**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Efeito da radiação gama e do processo de germinação sobre as
características nutricionais do feijão**

Patricia Cristina Corazza Martinez

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

Piracicaba

2011

Patricia Cristina Corazza Martinez
Nutricionista

**Efeito da radiação gama e do processo de germinação sobre as características
nutricionais do feijão**

Orientador:
Prof^a. Dra. **SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de
Alimentos

Piracicaba
2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Martinez, Patricia Cristina Corazza

Efeito da radiação gama e do processo de germinação sobre as características nutricionais do feijão / Patricia Cristina Corazza Martinez. - - Piracicaba, 2011. 218 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Análise sensorial de alimentos 2. Feijão 3. Germinação 4. Grãos 5. Radiação gama 6. Valor nutritivo I. Título

CDD 664.805652
M385e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Paulo e a minha mãe Conceição
dedico esta conquista com o mais profundo respeito,
admiração, amor e minha eterna gratidão.

Aos meus irmãos Paulo César, Marcos Vinícios e Ana Paula,
pela presença constante em minha vida.

As minhas avós Conceição e Hermida
que sempre vibraram com cada conquista minha
e com isso me motivou a seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que sempre foram e serão modelo de dedicação a profissão de justiça e de honestidade. Por todo amor dedicado à família e pelo apoio e incentivo constantes para realização dos meus sonhos, me mostrando que vale a pena transpor obstáculos para conquistá-los. Devo muito dessa vitória a vocês!

A minha orientadora prof. Dra. Solange Guidolin Canniatti Brazaca, pela amizade, condução do trabalho de pesquisa e confiança depositada em mim na realização deste trabalho;

A minha irmã, Ana Paula, que me acompanha e divide comigo todas as alegrias e frustrações desse caminho que escolhemos: o da pesquisa científica! Irmã constante, que tem o mesmo ideal que o meu, aprender e descobrir;

Aos meus irmãos Paulo César e Marcos que me apoiaram em todos os momentos confiando sempre em mim e na minha capacidade;

As minhas avós que sempre foram alicerce para todas as conquistas;

Ao meu namorado Edras Afias de Oliveira que esteve todos os momentos a meu lado, entendendo meu esforço, aceitando minha ausência e compreendendo a importância do meu trabalho;

Agradeço aos meus colegas de laboratório, Evelise, Priscila, Paulo, Neila, Karina, Ivânia e Suzan. Alguns já não estão mais presentes no dia a dia, mas a contribuição de vocês é inesquecível. Obrigada pela colaboração, convívio e pelos momentos de descontração;

Ao prof. Dr. Valter Arthur, pelo auxílio com a parte de irradiação de alimentos;

Ao Porf. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias do Departamento de Matemática e Estatísticas da ESALQ pela orientação no planejamento e nas análises estatística;

Ao Prof. Ernani Porto pela ajuda na parte microbiologia;

Aos professores da banca examinadora Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima e Dr. Valter Arthur por terem participado da avaliação deste trabalho, pelo tempo dedicado às correções e pelas importantes contribuições e sugestões;

Ao meu amigo Carlos Eduardo que me ajudou na obtenção das sementes de feijão;

À FAPESP (Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela bolsa concedida;

A DEUS, que me permitiu saúde, coragem, paciência e esforço, em todos os momentos;

Enfim, a todos que eu não mencionei, mas que estiveram presentes nesta caminhada, o meu muito obrigado.

EPIÍGRAFE

"E, se bem que seja obscuro
Tudo pela estrada fora,
E falso, ele vem seguro,
E, vencendo estrada e muro,
Chega onde em sono ela mora.
E, inda tonto do que houvera,
A cabeça, em maresia,
Ergue a mão, e encontra hera,
E vê que ele mesmo era A Princesa que dormia."

Fernando Pessoa

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	19
1 INTRODUÇÃO	21
Referências	22
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 Feijão.....	25
2.2 Produção Econômica do Feijão no Brasil.....	26
2.3 Cultivar BRS Pérola	31
2.4 Fatores Antinutricionais presentes nas leguminosas	32
2.5 Digestibilidade protéica <i>in vitro</i>	41
2.6 Carotenóides	42
2.7 Clorofila	43
2.8 Atividade Antioxidante	44
2.9 Vitaminas B ₁ , B ₂ e B ₆	46
2.10 Germinação de Alimentos	49
2.11 Irradiação de Alimentos.....	52
2.12 Efeitos de baixas doses de radiação no crescimento de sementes	54
2.13 Análise Sensorial.....	55
Referências	56
3 INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE GERMINAÇÃO E IRRADIAÇÃO EM GRÃOS DE FEIJÃO NA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL	71
Resumo	71
Abstract	71
3.1 Introdução	72
3.2 Material e Métodos.....	74
3.2.1 Matéria-prima	75
3.2.2 Germinação.....	75
3.2.3 Tratamentos	76

3.2.4 Composição Centesimal	76
3.2.5 Análises Microbiológicas.....	77
3.2.5.1 Preparação das amostras.....	77
3.2.5.2 Coliformes Totais e Coliformes Fecais pelo Método do Número Mais Provável (NMP)	78
3.2.5.3 Determinação de <i>Salmonella</i> sp	78
3.2.6 Análise Sensorial	79
3.2.7 Análise Estatística.....	81
3.3 Resultados e Discussão	81
3.4 Conclusão.....	94
Referências.....	95
4 EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA E DO PROCESSO DE GERMINAÇÃO NOS FATORES ANTINUTRICIONAIS E NA DIGESTIBILIDADE PROTÉICA <i>IN VITRO</i> EM FEIJÃO	101
Resumo	101
Abstract.....	101
4.1 Introdução.....	102
4.2 Material e Métodos	107
4.2.1 Matéria-prima.....	107
4.2.2 Germinação	107
4.2.3 Tratamentos.....	108
4.2.4 Fatores Antinutricionais	108
4.2.4.1 Inibidores de Tripsina.....	108
4.2.4.2 Ácido Fítico	109
4.2.4.3 Hemaglutininas (Lectinas)	109
4.2.5 Compostos Fenólicos	110
4.2.5.1 Taninos Condensados	110
4.2.6 Digestibilidade protéica <i>in vitro</i> da proteína	110
4.2.7 Análise Estatística.....	111
4.3 Resultados e Discussão	111
4.4 Conclusão.....	130

Referências	130
5 INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO E GERMINAÇÃO SOBRE A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, COMPOSTOS FENÓLICOS, CAROTENÓIDES E CLOROFILA TOTAIS NOS GRÃOS DE FEIJÃO	143
Resumo	143
Abstract	144
5.1 Introdução	149
5.2 Material e Métodos	149
5.2.1 Matéria-prima	149
5.2.2 Germinação	150
5.2.3 Tratamentos	150
5.2.4 Fenólicos Totais	151
5.2.5 Flavonóides Totais	151
5.2.6 Clorofila e Carotenóides Totais	151
5.2.7 Atividade Antioxidante	152
5.2.7.1 DPPH	152
5.2.7.2 ABTS	152
5.2.8 Análise Estatística	152
5.3 Resultados e Discussão	153
5.4 Conclusão	164
Referências	165
6 AVALIAÇÃO NOS TEORES E DISPONIBILIDADE DE MINERAIS E NO CONTEÚDO DE TIAMINA, RIBOFLAVINA E PIRIDOXINA EM GRÃOS DE FEIJÕES IRRADIADOS EM BAIXAS DOSES E GERMINADOS	173
Resumo	173
Abstract	174
6.1 Introdução	176
6.2 Material e Métodos	176
6.2.1 Matéria-prima	176
6.2.2 Germinação	176
6.2.3 Tratamentos	177

