1846). Os resultados para esses dois materiais são apresentados na Tabela 9. É possível observar que foram obtidas boas recuperações entre 84 e 119%. Posteriormente, também foi avaliada a digestão de uma mistura desses dois CRM com a amostra de feijão, conforme descrito no item 2.4. Para o cálculo da porcentagem de recuperação foram considerados os valores detectados (VD) do CRM mais os grãos e o valor de referência (VR) para cada elemento nesta mistura. Assim, foram obtidas recuperações médias entre 81 e 113% para todos os elementos, conforme mostra a Tabela 10.

**Tabela 9** - Resultados analíticos das concentrações de Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Pb e Zn em materiais de referência certificados. Valores em mg kg<sup>-1</sup> (n = 3)

<b>Tomate CRM-Agro FT_012016</b>			
<b>Analito</b>	<b>VC</b>	<b>VE</b>	<b>Rec. (%)</b>
<b>Cd</b>	26.6 ± 2.1	25.2 ± 0.2	95
<b>Cu</b>	1130 ± 140	1220 ± 86	108
<b>Fe</b>	1120 ± 190	1140 ± 81	102
<b>K</b>	43300 ± 3800	50800 ± 500	117
<b>Mg</b>	4110 ± 360	4160 ± 300	101
<b>Mn</b>	470 ± 69	486 ± 37	103
<b>Pb</b>	3.7 ± 0.6	3.9 ± 0.1	108
<b>Zn</b>	37.5 ± 5.0	31.8 ± 0.9	85
<b>NIST Formula Infantil 1846</b>			
<b>Cu</b>	5.1 ± 0.3	5.3 ± 0.3	106
<b>Fe</b>	63.1 ± 4.0	71.3 ± 0.5	113
<b>K</b>	7160 ± 380	8530 ± 190	119
<b>Mg</b>	538 ± 29	450 ± 27	84
<b>Zn</b>	60.0 ± 3.2	55.8 ± 1.3	93

VC = valor certificado; VE = valor encontrado; valores expressos em médias ± desvio padrão; Rec = recuperação (%).

**Tabela 10** - Resultados analíticos das concentrações de Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Pb e Zn em materiais de referência certificados no meio de amostra de feijão. Valores em mg kg<sup>-1</sup> (n = 3)

<b>CRM Tomate + Feijão</b>					
<b>Analito</b>	<b>Feijão</b>	<b>CRM</b>	<b>VR (CRM + Feijão)</b>	<b>VD (CRM + Feijão)</b>	<b>Rec. (%)</b>
<b>Cd</b>	< LOD	25.2 ± 0.2	13.7 ± 0.3	12.6 ± 0.1	92
<b>Cu</b>	9.1 ± 0.5	1220 ± 86	591.1 ± 6.6	616 ± 43	104
<b>Fe</b>	77.5 ± 1.7	1140 ± 81	538.4 ± 16.2	610 ± 41	113
<b>K</b>	1370 ± 32	50800 ± 500	31100 ± 370	26100 ± 270	84
<b>Mg</b>	2030 ± 42	4160 ± 300	2780 ± 35	3100 ± 170	112
<b>Mn</b>	18.4 ± 1.5	486 ± 37	245.1 ± 1.6	252 ± 19	103
<b>Pb</b>	0.9 ± 0.1	3.9 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.4 ± 0.1	98
<b>Zn</b>	18.8 ± 0.3	31.8 ± 0.9	31.1 ± 0.3	25.3 ± 0.6	81
<b>CRM Formula Infantil + Feijão</b>					
<b>Cu</b>	9.1 ± 0.5	5.3 ± 0.3	8.1 ± 0.2	7.2 ± 0.4	89
<b>Fe</b>	77.5 ± 1.7	71.3 ± 0.5	90.6 ± 0.2	74.4 ± 1.1	82
<b>K</b>	1370 ± 32	8530 ± 190	5360 ± 290	4950 ± 110	92
<b>Mg</b>	2030 ± 42	450 ± 27	1260 ± 9	1240 ± 35	98
<b>Zn</b>	18.8 ± 0.3	55.8 ± 1.3	40.8 ± 1.3	37.3 ± 0.8	91

VR = valor de referência; VD = valor detectado; valores expressos em médias ± desvio padrão; Rec = recuperação (%).

#### 3.4. Concentração total do analito

Os elementos estudados foram Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Pb e Zn; e a quantidade total dos elementos estudados foi obtida para feijão cru e cozido. Na Tabela 11 estão apresentados os resultados das concentrações totais de minerais para os feijões crus e cozidos.