6.2.4 Minerais	177
6.2.5 Disponibilidade de ferro, cálcio, zinco e magnésio	178
6.2.6 Vitamina B ₁ , B ₂ e B ₆	178
6.2.8 Análise Estatística.....	181
6.3 Resultados e Discussão	181
6.4 Conclusão.....	202
Referências.....	203
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	211
ANEXOS.....	213

RESUMO

Efeito da radiação gama e do processo de germinação sobre as características nutricionais do feijão

O feijão é uma importante fonte de proteínas, amido, vitaminas, minerais e fibras na dieta brasileira. A biodisponibilidade mineral e a digestibilidade protéica, entretanto, podem ser afetados pela presença de fatores antinutricionais. Atualmente, o a germinação tem sido empregado como alternativa para remoção ou inativação desses constituintes, melhorando com isso suas qualidades nutricionais. O presente estudo teve por objetivo estudar o efeito da radiação gama e germinação nos aspectos nutricionais dos grãos de feijão. O feijão utilizado foi da variedade carioca, cultivar pérola, adquirido de produtores de Goiás. Os grãos foram irradiados em uma fonte de Cobalto 60, tipo Gammacell, com taxa de dose de 0,456 kGy/hora e logo em seguida foram germinados em temperatura e luminosidade ambiente durante 72 e 96 horas. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas. Os dados da composição centesimal indicaram que a germinação desencadeou aumento nos teores de umidade, proteína e fibras insolúveis e solúveis. Porém apresentou decréscimo no conteúdo de cinzas, lipídeos e carboidratos. A irradiação não influenciou nas concentrações da composição centesimal das amostras. Os testes microbiológicos da amostra germinada nos tempos de 72 e 96 horas apresentaram crescimento de coliformes totais, abaixo dos níveis aceitáveis. Salmonella e coliformes fecais não apresentaram crescimento nas amostras. A análise sensorial, apresentou baixa rejeição nos feijões germinados. Os teores de ácido fítico apresentaram redução em seu conteúdo após a germinação, mas não significativo em relação à amostra controle. Os valores de taninos, após a germinação em 72 horas não foi detectado nas amostras. Uma redução no conteúdo de inibidor de tripsina e fenólicos totais entre as amostras analisadas foi observada com o efeito da germinação. Nas plantas germinadas houve diminuição no teor de hemaglutinina e aumento na digestibilidade protéica. Os flavonóides não foram detectados em nenhuma amostra. A clorofila e carotenóides totais apresentou aumento após a germinação das sementes. A maior atividade antioxidante foi encontrada para o feijão germinado em 96 horas sendo de 78% e 33% para os métodos ABTS e DPPH, respectivamente. A composição mineral não foi influenciada pelo tratamento de irradiação, e sim do processo de germinação. A disponibilidade *in vitro* de ferro, cálcio, magnésio e zinco, notou-se que apesar da germinação e irradiação e o grão controle não apresentarem diferença significativa, nas amostras germinadas houve aumento nos valores. A disponibilidade de magnésio diminuiu com o processo germinativo. Após a germinação houve aumento nos teores de riboflavina e vitamina B₆, mas diminuiu o teor de tiamina. O processo de irradiação não comprometeu o valor nutricional das vitaminas do feijão. Assim, conclui-se que a germinação melhora a qualidade nutricional do grão, devendo ser estimulado o seu consumo na dieta brasileira.

Palavras-chaves: *Phaseolus vulgaris*; Processo germinativo; Radiação gama; Nutricional

ABSTRACT

Effect of gamma radiation and the process of germination on the nutritional characteristics of beans

Beans are an important source of protein, starch, vitamins, minerals and fiber in the Brazilian diet. The protein digestibility and mineral bioavailability, however, may be affected by the presence of anti-nutritional factors. Currently, germination has been used as an alternative for the removal or inactivation of these components, thus improving nutritional qualities of beans. This study aimed to study the effect of gamma irradiation and germination on the nutritional aspects of beans. The “carioca” bean variety was used, cultivar “pérola”, obtained from producers of Goiás state – Brazil. The grains were irradiated in a Cobalt⁶⁰ source, Gammacell type, at a dose rate of 0.456 kGy/ hour and soon after, they were germinated in room temperature and light during 72 and 96 hours. Then, the samples were frozen and lyophilized. The centesimal composition indicated that germination caused an increase in moisture, protein and soluble and insoluble fiber. However, it showed a decrease in ash, lipids and carbohydrates contents. Irradiation did not influence concentrations of the chemical composition of the samples. Microbiological tests of the sample germinated in 72 and 96 showed growth of coliforms, below acceptable levels. *Salmonella* and fecal coliforms in the samples showed no growth. The sensory analysis showed low rejection of the germinated beans. The phytic acid showed a reduction in its content after germination, but not significantly compared to the control sample. The amounts of tannins, after germination in 72 hours, were not detected in the samples. A reduction in trypsin inhibitor content and total phenolic content between samples was observed with the effect of germination. In the germinated plants, the hemagglutinin content decreased and digestibility increased. Flavonoids were not detected in any sample. Chlorophyll and total carotenoids showed an increase after seed germination. The highest antioxidant activity was found for the beans germinated in 96 hours being 78% and 33% for ABTS and DPPH methods, respectively. The mineral composition was not affected by irradiation treatment, but the germination process was. The *in vitro* availability of iron, calcium, magnesium and zinc, in spite of the germination and irradiation, the control bean did not show a significant difference in the samples germinated was no increase in values. The availability of magnesium decreased with the germination process. After germination was increased the levels of riboflavin and vitamin B₆, but decreased the amount of thiamin. The irradiation process did not compromise the nutritional value of vitamins in the beans. Thus, we conclude that germination improves the nutritional quality of the grain should be nurtured their consumption in the Brazilian diet.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; Germinal process; Radiation gamma; Nutritional

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Percentual da participação do feijão na produção de cereais, leguminosas e oleaginosas no Brasil.....	27
Figura 2 – Produção, área plantada e rendimento do feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L) – Safras de 2000/2001 a 2006/2007.....	28
Figura 3 – Consumo per capita de feijão no Brasil nos anos de 1972 a 2008.....	30
Figura 4 - Teores de taninos (mg catequina.g ⁻¹ feijão) em base seca, para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média±desvio padrão).....	116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Área plantada, produção e produtividade do feijão por Estados Brasileiros – Safras 2009/2010 e 2010/2011.....	29
Tabela 2 - Composição centesimal (base seca, média±desvio padrão) para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle.....	82
Tabela 3 - Coeficiente de correlação mostrando a relação entre os parâmetro e período de germinação.....	83
Tabela 4 - Coeficiente de correlação mostrando a relação entre os parâmetros e doses de irradiação.....	83
Tabela 5 - Resultados das análises microbiológicas de grãos de feijão que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o feijão controle, com NMP/g para coliformes totais e fecais e pesquisa de Salmonella sp/25 g.....	90
Tabela 6 - Média do grau de satisfação, de acordo com a escala hedônica (notas de 1 a 9) dos provadores em relação aos grãos de feijão que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média±desvio padrão).....	91
Tabela 7- Representação dos valores em porcentagem da intenção de compra das amostras avaliadas no teste afetivo.....	91
Tabela 8- Teores de ácido fítico (mg g^{-1} feijão) em base seca, para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média±desvio padrão).....	112
Tabela 9 - Atividade de inibidor de tripsina (UTI mg^{-1} feijão) em base seca, para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média±desvio padrão).....	120
Tabela 10 - Atividade de hemaglutinina (Atividade de hemaglutinina mg^{-1} de amostra) (base fresca, média±desvio padrão), para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média±desviopadrão).....	124