**Tabela 11** - Resultados da concentração total para feijões crus e cozidos obtidos por MIP OES

Analito (mg kg <sup>-1</sup> )	BRS Expedito		TB02-23		TB02-19	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Ba	9.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	7.0 ± 0.1 <sup>A</sup>	4.9 ± 0.3 <sup>c</sup>	3.5 ± 0.3 <sup>C</sup>	7.6 ± 0.1 <sup>b</sup>	4.3 ± 0.4 <sup>B</sup>
Cd	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	< LD <sub>(m)</sub>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	< LD <sub>(m)</sub>
Co	< LD <sub>(m)</sub> <sup>b</sup>	2.5 ± 0.2 <sup>B</sup>	< LD <sub>(m)</sub>	2.2 ± 0.1 <sup>B</sup>	< LD <sub>(m)</sub>	4.3 ± 0.2 <sup>A</sup>
Cr	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>
Cu	18.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	4.5 ± 0.1 <sup>A</sup>	14.2 ± 0.5 <sup>c</sup>	2.9 ± 0.3 <sup>B</sup>	17.3 ± 0.7 <sup>b</sup>	3.1 ± 0.3 <sup>B</sup>
Fe	39.3 ± 3.3 <sup>a</sup>	37.1 ± 1.4 <sup>An/s</sup>	34.4 ± 0.8 <sup>b</sup>	16.9 ± 0.8 <sup>C</sup>	34.9 ± 0.5 <sup>b</sup>	20.1 ± 1.0 <sup>B</sup>
K	13300 ± 180 <sup>a</sup>	10300 ± 71 <sup>A</sup>	12600 ± 320 <sup>a</sup>	4590 ± 260 <sup>C</sup>	12600 ± 1100 <sup>a</sup>	5060 ± 140 <sup>B</sup>
Li	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>
Mg	1980 ± 18 <sup>a</sup>	1040 ± 77 <sup>A</sup>	1630 ± 51 <sup>b</sup>	670 ± 26 <sup>C</sup>	1620 ± 53 <sup>b</sup>	835 ± 26 <sup>B</sup>
Mn	15.6 ± 0.6 <sup>a</sup>	6.6 ± 0.2 <sup>A</sup>	11.8 ± 0.7 <sup>b</sup>	4.3 ± 0.2 <sup>C</sup>	14.8 ± 0.7 <sup>a</sup>	4.9 ± 0.3 <sup>B</sup>
Mo	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>	< LD <sub>(m)</sub>
Pb	1.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.1 <sup>A</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.1 <sup>Bn/s</sup>	1.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.2 <sup>B</sup>
Zn	21.3 ± 0.6 <sup>b</sup>	9.1 ± 0.2 <sup>B</sup>	15.1 ± 0.5 <sup>c</sup>	10.9 ± 0.2 <sup>B</sup>	23.5 ± 1.0 <sup>a</sup>	12.1 ± 0.8 <sup>A</sup>

Médias aritméticas simples (n = 3) ± desvio padrão com diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos crus e com diferentes letras maiúsculas na linha diferem entre si, comparando os genótipos cozidos, pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*n/s (não significativo) pelo teste t-Student (p≤0,05) comparando os tratamentos (cru e cozido) em cada genótipo; <LD (m): Valores abaixo do limite de detecção do método.

No feijão cru, para os elementos Co, Cr, Li e Mo, as concentrações ficaram abaixo dos limites de detecção do método LD(m). O elemento mais abundante no feijão cru é o K, que variou de 12.600 a 13.300 mg/kg e não apresentou diferença entre as amostras. O feijão comum com alta concentração de K é uma alternativa adequada para pessoas que praticam atividade física intensa e, portanto, requerem maiores concentrações de potássio (Lindinger, 1995). O segundo elemento mais abundante no feijão cru é o Mg, que variou entre 1.620 e 1.980 mg/kg, sendo que a BRS Expedito apresentou maior concentração e diferença significativa dos demais.

Para o elemento Ba, os feijões apresentaram concentração entre 4,92 e 9,78 mg/kg, com diferença significativa. Para o Cd, os feijões TB02-23 e TB02-19 não apresentaram diferença significativa, sendo que para o BRS Expedito a concentração foi inferior ao LD(m). Para Pb, no conteúdo dos feijões, não foi observada diferença entre as amostras e tanto para o Cd e Pb o teor está acima do limite máximo de contaminantes estabelecido pela RDC nº 42 de 2013 (Anvisa, 2013), - MERCOSUL Regulamento Técnico de Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, que estabelece que o limite máximo de concentração elementar para hortaliças leguminosas é de 0,1 mg/kg. Altas concentrações desses elementos são desfavoráveis devido à sua toxicidade. Os feijões apresentaram concentrações para elementos potencialmente tóxicos, como Cd e Pb, necessitando de estudos de bioacessibilidade para verificar se essas concentrações podem ser liberadas no corpo para absorção posterior, podendo ou não representar risco ao organismo humano (Ferreira et al., 2015; Gong, 2016). A presença de metais potencialmente tóxicos depende das características do solo, como o teor de matéria orgânica, a poluição ambiental e a adição de produtos químicos como fertilizantes, fungicidas, inseticidas e herbicidas nas lavouras (Pereira et al., 2018).

O teor de Cu dos feijões variou entre 14,2 e 18,8 mg/kg, apresentando diferença significativa, sendo que o BRS Expedito apresentou maior concentração. O teor de Fe dos feijões variou entre 34,4 e 39,3 mg/kg e o BRS Expedito apresentou diferença significativa dos demais feijões. A concentração de Zn variou entre 15,1 e 23,5 mg/kg, apresentando diferença significativa e o feijão TB02-19 apresentou maior concentração. Para o elemento Mn, a variação foi de 11,8 a 15,6 mg/kg e o feijão TB02-23 apresentou diferença significativa, apresentando a menor concentração. Os resultados de Fe e Zn obtidos neste estudo foram inferiores aos relatados por Ramírez-Ojeda et al. (2018) que analisou o conteúdo de minerais e

elementos traços em vegetais, incluindo feijão, e encontraram 42-49 µg/g para Fe e 21-37 µg/g para Zn em grãos crus, enquanto os resultados para Mn neste estudo são iguais aos relatados por esses autores, variando entre 11-15 µg/g para o feijão cru. Os resultados de Fe e Zn para grãos crus foram inferiores aos relatados por Viadel et al. (2006a), Viadel et al. (2006b) e Viadel et al. (2009) em seus estudos com feijão cru, que foram de 66,3 µg/g para o ferro e 34,5 µg/g para o zinco nos estudos citados.

Evidencia-se que apenas para o elemento Fe, na BRS Expedito, e Pb, no TB02-23, o cozimento do feijão não proporcionou diferença significativa quando comparado com as amostras cruas. Naozuka & Oliveira (2015) estudaram a especiação química do ferro em genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), estudaram os efeitos do cozimento e também compararam as concentrações totais de Fe em grãos crus e cozidos; e concluíram que o cozimento não afetou a concentração total de Fe em todos os genótipos de feijão, o que também aconteceu com a BRS Expedito.

O processo de cozimento causou perda na maioria dos elementos, exceto nos elementos Co e Pb. A perda de elementos durante o cozimento deve-se à sua remoção pela água. Durante o processo de cozimento, as moléculas de água entram no interior da matriz do grão, dissolvendo uma parte dos elementos ali presentes e transportando-a para fora do grão por lixiviação. Assim, espera-se que o conteúdo dos elementos seja menor nos grãos cozidos do que nos grãos crus (Tognon, 2012).

Paredes (2017) avaliou as concentrações de minerais em feijão (*Phaseolus vulgaris* L) antes e após o cozimento e relatou que os elementos Zn, Cu, Mn, Ca, Mg e P aumentam suas concentrações durante o cozimento, resultados também encontrados no presente estudo para alguns elementos. Meyer et al. (2013) estudaram feijão cru e cozido e evidenciaram que o resultado dos feijões cozidos indicou aumento significativo em Mn, Ca e Mg, bem como diminuição em Fe e K dependendo do feijão avaliada.

Os elementos químicos que originalmente (no feijão cru) estavam associados a proteínas, fibras e aos grânulos de amido, ficam mais livres dessas interações e, portanto, são mais suscetíveis ao ataque ácido durante a decomposição, tendo maior probabilidade de serem liberados pela matriz da amostra, aumentando a concentração de minerais no feijão cozido. Quando o feijão é cozido em água, grande parte de suas proteínas se desnaturam, as fibras naturais perdem suas

características e ocorre o processo de gelatinização do amido. O amido é um carboidrato composto por longas cadeias nas quais as moléculas de glicose estão ligadas entre si para formar grânulos. O amido não é solúvel em água fria, porém quando é exposto a um ambiente de água aquecida (como ocorre durante a cocção), a água começa a penetrar nos grânulos de amido e estes, por sua vez, tornam-se túrgidos. À medida que o cozimento prossegue, mais água penetra no interior dos grânulos e, dessa forma, o amido perde sua estrutura original, gerando uma dispersão viscosa com consistência de gel, liberando os elementos (Tognon, 2012). O cozimento provavelmente também favorece a liberação de minerais de alguns complexos presentes no feijão, como o complexo de ácido fitico-mineral, que substituiu as perdas minerais devido a difusão na água (Barampama & Simard, 1995). Oliveira et al. (2017) estudaram a distribuição de proteínas e metaloproteínas em genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e para o feijão comum, estudos mostraram que, em grãos crus, o Fe estava associado à albumina, globulinas e glutelina e, após o processo de cozimento, o Fe estava nas frações de albumina e globulina. Os autores também comentam que o aquecimento pode resultar na desnaturação das proteínas, de forma que as interações entre as proteínas e os elementos essenciais podem ser estabelecidas ou perdidas.