Tabela 11 - Digestibilidade da proteína in vitro (%) (base fresca, média±desvio padrão), para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle.....	126
Tabela 12 - Coeficiente de correlação de Pearson para a associação entre digestibilidade protéica in vitro e os fatores antinutricionais em relação o processo de germinação.....	127
Tabela 13 - Teores de fenólicos totais (mg g ⁻¹) e flavonóides (mg de quercetina 100g ⁻¹) em base seca, para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média±desvio padrão).....	153
Tabela 14 - Teores de clorofila e carotenóides totais (µg g ⁻¹)(base fresca, média±desvio padrão), em feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle.....	158
Tabela 15 - Atividade antioxidante (µMol Trolox g ⁻¹) determinada pelos métodos DPPH e ABTS de extratos metanólicos de feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (base fresca, média ± desvio padrão).....	161
Tabela 16 - Valores médios (base seca, média±desvio padrão) de micronutrientes para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle.....	182
Tabela 17 - Valores médios (base seca, média±desvio padrão) de macronutrientes para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle.....	183
Tabela 18 - Porcentagem de disponibilidade in vitro de cálcio, ferro, zinco e magnésio (média ± desvio padrão) para os grãos de feijão que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle....	193
Tabela 19 - Teor de Vitaminas B ₁ , B ₂ , B ₆ e seus respectivos vitâmeros (Piridoxamina, Piridoxal, Piridoxina) para os grãos de feijão que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle..	197

1 INTRODUÇÃO

As leguminosas são importantes fontes de nutrientes para diversos contingentes humanos. Entre eles, destacam-se os feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) que são muito difundidos entre os países do continente americano. No Brasil, os feijões são normalmente consumidos após o processo de cocção doméstico, isto é, não são industrializados, fazendo parte do cardápio diário da população e são considerados elementos da cultura nacional (ARMELIN et al., 2007; GHAVIDEL et al., 2007).

Do ponto de vista nutricional, o feijão possui compostos e substâncias que tornam seu consumo vantajoso, por ser considerado boa fonte de proteínas, vitaminas, fibras, carboidratos, minerais, além de possuir compostos fenólicos com ação antioxidante que podem reduzir a incidência de doenças. Por esta razão, o feijão tem sido cultivado na maioria dos estados brasileiros, durante todos os meses do ano e a sua produção provém de quase todo território nacional (SIDDHURAJU et al., 2002).

Além do seu valor nutricional, o feijão contém fatores antinutricionais que apresentam tanto efeitos adversos quanto benéficos para a saúde em humanos. Estes efeitos são dependentes da concentração e podem ser voltados para o controle de doenças crônicas. Porém, a alta ingestão de alimentos ricos em antinutrientes leva a efeitos prejudiciais; como por exemplo, a ingestão de ácido fítico, lectinas, compostos fenólicos e taninos, saponinas, inibidores enzimáticos, glicosídeos cianogênicos, e glucosinolatos reduzem a biodisponibilidade de certos nutrientes e prejudicam o crescimento (BRIGIDE, 2002; ARMELIN et al., 2007).

Para melhorar a qualidade nutricional do grão, o processo de germinação tem sido empregado. A germinação das sementes para consumo humano é uma prática milenar no Oriente e, atualmente observa-se a expansão do consumo desse tipo de alimento. Os efeitos da germinação sobre a composição química, aspectos nutricionais e características organolépticas variam com as espécies, cultivares vegetais e as condições de germinação das sementes (VILAS BOAS et al., 2002). Este processo induz a formação de enzimas que eliminam ou reduzem os fatores antinutricionais das leguminosas, melhorando, com isso, o seu valor nutricional (GHAVIDEL et al., 2007).

Entretanto, em muitos casos, o uso de apenas um único tratamento não é capaz de obter alterações nutricionais desejáveis, sendo necessário à associação de dois ou mais métodos (ABU-TARBOUSH, 1998; SIDDHURAJU; MAKKAR; BECKER, 2002; GHAVIDEL et al., 2007;).

Deste modo, outra técnica muito utilizada na redução dos fatores antinutricionais é a aplicação da radiação ionizante. A radiação ionizante é considerada um método seguro e eficiente para alguns alimentos podendo reduzir o risco de infecção alimentar e preservá-los com o mínimo de impacto em seu valor nutricional. Além do mais promove diminuição da dureza das sementes e diminuição do tempo de cocção. O processo não deixa resíduos de radioatividade nos alimentos. As radiações ionizantes, cuja energia seja inferior ao limiar das reações nucleares que podem induzir radioatividade são os mais utilizados para a irradiação de alimentos (BRIGIDE, 2002; ARMELIN et al., 2007).

Assim, considerando a vasta produção e consumo de feijão em nosso meio, suas características nutricionais, bem como a obtenção de mais informações relativas à associação dos tratamentos de germinação e irradiação em relação ao impacto na qualidade nutricional desta leguminosa, o presente estudo teve por objetivo estudar o efeito da radiação gama e germinação individualmente e consuntamente sobre as características nutricionais dos grãos de feijão.

Referências

ABU-TARBOUSH, H.M. Irradiation Inactivation of some antinutritional factors in plant seeds. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 7, p. 2698-2702, 1998.

ARMELIN, J.M.; CANIATTI-BRAZACA, S.G.; PIEDADE, S.M.S.; MACHADO, F.M.V.F.; SPOTO, M.H.F. Avaliação física de feijão carioca irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 498-502, jul./set. 2007.

BRIGIDE, P. **Disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiados**. 2002. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT- Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 40, n. 1, p. 1292–1299, 2007.

SIDDHURAJU, P.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The effect of ionizing radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, Oxford, v. 78, n. 2, p. 187-205, 2002.

VILAS BOAS, E.V.B.; BARCELOS, M.F.P.; LIMA, M.A.C. Tempo de germinação e características físicas, químicas e sensoriais dos brotos de soja e de milho nas formas isoladas e combinadas. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 148-156, jan./fev. 2002

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Feijão

Evidências arqueológicas indicam que o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) foi uma das primeiras plantas cultivadas nas Américas, tendo sua domesticação estimada para 5.000 anos a.C., no México, e no Peru a cerca de 3.000 anos a.C., pouco antes da domesticação do milho, nestas regiões (ARAÚJO, 2008). O feijão era também cultivado no Antigo Egito e na Grécia, onde recebia homenagens, por ser considerado símbolo da vida. Os antigos romanos usavam o feijão nas festas e até mesmo como forma de pagamento para as apostas. A explicação da disseminação dessa leguminosa é atribuída às grandes guerras, visto que o feijão era parte fundamental da dieta dos guerreiros (EMBRAPA, 2008).

O feijão pertence à divisão *Fanerogamae*, sub-divisão *Angiospermae*, classe *Dicotyledoneae*, ordem *Rosales*, família *Leguminosae*, sub-família *Papilionoideae*, gênero *Phaseolus*, espécie *Phaseolus vulgaris* L. (MECHI; CANIATTI-BRAZACA; ARTHUR, 2005).

O feijão faz parte dos alimentos tradicionais consumidos na dieta da população brasileira, tendo importância por seu conteúdo energético e protéico. Constitui-se da principal fonte de proteína dos brasileiros, seguido pela carne bovina e pelo arroz (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996). O feijão é considerado excelente alimento porque fornece nutrientes essenciais ao ser humano, como proteína, ferro, cálcio, vitaminas, carboidratos, fibras e o aminoácido essencial lisina (RESENDE et al., 2008). Devido ao seu baixo custo em relação às proteínas de origem animal, o feijão é considerado excelente alternativa para o incremento da qualidade nutricional, sendo muitas vezes utilizado em substituição a carne e outros alimentos protéicos.