Nos feijões cozidos, os elementos Cd, Cr, Li e Mo apresentaram concentrações menores que o LD(m). Os elementos mais abundantes no feijão cozido permaneceram K e Mg. Para ambos os elementos, os feijões apresentaram diferença significativa e a BRS Expedito apresentou maior concentração. O elemento Ba apresentou concentrações entre 3,5 e 7,0 mg/kg, com todos os feijões apresentando diferenças significativas e a BRS Expedito continuou apresentando maior concentração. O elemento Pb, também como ocorreu nos feijões crus, ficou acima do Limite Máximo de Contaminantes (ANVISA, 2013). O cozimento proporcionou diminuição dos elementos Ba e Cd, fator positivo, por se tratar de elementos tóxicos. O elemento Co apresentou concentrações entre 2,2 e 4,3 mg/kg, com o feijão TB02-19 apresentando diferença significativa e maior concentração. Para o elemento Cu, a BRS Expedito apresentou uma concentração maior, de 4,5 mg/kg, e uma diferença significativa dos demais. Os feijões apresentaram baixa concentração de Mn e diferença significativa. Para o elemento Fe, os feijões apresentaram diferença significativa e a concentração ficou entre 16,9 e 37,1 mg/kg, sendo a maior concentração na BRS Expedito. A concentração de Zn variou entre

9,1 e 12,1 mg/kg e o feijão TB02-19 apresentou maior concentração e diferença significativa. Os resultados de Zn para feijão cozido encontrados neste estudo foram inferiores aos encontrados por Ramírez-Cárdenas et al. (2010), estudaram a biodisponibilidade do zinco em diferentes grãos afetados pelo tipo de cultivar e condições de cozimento. A ingestão inadequada de Fe e Zn pode causar vários problemas de saúde. A deficiência de Fe pode levar à morbidade e mortalidade em crianças, bem como ao atraso no seu desenvolvimento cognitivo e psicomotor, e a deficiência de Zn causa atraso no crescimento e maturação dos neurônios, distúrbios reprodutivos, letargia mental, alterações na pele e percepções gustativas (Yang et al., 2007; Tuerk, Fazel, 2009).

### 3.5. Bioacessibilidade dos elementos por digestão gastrointestinal *in vitro*

A concentração bioacessível dos elementos Ba, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn foi determinada em todos os grãos, crus e cozidos, e são apresentados nas Tabelas 12 e 13. O Li, Cr, Co, Cd e Mo apresentaram concentrações totais abaixo ao LD(m) para todos os feijões, portanto não foi possível realizar nenhuma determinação nesta etapa.

**Tabela 12** - Concentrações bioacessíveis para feijões crus

Analito (mg kg <sup>-1</sup> )	BRS Expedito		TB02-23		TB02-19	
	CB	%FB	CB	%FB	CB	%FB
<b>Ba</b>	3.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	32.0	1.3 ± 0.1 <sup>c</sup>	26.2	1.6 ± 0.1 <sup>b</sup>	21.2
<b>Cu</b>	9.9 ± 0.8 <sup>a</sup>	52.6	7.6 ± 0.1 <sup>b</sup>	53.3	10.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	59.2
<b>Fe</b>	11.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	29.3	< LD <sub>(m)</sub>	-	2.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	6.8
<b>Mn</b>	4.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	27.4	3.2 ± 0.3 <sup>b</sup>	27.4	4.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	27.8
<b>Pb</b>	< LD <sub>(m)</sub>	-	< LD <sub>(m)</sub>	-	< LD <sub>(m)</sub>	-
<b>Zn</b>	10.8 ± 0.1 <sup>a</sup>	50.6	7.4 ± 0.5 <sup>b</sup>	49.0	10.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	45.6

As médias aritméticas simples (n = 3) ± desvio padrão com diferentes letras minúsculas na reta, diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05); CB = concentração bioacessível; % FB = porcentagem da fração bioacessível; <LD(m) = valores abaixo do limite de detecção do método.

**Tabela 13** - Concentrações bioacessíveis em feijão cozido

Analito (mg kg <sup>-1</sup> )	BRS Expedito		TB02-23		TB02-19	
	CB	%FB	CB	%FB	CB	%FB
<b>Ba</b>	0.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	2.4	0.2 ± 0.0 <sup>b</sup>	4.3	0.1 ± 0.0 <sup>c</sup>	2.8
<b>Cu</b>	1.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	38.5	1.2 ± 0.0 <sup>b</sup>	40.2	1.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	61.2
<b>Fe</b>	0.9 ± 0.0 <sup>a</sup>	2.3	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>	3.4	0.7 ± 0.0 <sup>a</sup>	3.6
<b>Mn</b>	< LD <sub>(m)</sub>	-	< LD <sub>(m)</sub>	-	0.4 ± 0.0 <sup>a</sup>	8.3
<b>Pb</b>	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	18.1	0.2 ± 0.0 <sup>b</sup>	13.4	0.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	21.5
<b>Zn</b>	5.8 ± 0.2 <sup>b</sup>	63.5	4.6 ± 0.0 <sup>c</sup>	43.0	6.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	51.1

As médias aritméticas simples (n = 3) ± desvio padrão com diferentes letras minúsculas na linha, diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05); CB = concentração bioacessível; % FB = porcentagem da fração bioacessível; <LD(m) = valores abaixo do limite de detecção do método.