Os grãos de feijão possuem em média 20 a 25% de proteína, 1 a 20% de fibras alimentares, 60 a 65% de carboidratos, 1 a 3% de lipídeos (GEIL; ANDERSON, 1994). Quanto ao aporte de calorias, o feijão ocupa o terceiro lugar entre os alimentos consumidos, totalizando 11,2% das calorias ingeridas por dia (MESQUITA et al., 2007). Contudo, os teores de aminoácidos essenciais das proteínas do feijão são baixos como, por exemplo, os aminoácidos sulfurados, metionina, cisteína, cistina e triptofano

(SGARBIERI, 1996). A composição em ácidos graxos dos lipídeos do feijão comum é bastante variável, com quantidade substancial de ácidos graxos insaturados (REYES-MORENO; PAREDES-LOPEZ, 1993). Os ácidos graxos insaturados representam cerca de 65 a 87% do total dos lipídeos do feijão e os mais freqüentes são o ácido oléico (7 a 10%), o lionoléico (21 a 28%) e o α -linolênico (37 a 54%) (CHIARIA; GOMES, 1997). Além disso, o feijão comum tem elevado conteúdo de minerais essenciais e baixo teor de sódio (SGARBIERI, 1989).

O consumo diário de feijão está entre 50 a 100 g por dia/pessoa, contribuindo com 28% de proteínas e 12% de calorias ingeridas (DANTAS et al., 2007). Portanto, como alimento básico e sob o ponto de vista quantitativo, o feijão é considerado alimento protéico, embora, seu conteúdo calórico, mineral e vitamínico não possa ser desprezado. O valor nutritivo da proteína do feijão é baixo quando utilizado como única fonte protéica, entretanto, quando combinado com arroz, por exemplo, forma uma mistura de proteínas mais nutritiva. Isto porque, o feijão é pobre em aminoácidos sulfurados, e rico em lisina; e o arroz é pobre em lisina e relativamente rico em aminoácidos sulfurados (BRIGIDE, 2002; VILAS BOAS et al., 2002; MESQUITA et al., 2007; FROTA et al., 2008).

Devido a sua composição, o feijão proporciona vários benefícios à saúde, sendo indicado na prevenção de várias doenças, tais como: distúrbios cardíacos, Diabetes mellitus, obesidade e câncer, preenchendo as principais recomendações dietéticas para a boa saúde: aumento do consumo de fibras, amido e outros carboidratos complexos, e diminuição no consumo de lipídios e sódio. As principais instituições internacionais de incentivo e promoção à saúde indicam a ingestão diária de uma ou mais porções de feijão (BRIGIDE, 2002; MOURA et al., 2005).

2.2 Importância Econômica do Feijão no Brasil

O feijão representa importante fonte protéica, particularmente nas Américas (47% da produção mundial) e no leste e sul da África (10% da produção mundial) (YOKOYAMA, 2003). Esse legume é cultivado em mais de 100 países, estando 63% da produção concentrada em apenas 5 países (FERREIRA, 2008) dentre os quais se encontram o Brasil, Índia, China, Estados Unidos e México (FAO, 2005).

No Brasil o feijão se encontra entre os principais itens produzidos, com participação na produção de cereais, leguminosas e oleaginosas (Figura 1).

Figura 1 – Percentual da participação do feijão na produção de cereais, leguminosas e oleaginosas no Brasil

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2007)

O Brasil destaca-se como maior produtor e consumidor de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor nacional, com aproximadamente 15% do total produzido (CENTRO DE INTELIGÊNCIA DO FEIJÃO – CONAB, 2008). A variação na produção brasileira de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das safras de 2000/2001 a 2006/2007 é mostrada na Figura 2.

Figura 2 – Produção, área plantada e rendimento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) – Safras de 200/2001 a 2006/2007

Fonte: SILVA (2007) apud IBGE (2008)

Dentre os maiores produtores estão Paraná, Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Goiás (ARAGÃO; VIANNA; RECH, 1998). A Tabela 1 mostra volume de produção dos principais estados produtores brasileiros.

Tabela 1 – Área plantada, produção e produtividade do feijão por estados brasileiros
feijão total (1º, 2º e 3ª safra) safras 2009/2010 e 2010/2011

REGIÃO/UF	ÁREA (Em mil ha)			PRODUTIVIDADE (Em Kg/ha)			PRODUÇÃO (Em mi t)		
	Safra 09/10 (a)	Safra 10/11 (b)	VAR. % (b/a)	Safra 09/10 (c)	Safra 10/11 (d)	VAR. % (d/c)	Safra 09/10 (e)	Safra 10/11 (f)	VAR. % (f/e)
NORTE	143,0	141,6	(1,0)	573,0	764,0	33,3	81,9	108,2	32,1
RR	3,0	3,0	-	667,0	667,0	-	2,0	2,0	-
RO	58,2	44,5	(23,5)	236,0	735,0	211,4	13,7	32,7	138,7
AC	10,2	12,5	22,5	571,0	514,0	(10,0)	5,8	6,4	10,3
AM	3,0	5,2	73,3	900,0	900,0	-	2,7	4,7	74,1
AP	1,9	1,7	(10,5)	832,0	780,0	(6,3)	1,6	1,3	(18,8)
PA	40,0	51,0	27,5	700,0	720,0	2,9	28,0	36,7	31,1
TO	26,7	23,7	(11,2)	1051,0	1028,0	(2,2)	28,1	24,4	(13,2)
NORDESTE	1843,6	2045,6	11,0	379,0	512,0	35,1	698,1	1045,5	50,1
MA	85,0	88,2	3,8	329,0	469,0	42,6	28,0	41,4	47,9
PI	213,8	236,6	10,7	160,0	416,0	160,3	34,1	98,4	188,6
CE	458,2	476,1	3,9	184,0	431,0	133,9	84,5	205,3	143,0
RN	31,8	71,5	124,8	252,0	565,0	124,2	8,0	40,4	405,0
PB	73,0	184,0	152,1	50,0	401,0	702,0	3,7	73,8	1894,6
PE	264,6	306,7	15,9	334,0	423,0	26,4	88,5	129,7	46,6
AL	62,6	66,4	6,1	540,0	485,0	(10,2)	33,8	32,2	(4,7)
SE	42,6	36,0	(15,5)	635,0	800,0	26,0	27,1	28,8	6,3
BA	612,0	580,1	(5,2)	638,0	685,0	7,4	390,4	397,5	1,8
CENTRO-OESTE	257,7	376,2	46,0	1914,0	1581,0	(17,4)	493,2	594,8	20,6
MT	103,8	230,1	121,7	1165,0	1124,0	(3,5)	120,9	258,6	113,9
MS	23,7	19,2	(19,0)	1456,0	1259,0	(13,5)	34,5	24,2	(29,9)
GO	113,0	107,3	(5,0)	2556,0	2356,0	(7,8)	288,8	252,8	(12,5)
DF	17,2	19,6	14,0	2851,0	3018,0	5,9	49,0	59,2	20,8
SUDESTE	626,5	595,2	5,0	1552,0	1614,0	4,0	972,1	960,4	1,2
MG	419,6	404,1	(3,7)	1486,0	1483,0	(0,2)	623,7	599,4	(3,9)
ES	21,7	25,8	18,9	1170,0	850,0	(27,4)	25,4	21,9	(13,8)
RJ	4,6	2,6	(43,5)	960,0	1310,0	36,4	4,4	3,4	(22,7)
SP	180,6	162,7	(9,9)	1764,0	2063,0	17,0	318,6	335,7	5,4
SUL	738,0	713,7	3,3	1460,0	1522,0	4,2	1077,2	1086,2	0,8
PR	521,1	517,3	(0,7)	1524,0	1550,0	1,7	794,2	801,8	1,0
SC	110,2	104,0	(5,6)	1522,0	1543,0	1,4	157,7	160,5	(4,3)
RS	106,7	92,4	(13,4)	1080,0	1341,0	24,1	115,3	123,9	7,5
NORTE/NORDESTE	1986,6	2187,2	10,1	393,0	528,0	34,4	780,0	1157,7	48,2
CENTRO-SUL	1622,2	1685,1	3,9	1567,0	1567,0	-	2542,5	2641,4	3,9
BRASIL	3608,8	3782,3	7,3	921,0	981,0	6,5	3322,5	3796,9	14,3