Os elementos K e Mg não foram quantificados na fração bioacessível por estarem presentes em altas concentrações nos sais adicionados para simulação do trato gastrointestinal. Após simular as três principais etapas do sistema digestivo, o sobrenadante foi coletado para posterior determinação da fração bioacessível dos analitos.

Para a bioacessibilidade do feijão cru, os elementos Cu e Zn foram os que apresentaram maiores percentuais de bioacessibilidade. Para Cu e Zn, o feijão TB02-23 apresentou diferença significativa dos demais feijões quanto à concentração bioacessível. O elemento Ba apresentou diferença significativa entre os feijões para concentração bioacessível, e o percentual bioacessível foi baixo, deve-se notar que o Ba é um elemento químico potencialmente tóxico e sua concentração pode causar distúrbios fisiológicos no organismo humano. O Pb elemento potencialmente tóxico, apresentou concentrações bioacessíveis abaixo do LD(m). O elemento Fe, de significativa importância, apresentou baixa bioacessibilidade para todos os feijões, e para o TB02-23, ficou abaixo do LD(m). O Mn apresentou bons percentuais de bioacessibilidade, cerca de 27%, e o feijão TB02-23 apresentou diferença significativa para a concentração bioacessível.

Após a cocção, o comportamento da porcentagem bioacessível dos elementos foi diferente, conforme evidenciado na Tabela 13. Os elementos Cu e Zn permaneceram os dois elementos mais bioacessíveis para os feijões. O cozimento proporcionou um aumento na porcentagem bioacessível de Cu no feijão TB02-19 e

Zn no feijão BRS Expedito e TB02-19. A porcentagem bioacessível de Ba, após a cocção, apresentou diminuição de 8 a 16% nos feijões, fato importante, por ser um elemento potencialmente tóxico ao organismo. A bioacessibilidade de um elemento depende não apenas da matriz, mas também da forma química do analito (Naozuka & Oliveira, 2017).

O percentual de Fe bioacessível no feijão após o cozimento diminuiu, ficando entre 2,3 e 3,6%. Meyer et al. (2013) indicaram que no feijão comum cultivado na Nicarágua, o teor de Fe era de 61-81 mg/kg, dos quais 3-4% estavam biodisponíveis. Galán et al. (2013) observaram que a bioacessibilidade do Fe foi menor nos alimentos cozidos quando comparados aos crus, resultados esses que se assemelham aos encontrados neste estudo. Oliveira et al. (2018) estudaram o efeito do cozimento sobre a bioacessibilidade de elementos essenciais em diferentes genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), constataram que o Fe era o elemento menos acessível em feijão cru e cozido, e os autores ainda afirmam que a bioacessibilidade de Fe para os humanos dos grãos *Phaseolus* é baixo (1-2%) e diminui após o cozimento.

Para o Pb, nos feijões cru, a concentração ficou abaixo do LD(m), enquanto nos feijões cozidos foi observada uma concentração entre 0,2 a 0,3 mg/kg, resultado acima do limite permitido pela RDC nº 42 de 2013 (Anvisa, 2013) Porém, mesmo o feijão cozido apresentando concentração para Pb, aproximadamente 80% dessa concentração não é bioacessível ao organismo, ou seja, a toxicidade é menor em relação à concentração total.

O elemento Mn, que apresentou cerca de 27% de bioacessibilidade nos feijões cru, nos feijões cozidos apresentou uma diminuição, sendo que apenas o feijão TB02-19 não ficou abaixo do LD(m). A variação do conteúdo de elementos liberados no trato gastrointestinal deve-se à presença de compostos que podem inibir a absorção de cátions e diminuir sua bioacessibilidade, por exemplo, polifenóis, fitatos e taninos (Ou et al., 2011; Pereira et al., 2018). Componentes vegetais, como fibra e ácido fítico, afetam negativamente a bioacessibilidade de certos minerais (Cámara et al., 2005). A presença desses inibidores poderia explicar as porcentagens relativamente baixas obtidas para a maioria dos minerais.

Segundo a FAO (FAO/WHO, 2001) o consumo recomendado de vegetais secos/frescos cozidos, incluindo feijão, é de 3 colheres de sopa por dia (média de 80 g). Convertendo os resultados obtidos neste estudo para a concentração

bioacessível de feijão cozido para mg/80g e correlacionando com a ingestão diária recomendada para adultos pelo Institute of Medicine (2011), que é 14 mg para Fe, 7 mg para Zn, 0,9 mg para Cu e 2,3 mg para Mn, foi possível observar que o feijão contribui com parte da ingestão desses minerais. Porém, é evidente que é necessário consumir outras verduras e outros tipos de alimentos combinados ao feijão ao longo do dia para auxiliar na suplementação, sendo também importante ingerir elementos essenciais que participam de diversas funções fisiológicas do organismo. O valor máximo permitido para Ba e Pb é 500 mg e 0,036 mg, respectivamente (Azevedo & Chasin, 2003; Nielsen & Ladefoged, 2013). Convertendo as concentrações encontradas para o feijão cozido para mg/80g, é possível observar que as concentrações bioacessíveis para todos os elementos em todas os genótipos de feijão ficaram abaixo do limite diário estabelecido, exceto para o Pb. O Pb, que é um elemento potencialmente tóxico, necessitando de mais estudos para descobrir a origem desse elemento no feijão, uma vez que pode estar presente no solo, na fertilização, na água de irrigação, entre outros fatores.

O requerimento de Fe para homens adultos é de 8 mg/dia e para mulheres é de 18 mg/dia (Institute of Medicine, 2011). Considerando a quantidade total de Fe nos feijões, o feijão cru é mais nutritivo quanto à presença de Fe, porém, considerando a bioacessibilidade, percebe-se que o feijão cozido não é o alimento mais eficiente quanto à disponibilidade de Fe para o organismo. Esses resultados indicam que nem todo o conteúdo de um determinado elemento presente no alimento tem probabilidade de ser liberado da matriz alimentar durante a digestão gastrointestinal humana, disponibilizando-o (ou não) para absorção e consequente uso pelo organismo.

#### **4. Conclusão**

O estudo da concentração de minerais no feijão cozido é mais importante nutricionalmente do que a caracterização do grão cru, pois o feijão é consumido principalmente na forma cozida. Os resultados encontrados neste estudo indicam que, possivelmente, a água e o processo de cocção têm uma influência considerável no teor de minerais, e a maceração dos grãos causa uma lixiviação dos minerais. Podemos observar que os elementos que estão presentes em maior quantidade em todos os grãos, tanto crus quanto cozidos, são o K e o Mg. Porém, quando o estudo

de bioacessibilidade foi realizado entre os elementos considerados, os mais bioacessíveis foram Cu e Zn. Os elementos K e Mg não foram quantificados na fração bioacessível, pois estão presentes em altas concentrações nos sais adicionados para simulação do trato gastrointestinal, aumentando assim suas concentrações nas soluções, inviabilizando as determinações.

Com base nos resultados apresentados para a concentração total e para a concentração bioacessível, foi possível observar que a amostra BRS Expedito apresentou as maiores concentrações para a maioria dos elementos, tanto em grãos crus quanto cozidos. No entanto, essa mesma amostra apresentou as maiores concentrações totais de Ba e Pb, considerados elementos potencialmente tóxicos para o organismo humano. Na concentração bioacessível, tanto para o feijão cru quanto para o cozido, não houve maior diferença em relação aos percentuais da fração bioacessível. Assim, foi possível observar que embora a amostra possa apresentar grande concentração de um determinado elemento, ao ser digerida pelo nosso organismo, apenas parte dessa concentração é liberada no epitélio intestinal para posterior absorção pelo organismo. Portanto, faz-se necessário o consumo de outros tipos de alimentos para posterior liberação desses elementos, atendendo assim às necessidades diárias do organismo.

## 5. Referencias

Afonso, S. M. E. (2010). Physico-chemical characterization and antioxidant activity of new bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.). *Polytechnic Institute of Bragança*, 1–44.

Agilent Technologies. (2016). *Flexible sample introduction with the Multimode Sample Introduction System*. Technical Overview.

AOCS. American Oil Chemists' Society. (2019). *Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society*: including additions and revisions. Champaign: AOCS.

Anvisa. National Health Surveillance Agenc. (2013). *RDC n. 42 de 29 de agosto de 2013*. Mercosul Technical Regulation on Maximum Limits of Inorganic Contaminants in Food. Official Diary of the Union.

Azevedo, F. A., Chasin, A. A. M. (2003). *Metals: Toxicity management*. São Paulo: Editora Atheneu.

Barampama, Z., Simard, R. E. (1995). Effects of soaking, cooking and fermentation on composition, in-vitro starch digestibility and nutritive value of common beans. *Plant Foods for Human Nutrition*, 48(4), 349-365.

Cámara, F., Amaro, M. A., Barberá, R., Clemente, G. (2005). Bioaccessibility of minerals in school meals: Comparison between dialysis and solubility methods. *Food Chemistry*, 92(3), 481–489.

Carvalho, L. M. J., Corrêa, M. M., Pereira, E. J., Nutti, M. R., Carvalho, J. L. V., Ribeiro, E. M. G., Freitas, S. C. (2012). Iron and zinc retention in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) after home cooking. *Food & Nutrition Research*, 56, 1–6.

FAO/OMS. (2001). *Human Vitamin and Mineral Requirements*. Bangkok: FAO/OMS Expert Consultation.