Fonte: Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB – Levantamento: Julho/2011

No Brasil, a produção de feijão se concentra nos pequenos produtores. Aproximadamente 80% da produção e da área de cultivo do feijão estão em propriedades menores que 100 hectares (ARAGÃO; VIANNA; RECH, 1998). O feijão é considerado um dos produtos agrícolas de maior importância econômica-social devido à mão-de-obra empregada durante o ciclo de cultura. Em Minas Gerais, cerca de 7

milhões de homens por dia/ciclo de produção são empregados no cultivo do feijão, envolvendo aproximadamente 295.000 produtores (WANDER; RAMALHO; ANDRADE, 2005).

O Brasil é também o maior consumidor de feijão, com consumo estimado em 16 kg/ano por habitante (CONAB, 2008; EMBRAPA-CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE ARROZ E FEIJÃO - CNPAF, 2008). Entretanto, de acordo com Ferreira (1983) o consumo de feijão vem diminuindo nos últimos quarenta anos, passando de 20 kg/habitante na década de 70 para 16 kg/habitante na década de 90. Segundo Wander, Ramalho e Andrade (2005) o consumo per capita de feijão no Brasil passou por redução de 12%, passando de 18,5 kg/ano em 1975 para 16,3 kg/ano em 2002.

O gráfico apresentado na figura 3 mostra consumo per capita do feijão no Brasil de 1972 a 2008.

Figura 3 – Consumo per capita de feijão no Brasil nos anos de 1972 a 2008.

Fonte: CONAB (2008)

Essa redução no consumo de feijão poderia estar associada ao maior acesso da população a produtos de origem animal, principalmente a carne bovina. Como forma de complementação da dieta, essa leguminosa poderia estar sendo substituída por outras fontes protéicas. Esse fato ressalta a importância do feijão como alimento, já que com o maior consumo de proteínas de origem animal verificou-se também aumento no número de doenças degenerativas. Vários estudos têm comprovado os efeitos benéficos do feijão como parte da dieta, reforçando ainda mais a importância dessa

leguminosa, que se mostra como uma alternativa em casos de hipertensão, obesidade entre outros (WANDER; RAMALHO; ANDRADE, 2005).

Dentre algumas características que podem determinar o consumo de feijão estão à cor, o tamanho e o brilho do grão. O halo pode influenciar na sua comercialização. A maior aceitabilidade é pelos grãos menores e opacos (AIDAR, 2003).

No Brasil o consumo do feijão preto se concentra em maior parte nos estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, abrangendo em menor escala, o Paraná, Santa Catarina e Espírito Santo. O feijão preto representa 17% dos feijões consumidos no Brasil (SEIJAS et al., 2007). O feijão cores é mais consumido nos estados centrais, em parte do Paraná e Santa Catarina. O feijão macaçar é tipicamente consumido na Região Nordeste (CONAB, 2008).

2.3 Cultivar BRS Pérola

A BRS Pérola é uma variedade cultivada de feijoeiro comum, com tipo de grão carioca que apresenta alto rendimento de grãos. Além disso, possui resistência à ferrugem, ao mosaico-comum, à murcha-de-fusarium, porém, é suscetível à antracnose, e é suscetível à mancha angular. Possui hábito II/III (semi-ereto a prostrado), ciclo normal (90-100 dias), floração média com 46 dias, cor do grão creme com rajas marrom-claras. O peso médio de 100 grãos é cerca de 25g (LANA et al., 2006). É referência de tipo comercial de grão carioca e também de seleção para tipo comercial de grão carioca dentro dos programas de melhoramento genético do feijoeiro comum (LANNA et al., 2004). É responsável ao incremento de fósforo (LANA et al., 2006).

Originado no Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão – EMBRAPA proveniente de seleção da cultivar Aporé (linhagem LR 720982 CPL 53). Foi avaliada em 57 ambientes, nos ensaios regionais de feijão realizados nos Estados de Bahia (Região do Além São Francisco), Goiás (incluindo o Distrito Federal), Mato Grosso e Minas Gerais. Foi lançada com o nome Pérola em outubro de 1996, com recomendação estendida para Mato Grosso do Sul, em 1996, Paraná, em 1997, e Rio Grande do Norte, Acre, Rondônia e Espírito Santo, em 1998 (YOKOYAMA et al., 1999).

Sua qualidade de grão é semelhante a das cultivares Aporé e Carioca, principalmente quanto ao tempo de cozimento (YOKOYAMA et al., 1999).

2.4 Fatores Antinutricionais presentes nas Leguminosas

Os feijões preenchem as principais recomendações dietéticas para a boa saúde: consumo de fibras, amido e outros carboidratos complexos, baixo consumo de lipídeos e sódio, e, por isso, as principais instituições internacionais de apoio e promoção à saúde indicam a ingestão diária de uma ou mais porções de feijão (GEIL e ANDERSON, 1994)

Apesar de tais vantagens, os feijões apresentam algumas características indesejáveis que limitam sua aceitabilidade ou seu valor nutricional, tais como: o fenômeno *hard to cook* e a presença de fatores antinutricionais (VILLAVICENCIO et al., 2000; MUBARAK, 2005; SANGRONIS et al., 2006; SHIMELIS et al., 2007; RAMÍREZ-CÁRDENAS et al., 2008), o que contribui com a diminuição do valor nutricional das suas proteínas e a biodisponibilidade dos nutrientes (CÁRDENAS et al., 2008; RAMIREZ-CARDENAS et al., 2008). Define-se a biodisponibilidade de um nutriente como a proporção do conteúdo total do nutriente em um alimento, refeição ou dieta que é utilizada para as funções metabólicas normais (LESTIENNE et al., 2005). A influência negativa na absorção destes minerais é nutricionalmente importante, especialmente em alguns países em desenvolvimento, onde as leguminosas combinadas aos cereais representam importante fonte de diversos nutrientes para vários segmentos populacionais (HOUSE et al., 2002; SANDBERG, 2002).

Entre os fatores antinutricionais, o feijão comum contém principalmente taninos condensados, flavonóides, ácidos fenólicos e cumarinas que são compostos fenólicos, inibidor de tripsina, lectinas e ácido fítico (VIDAL-VALVERDE et al., 1997; EL-NIELY, 2007; RANILLA et al., 2007; ROCHA-GUZMÁN et al., 2007), que é a principal forma de armazenamento de fósforo. A ação antinutricional de taninos e fitatos estão baseadas na capacidade de formar complexos insolúveis com minerais, proteínas e amidos biologicamente indisponíveis para seres humanos em condições fisiológicas normais (AMAROWICZ et al., 2008). Entretanto, o ácido fítico e os compostos fenólicos, quando em baixas concentrações (6,5 e 9,3 gKg⁻¹), apresentam também efeitos positivos sobre a saúde como ação protetora frente ao câncer e prevenção de

enfermidades cardiovasculares (OOMAH et al., 2005; RAMIREZ-CARDENAS et al., 2008).

Os polifenóis localizam-se principalmente no tegumento do grão, nas variedades coloridas de feijão comum (RAMIREZ-CÁRDENAS, 2006). Os polifenóis dentre os fatores antinutricionais, são os que mais contribuem para a baixa digestibilidade do feijão em humanos e animais, e isto pode ser explicado pela formação de complexos entre os polifenóis e as proteínas, os quais são insolúveis e de baixa digestibilidade, tornando a proteína parcialmente indisponível, ou pela inibição de enzimas digestivas e pelo aumento do nitrogênio fecal (SATHE, 2002). Os compostos fenólicos podem também inibir a biodisponibilidade de certos minerais como o zinco (RAMIREZ-CÁRDENAS, 2006).

Quimicamente são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo os seus grupos funcionais (LEE et al., 2005). Possuem uma estrutura variável sendo multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, entre eles, destacam-se os ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados), os flavonóides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), os fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (RAMIREZ-CÁRDENAS, 2006). Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização. Encontram-se presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (BRAVO, 1998). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos deve-se, sobretudo às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características têm papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e na quelação de metais de transição, atuando tanto na etapa de iniciação como no desenvolvimento do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação dos antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (RAMAKRISHNA et al., 2006; ANDRADE et al., 2007).

Os flavonóides são metabólitos secundários polifenólicos, biossintetizados a partir das vias do acetato e do chiquimato. Essa classe de composto é amplamente distribuída na natureza, sendo que o número de estruturas identificadas já ultrapassa 4200, constituindo, assim, o grupo polifenólico mais diversificado entre os alimentos.

Inúmeras funções têm sido atribuídas aos flavonóides, em particular a atividade antioxidante. Esta propriedade, evidenciada em diferentes sistemas experimentais, depende da estrutura e dos substituintes dos anéis heterocíclicos. A presença de uma estrutura o-di-OH no anel B, uma dupla ligação 2,3 em conjugação com uma função 4-oxo e a presença adicional de grupos 3-OH e 5-OH no anel heterocíclico, são determinantes para a atividade antioxidante desses compostos (DORTA, 2007).

Estão presentes em todas as partes das plantas, desde as raízes, até as folhas e frutos, sendo encontrados nos vacúolos das células. Podem ser encontrados em forma livre (agliconas) ou ligados com açúcares (glicosídeos). São classificados como antocianidinas (apigenina, cianidina), flavonas (crisina, apigenina, rutina, luteolina), flavonóis (canferol, quercetina, miricetina, tamarixetina), flavonas (naringina, naringenina, taxifolin), catequinas (epicatequina), dihidroflavonóis (flavononóis), chalconas e isoflavonas (genistina, genisteína, daidizina e daidzeína) (TIVERON, 2010). Tal diversidade ocorre devido às transformações que estes compostos podem sofrer como hidroxilação, metilação de grupos hidroxila ou do núcleo dos flavonóides, dimerização (produzindo biflavonóides), glicosilação de grupos hidroxila (produzindo O-glicosídeos) ou do núcleo dos flavonóides (produzindo C-glicosídeos) (MARKHAM, 1982).

Segundo Reische, Lillard e Eitenmiller (2002), os flavonóides podem agir como quelantes de metais, ou ainda como antioxidantes primários, como sequestrantes do ânion superóxido.

Beninger e Hosfield (2003), testando a atividade antioxidante de flavonóides, pigmentos das plantas, encontrado em 12 linhagens comuns de feijões, observaram que estes antioxidantes destroem radicais livres, que são substâncias químicas ativas cujo excesso foi relacionado com doenças do coração, câncer e envelhecimento. O feijão do tipo preto possui maior quantidade de flavonóides, tendo assim maior atividade antioxidante, que os outros feijões, seguidos por vermelho, marrom, amarelo e feijão branco. Em geral, as sementes coloridas mais escuras foram associadas a níveis mais altos de flavonóides tendo, portanto, atividade antioxidante mais ativo no feijão.

Os taninos são definidos como compostos fenólicos solúveis em água, com peso molecular entre 500 e 3000 kDa e habilidades para precipitar proteína (SILVA et

al., 1999). Mais especificamente os taninos são compostos de alto peso molecular, que contêm suficientes grupos hidroxila fenólica, para permitir a formação de ligações cruzadas estáveis com proteínas. Têm recebido atenção considerável devido a sua possível influência na qualidade nutricional e estética do alimento, funções bioquímicas e fisiológicas e implicações farmacológicas e toxicológicas (MWIKYA et al., 2001; ISLAM et al., 2003). Embora os taninos sejam quimicamente um grupo diversificado e não bem definido, eles são normalmente divididos em taninos hidrolisáveis e taninos condensados (SCHOFIELD et al., 2001). Os taninos hidrolisáveis são facilmente hidrolisados, química ou enzimaticamente, e podem ser quebrados em açúcares, ácidos carboxílicos e compostos fenólicos simples; já os taninos condensados são os mais difundidos e típicos entre taninos de plantas e consistem de oligômeros dos “flavan-3-ols” (catequinas) ou flavan-3,4-diols (leucoantocianinas) e resíduos flavonóides que produzem tipicamente antocianinas (cianidina e pelargonidia) na degradação ácida (RAMIREZ-CÁRDENAS, 2006). Os taninos condensados estão presentes na fração da fibra alimentar de diferentes alimentos e podem ser considerados indigeríveis ou pobremente digeríveis (BONETT et al., 2007).

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

São encontrados principalmente na casca da semente, sendo responsável pela baixa disponibilidade de ferro, baixa digestibilidade de proteína em feijões, inibição do crescimento e aumento da excreção de nitrogênio fecal em alimentos (MENDONÇA et al., 2003; EL-NIELY, 2007; ISLAM et al., 2003), diminuindo com isso o valor nutricional das leguminosas (MWIKYA et al., 2001). Os taninos do feijão possuem a capacidade de formar complexos com a faseolina *in vitro*, basicamente por meio de interações hidrofóbicas, produzindo diminuição significativa na digestibilidade dessas proteínas, tanto na forma nativa como na desnaturada, mesmo em concentrações elevadas de proteases (MENDONÇA et al., 2003). Estes compostos na dieta podem formar complexo insolúvel com ferro, no trato intestinal e com isso reduzir a biodisponibilidade de ferro solúvel. O nível desses taninos está relacionado com a cor da semente: o branco possui quantidades muito baixas, enquanto o vermelho e o preto

têm teores significativamente maiores. Além dos taninos, nos feijões crus encontram-se outros antinutricionais, tais como inibidores das enzimas proteases e lectinas (SCHOFIELD et al., 2001; BRIGIDE, 2002).

Foi verificado que o conteúdo de taninos em feijões depende, em grande parte, da presença ou não do tegumento e de sua coloração, como também esse conteúdo é variável, dependendo do grupo comercial do feijão pois o branco possui quantidades muito baixas, enquanto o vermelho e o preto têm níveis significativamente maiores (CHIARIA; GOMES, 1997). Portanto, a maior concentração de polifenóis é encontrada em cascas de sementes coloridas e, por isso, as cascas de sementes apresentam menor digestibilidade que o feijão integral e seu endosperma, provavelmente por conterem teores relativamente elevados de componentes fenólicos e fitatos, sendo que a remoção do revestimento da semente aumenta a digestibilidade da proteína (PEREIRA; COSTA, 2002).

Conforme Bressani et al. (1982) o efeito dos polifenóis na digestibilidade das proteínas das leguminosas é relativamente pequeno, influenciando apenas 7 % da digestibilidade verdadeira, enquanto o inibidor de tripsina possa influenciar 25% da digestibilidade das proteínas. Entretanto, considerações epidemiológicas indicam alguma relação entre câncer esofágico e ingestão de taninos (BONETT et al., 2007).