Ferreira, S. L. C., Lemos, V. A., Silva, L. O. B., Queiroz, A. F. S., Souza, A. S., Silva, E. G. P., Sanos, W. N. L., Virgens, C. F. (2015). Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices — A review. *Microchemical Journal*, 121, 227-236.

FDA. Food and Drug Administration. (2014). Methods. Method Verification and Validation (1.7 version). Retrieved from [http://www.fda.gov/ora/science\\_ref/lm/default.htm](http://www.fda.gov/ora/science_ref/lm/default.htm).

Galán, M. G., González, R. J., Drago, S. R. (2013). Nutritional profile and dializability of minerals from foods of social interest. *Spanish Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 17, 3–9.

Gong, R., Wang, P., Dworkin, L. (2016). What we need to know about the effect of lithium on the kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 311, 1168-1171.

Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A. (2014). Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. *Critical Reviews in Food*, 54(5), 580-592.

Holst, B., Williamson, G. (2008). Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(2), 73-82.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Physical-chemical methods for food analysis*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.

Institute of Medicine. (2001). *Dietary Reference intakes for vitamin A. vitamin K. Arsenic. Boron. Chromium. Copper. Iodine. Iron. Manganese. Molybdenum. Nickel. Silicon. Vanadium and Zinc*. Washington: The National Academy Press.

Jacob, J. K., Tiwari, K., Correa-Betanzo, J., Misran, A., Chandrasekaran, R. Paliyath. G. (2012). Biochemical basis for functional ingredient design from fruits. *Food Science and Technology*, 3, 79-104.

Khouzam, R. B., Pohl, P., Lobinski, R. (2011). Bioaccessibility of essential elements from white cheese. bread. fruit and vegetables. *Talanta*, 86, 425–428.

Lasat, M. M. (2002). Phytoextraction of toxic metals: a review os biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality*, 31, 109-120.

Lindinger, M. (1995). Potassium regulation during exercise and recovery in humans: Implications for skeletal and cardiac muscle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 27(4), 1011–1022.

Marsola, T., Miyazawa, M., Pavan, M. A. (2005). Accumulation of copper and zinc in tissues of common bean in relation to that extracted from the soil. *Brazilian Journal of Agricultural and Environmental Engineering*, 9, 92-98.

Martínez-Ballesta, M. C., Dominguez-Perles, R., Moreno, D. A., Muries, B., Alcaraz-Opez, C., Bastías, E., Carvajal, M. (2010). Minerals in plant food: effect of agricultural practices and role in human health. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30, 295–309.

Mattson, S. (1946). The cookability of yellow peas: a colloidchemical and biochemical study. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 2(1), 185-231.

Mesquita, F. R., Correa, A. D., Abreu, C. M. P., Lima, R. A. Z., Abreu, A. F. B. (2007). Bean lines (*Phaseolus vulgaris*. L.): chemical composition and protein digestibility. *Science and Agrotechnology*, 31(4), 1114-1121.

Meyer, M. R. M., Rojas, A., Santanen, A., Stoddard. F. L. (2013). Content of zinc. iron and their absorption inhibitors in Nicaraguan common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 136, 87–93.

Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlie, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Marcierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W., Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Function*, 5, 1113-1124.

Nyau, V. (2014) Nutraceutical perspectives and utilization of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.): A review. *African Journal of Food, Agriculture Nutrition and Development*, 14(7), 9483-9496.

Naozuka, J., Oliveira, A. P. (2015). Chemical speciation of iron in different varieties of Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.): Cooking effects. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26(10), 2144-2149.

Naozuka, J., Oliveira, A. P. (2017). Effects of iron enrichment of Adzuki Bean (*Vigna angularis*) sprouts on elemental translocation, concentration of proteins, distribution of Fe-Metalloproteins, and Fe bioaccessibility. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(10), 1937-1946.

Nielsen, E., Ladefoged, O. (2013). Barium, inorganic water-soluble compounds. Evaluation of health hazards and proposal of health based quality criteria for soil and drinking water. *The Danish Environmental Protection Agency*, 1-42.

Oghbaei, M., Prakash, J. (2016). Effect of primary processing of cereals and legumes on its nutritional quality: A comprehensive review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1136015.

Oliveira, A. P., Andrade, G. F., Mateó, B. S. O., Naozuka, J. (2017). Protein and metalloprotein distribution in different varieties of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Effects of cooking. *International Journal of Food Science*, 1-8.

Oliveira, A. P., Mateó, B. S. O., Fioroto, A. M., Oliveira, P. V., Naozuka, J. (2018). Effect of cooking on the bioaccessibility of essential elements in different varieties of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 67, 135-140.

Oreste, E. Q., Jesus, A., Oliveira, R. M., Silva, M. M., Vieira, M. A., Ribeiro, A. S. (2013). New design of cold finger for sample preparation in open system: determination of hg in biological samples by CV-AAS. *Microchemical Journal*, 109, 5-9.

Ou, K., Cheng, Y., Xing, Y., Lin, L., Nout, R., Liang, J. (2011). Phytase activity in brown rice during steeping and sprouting. *Journal of Food Science and Technology*, 48, 598-603.

Paredes, R. S. V. (2017). *Bioaccessibility of phenolic and mineral compounds in common beans (Phaseolus vulgaris L.)*. Dissertation presented at the Higher School of Agriculture "Luiz de Queiroz" of the University of São Paulo, as a requirement to obtain the title of Master of Science. Piracicaba – SP.

Pereira, C. C., Silva, E. N., Souza, A. O., Vieira, M. A., Ribeiro, A. S., Cadore, S. (2018). Evaluation of the bioaccessibility of minerals from blackberries, raspberries, blueberries and strawberries. *Journal of Food Composition and Analysis*, 68, 73–78.

Ramírez-Cárdenas, L., Leonel, A. J., Costa, N. M. B., Reis, F. P. (2010). Zinc bioavailability in different beans as affected by cultivar type and cooking conditions. *Food Research International*, 43, 573–581.

Ramírez-Ojeda, A. M., Moreno-Rojas, R., Cámara-Martos, F. (2018). Mineral and trace element content in legumes (lentils, chickpeas and beans): Bioaccessibility and probabilistic assessment of the dietary intake. *Journal of Food Composition and Analysis*, 73, 17-28

Ribeiro, N. D., Maziero, S. M., Prigol, M., Nogueira, C. W., Rosa, D. P., Possobom, M. T. D. F. (2012). Mineral concentrations in the embryo and seed coat of common bean cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1-2), 89-95.

Sampaio, M. R. F., Lisboa, M. T., Timm, J. G., Ribeiro, A. S., Vieira, M. A., Otero, D. M., Zambiasi, R. C. (2020). Multielemental determination in sugarcane products from the southern region of Brazil by microwave induced plasma optical emission spectrometry after acid decomposition with a reflux system. *Analytical Methods*, 12, 1360-1367.

Shim, S., Ferruzzi, M., Kim, Y., Janle, E., Santerre, C. (2009). Impact of phytochemical-rich foods on bioaccessibility of mercury from fish. *Food Chemistry*, 112(1), 46-50.

Souza, A. O., Pereira, C. C., Heling, A. I., Oreste, E. Q., Cadore, S., Ribeiro, A. S., Vieira, M. A. (2019). Determination of total concentration and bioaccessible fraction of metals in infant cereals by MIP OES. *Journal of Food Composition and Analysis*, 77, 60-65.

Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., Conte, A. (2010). In vitro bioaccessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, 120, 599-606.

Tognon, A. L. (2012). *Quantification and evaluation of in vitro bioaccessibility of micro and macro elements in fruits, vegetables and cereals*. Dissertation presented to the Department of Chemistry. Faculty of Philosophy, Sciences and Letters of Ribeirão Preto. University of São Paulo, as a requirement to obtain the title of Master of Science (area: Chemistry). Ribeirão Preto – SP.

Tuerk, M. J., Fazel, N. (2009). Zinc deficiency. *Current Opinion in Gastroenterology*, 25, 136–143.

Turkmen, M., Turkmen, A., Tepe, Y., Ates, A. (2009). Determinations of metals in fish species from Aegean and Mediterranean seas. *Food Chemistry*, 113, 233-237.

Viadel, B., Barberá, R., Farré, R. (2006a). Uptake and retention of calcium, iron, and zinc from raw legumes and the effect of cooking on lentils in Caco-2 cells. *Nutrition Research*, 26, 591–596.

Viadel, B., Barberá, R., Farré, R. (2006b). Effect of cooking and legumes species upon calcium, iron and zinc uptake by Caco-2 cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20, 115–120.

Viadel, B., Barberá, R., Farré, R. (2009). Calcium, iron and zinc uptakes by Caco-2 cells from white beans and effect of cooking. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(3-4), 190–197.

Yang, X. E., Chen, W.R., Feng, Y. (2007). Improving human micronutrient nutrition through biofortification in the soil-plant system: China as a case study. *Environmental Geochemistry and Health*, 29, 413–42.

## **Considerações Finais**

Os genótipos crioulos analisados nesse estudo apresentaram características distintas, mas de modo geral mostraram-se promissores, tendo sua qualidade tecnológica, nutricional e bioativa conforme esperado. As sementes crioulas são essências para agricultura familiar, pois apresentam importância socioeconômica, cultural e genética. A integração entre agricultores familiares que detém essas sementes e institutos que desejam pesquisar sobre estas pode ser um incentivo para melhorar a qualidade tanto tecnológica, como nutricional dessas sementes crioulas. Por fim, para trabalhos posteriores, sugere-se a realização das análises em genótipos diferentes dos estudados, e realização de outros testes para fins de comparação de resultados.