De maneira geral, os inibidores de proteases se definem como aqueles compostos que estão presentes de forma natural em alguns alimentos e atuam provocando perda de nutrientes essenciais, ou interferindo em sua utilização e função metabólica (BONETT et al., 2007). São substâncias de natureza protéica que interferem na atividade de sistemas enzimáticos do trato digestivo, inibindo especialmente proteases, que são enzimas que hidrolisam as ligações peptídicas como primeiro passo para a assimilação das proteínas, resultando na reduzida disponibilidade de aminoácidos (ALMEIDA et al., 2008). Em adição, os inibidores de proteases foram associados com a inibição do crescimento e a hipertrofia pancreática em alguns animais experimentais (BONETT et al., 2007; ALMEIDA et al., 2008). Os inibidores de proteases concentram-se nas sementes e apresentam baixa qualidade nutricional, por causa da sua composição aminoacídica peculiar e dos teores reduzidos de metionina, glicina, valina, fenilalanina e triptofano. Apesar de representarem apenas 2,5% da proteína total

do feijão, contribuem com cerca de 40% do conteúdo total de cisteína. No entanto, esse aminoácido não seria biodisponível, em razão da alta resistência ao ataque enzimático apresentada pelos inibidores (CHIARADIA; GOMES, 1997; BONETT et al., 2007).

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

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

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

O ácido fítico conhecido também como ácido hexafosfórico mio-inositol ou cientificamente 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexaquis (diidrogênio fosfato) mio inositol (SILVA et al., 1999; TOLEDO et al., 2008) está presente em todo o reino vegetal e seus teores em feijões comuns variam de 0,6 a 2,7% e estão concentrados nos corpos protéicos (cristais globóides) do endosperma (RAMÍREZ-CÁRDENAS, 2006). Sua molécula possui seis prótons fortemente dissociados com pK's menores do que 3,5 e seis prótons fracamente dissociáveis com pK's entre 4,6 e 10, sugerindo forte potencial quelante da estrutura, podendo complexar-se com minerais, com cálcio, ferro e zinco, e com proteínas, comprometendo a digestibilidade das mesmas (SILVA et al., 1999; TOLEDO et al., 2008). Por outro lado, a capacidade antioxidante do ácidofítico faz com que este contribua também com o aumento do tempo de dormência da semente, já que previne a

peroxidação de lipídios (MARTINEZ-DOMÍNGUEZ et al., 2002). Seu papel fisiológico tem sido descrito como estoque de ferro, reserva de grupos fosfatos reativos, estoque energético, fonte de cátions e inibição da dormência (SILVA et al., 1999; BONETT et al., 2007).

Durante a estocagem, fermentação, germinação, processamento e digestão dos grãos e sementes, o ácido fítico pode ser parcialmente desfosforilado para produzir compostos pentafofato (IP_5), tetrafofato (IP_4), trifosfato (IP_3) e possivelmente inositol difosfato (IP_2) e monofosfato (IP_1), por ação de fitases endógenas (SILVA et al., 1999). Somente IP_5 e IP_6 têm efeito negativo na disponibilidade de minerais (BONETT et al., 2007). Os demais compostos formados, tais como IP_1 , IP_2 , IP_3 e IP_4 , possuem baixa capacidade de se ligar a minerais ou os complexos formados são mais solúveis (SILVA et al., 1999; MWIKYA et al., 2001). Esta enzima catalisa a hidrólise, *in vivo*, de fitato produzindo inositol e ácido fosfórico, está presente em muitas leguminosas e é particularmente ativa em sementes germinantes (STANLEY; AGUILERA, 1985). Mas, esta enzima é termolábil, sendo observado que processamento térmico (por exemplo, extrusão) aumenta a insolubilidade do complexo mineral-ácido fítico devido à inativação de fitase endógena (RICKARD; THOMPSON, 1997).

Alguns fatores, tais como, pH, concentração e presença de outros minerais influenciam a ligação de minerais ao fitato. Nos alimentos, sob condições naturais, o ácido fítico encontra-se carregado negativamente, o que lhe confere alto potencial para complexação com moléculas carregadas positivamente como minerais e proteínas. Esta interação é pH dependente. Os íons minerais podem se ligar com um ou mais grupos fosfatos e com uma ou mais moléculas de ácido fítico, formando complexos de variada solubilidade e estabilidade. Entretanto, as proteínas carregadas positivamente a um pH abaixo de seu ponto isoelétrico, podem ligar diretamente o ácido fítico através de atrações eletrostáticas (SILVA et al., 1999). A um pH intermédio acima do ponto isoelétrico, a ligação entre ácido fítico e proteínas é mediada por cátions multivalentes como cálcio desde que ambas partículas estejam carregadas negativamente (RICKARD; THOMPSON, 1997). Tais complexos proteína-mineral-fitato podem ter uma resistência diferente para a proteólise que a proteína só ou os complexos proteína-fitato ou proteína-mineral (SATHE, 2002). A elevado pH o complexo ácido fítico-cátion-

proteína pode se dissociar com precipitação do ácido fítico como cátion-ácido fítico (RICKARD; THOMPSON, 1997).

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

Muitos estudos têm demonstrado que o ácido fítico reduz a absorção intestinal de minerais essenciais como ferro, zinco e cálcio, tanto em animais quanto em humanos, reduzindo sua biodisponibilidade (RAMIREZ CÁRDENAS, 2006; ALMEIDA et al., 2008). O grau em que a absorção mineral é prejudicada vai depender tanto da relativa concentração de ácido fítico e do mineral como também da força de ligação, por isso, existe grande preocupação de que o consumo de alimentos ricos em fitatos possa conduzir a desnutrição devido à reduzida absorção mineral (HARLAND; NARULA, 1999).

As lectinas (ou hemaglutininas), também considerado um fator antinutricional, são proteínas não pertencentes ao sistema imunológico, porém capazes de reconhecer sítios específicos em moléculas e ligar-se reversivelmente a carboidratos, sem alterar a estrutura covalente das ligações glicosídicas dos sítios (SILVA et al., 2000; ALMEIDA et al., 2008; ZHANG et al., 2009). As lectinas são acumuladas nos vacúolos das proteínas das sementes de armazenamento e nos cotilédones e são degradados durante a germinação das sementes (ORF et al., 1979; PUSZTAI, 1991). Encontradas em ampla variedade de espécies de plantas e animais, entretanto, estas substâncias estão presentes em maior quantidade em grãos de leguminosas e gramíneas (SILVA et al., 2000). Sua presença nos cotilédones e endosperma varia de 2% a 10% do total de proteínas (BONETT et al., 2007).

O conteúdo, a toxicidade e as propriedades biológicas de lectinas de *Phaseolus vulgaris* dependem da variedade. Embora alguns cultivares de feijão contenha apenas pequenas concentrações de lectinas nas sementes, naqueles cultivares onde estão presentes, representam de 6 a 12% do conteúdo total de

proteínas (SGARBIERI et al., 1979), sendo que aparecem principalmente nas variedades pigmentadas, quando comparadas com as brancas ou não pigmentadas (CHIARADIA; GOMES, 1997).

O consumo de leguminosas com elevado conteúdo de lectinas causa efeitos tóxicos, podendo levar à morte. As lectinas se ligam às células da mucosa intestinal, causando má-formação, ruptura e lesão no intestino delgado e algumas vezes interferem na absorção de nutrientes no intestino. Uma parte da proteína ligada parece ir para o sistema sanguíneo (CANNIATTI-BRAZACA, 1994; ZHANG et al., 2009).

O fato das lectinas terem larga distribuição em plantas sugere alguma importância fisiológica para estas substâncias. As funções das lectinas podem ser variadas e parecem ter relação com os estádios de maturação e germinação das sementes, assim como parecem ter relação com os mecanismos de defesa da planta contra o ataque de fungos (SILVA et al., 2000).

A inativação ou redução da atividade hemaglutinante a valores negligenciáveis é usualmente obtida por métodos tradicionais de preparo doméstico ou processamento industrial dos alimentos. Embora os efeitos tóxicos das lectinas de leguminosas possam geralmente ser eliminados por tratamento térmico apropriado, algumas condições, como calor seco são poucos efetivas para inativação de lectinas (CANNIATTI-BRAZACA, 1994; SILVA et al., 2000; XU et al., 2008).

Em pesquisas com ratos, quando foram administradas lectinas de feijões crus (*Phaseolus vulgaris* L.) via oral e intraperitoneal, verificou-se que os animais que receberam injeções intraperitoneais de extratos de lectinas tóxicas morreram logo após o tratamento, enquanto que os animais alimentados com dietas contendo lectinas tóxicas apresentaram perda de peso, crescimento reduzido, baixa absorção de nitrogênio, alteração do baço e pâncreas e, após duas semanas, morreram (BONETT et al., 2007).

É importante mencionar que alguns antinutrientes, assim como seus produtos de hidrólise, podem ter também efeitos benéficos para a saúde quando encontrados em pequenas quantidades na dieta. Deste modo, quando consumidos em baixas concentrações, ácido fitico, lectinas, compostos fenólicos, inibidores enzimáticos e saponinas reduzem glicose no sangue, e/ou colesterol e triacilgliceróis. Compostos

fenólicos, ácido fítico, inibidores de proteases, saponinas, lignanos e fitoestrógenos têm demonstrado redução nos riscos de câncer (SHAHIDI, 1997). A dieta vem sendo reconhecida como a primeira linha de defesa na prevenção de diversas doenças, criando um amplo espaço na mídia e na literatura científica acerca dos alimentos funcionais (COSTA, 2003).

2.5 Digestibilidade Protéica do Feijão

Um dos estudos relevantes em leguminosas é a digestibilidade protéica, parâmetro nutricional que avalia o aproveitamento de uma fonte protéica, podendo ser influenciada por vários compostos inibidores de enzimas digestivas, hemaglutininas, polifenóis, entre outros fatores (CRUZ et al., 2003; MENDONÇA et al., 2003; MESQUITA et al., 2007).

Apesar do feijão ser alimento com alto valor protéico sua digestibilidade é inferior quando comparada as proteínas de origem animal. Isso ocorre devido aos baixos teores em aminoácidos essenciais, particularmente os sulfurados, metionina, cisteína, além do triptofano. Estudos *in vitro* avaliando a digestibilidade de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) demonstraram que esta situou-se entre 76,8 e 84,1% .O aumento na pigmentação do grão ocasionou diminuição na digestibilidade. Isso pode ser atribuído ao fato de que os pigmentos são, em geral, compostos fenólicos, os quais podem interagir com proteínas do feijão, interferindo na sua biodisponibilidade (YAMAGUISHI, 2008).

A dificuldade na digestão do grão também pode ser associada a substâncias de natureza antinutricional como os inibidores de proteases e de amilases, lectinas, taninos, fitatos, oligossacarídeos da família rafinose (rafinose, estaquiose e verbascose) (MESQUITA et al., 2007; YAMAGUISHI, 2008).

Melhor conhecimento das causas da baixa digestibilidade das proteínas das leguminosas pode contribuir significativamente para sua melhor utilização (MESQUITA et al., 2007). Acredita-se poder haver, com a retirada da casca, aumento da propriedade de digestão das proteínas do feijão pela eliminação de alguns fatores antinutricionais, como os taninos. O isolamento das frações protéicas poderia permitir a verificação do

grau de influência de complexantes de proteínas na sua digestibilidade (FROTA et al., 2008).

Alguns métodos são utilizados para melhorar a qualidade nutricional dos grãos, dentre eles, o descascamento, a maceração, o cozimento, e a germinação. Porém, os efeitos variam dependendo da cultivar e do tratamento (RAMAKRISHNA et al., 2006; SHIMELIS et al., 2007; RAMIREZ-CARDENÁS et al., 2008).

2.6 Carotenóides

Os carotenóides constituem um dos mais importantes grupos de pigmentos na natureza, devido às suas numerosas funções, pela larga distribuição e diversidade estrutural (OLIVER & PALOU, 2000). Protegem as células vegetais da oxidação e, por conseguinte, de sua decomposição. No organismo humano atuam como antioxidantes, que protegem as membranas celulares da ação dos radicais livres (CANDELAS et al., 2005).

Uma das principais funções dos carotenóides é a atividade provitamínica A. A vitamina A é essencial para a diferenciação celular, a visão, o crescimento ósseo, a reprodução e a integração do sistema imunológico, sendo que sua deficiência resulta em anemia (LAYRISSE, 2000). Mais recentemente, efeitos benéficos de carotenóides na prevenção de cânceres, doenças coronárias e degeneração macular foram reconhecidos e estimularam intensas investigações sobre a função desses compostos como antioxidantes e como reguladores de resposta do sistema imune (UENOJO et al., 2007). Segundo Stahl e Sies (2003) os carotenóides fazem parte do sistema de defesa antioxidante em humanos e animais. Devido à sua estrutura atuam protegendo as estruturas lipídicas da oxidação por sequestro de radicais livres gerados no processo foto-oxidativo.

Os carotenóides acumulam-se em cloroplastos de todas as plantas verdes como uma mistura de α e β -carotenos, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina, violaxantina e neoxantina, estando complexados não-covalentemente com proteínas. As funções dos carotenóides na fotossíntese são: pigmento para absorção de luz e fotoprotetores contra danos oxidativos (DELGADO-VARGAS et al., 2000).

O teor de carotenóides dos vegetais pode ser afetado por uma série de fatores como: o grau de maturação, o tipo de solo e as condições de cultivo, as condições climáticas, a variedade dos vegetais, a parte da planta consumida, o efeito dos agrotóxicos, a exposição à luz solar, germinação, as condições de processamento e a estocagem (RODRIGUEZ-AMAYA, 2000).

2.7 Clorofila

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais. Estudos em uma grande variedade de plantas caracterizaram que os pigmentos clorofilianos são os mesmos. As diferenças aparentes na cor do vegetal são devidas à presença e distribuição variável de outros pigmentos associados, como os carotenóides, os quais acompanham as clorofilas (VONELBE, 2000).

Quimicamente, a clorofila não é uma molécula isolada, mas compreende uma família de substâncias semelhantes entre si, designadas de clorofila *a*, *b*, *c* e *d*. Estruturalmente são moléculas complexas, pertencentes à classe das porfirinas, tendo como átomo central o magnésio, formadas por 4 anéis pirrólicos e um quinto anel isocíclico, localizado ao lado do terceiro anel pirrólico. Os anéis estão ligados entre si por pontes metilênicas e a molécula contém um átomo de magnésio no seu interior, coordenado aos anéis. No quarto anel pirrólico, o ácido propiônico ali existente é esterificado por um álcool acíclico de cadeia longa, geralmente o fitol, conferindo à clorofila um caráter hidrofóbico (RUDIGER; SCHOCH, 1988; GROSS, 1991).

A clorofila **a**, a mais abundante e a mais importante dessa família, corresponde a aproximadamente 75% dos pigmentos verdes encontrados nos vegetais (GROSS, 1991). A Chl *a* é o pigmento utilizado para realizar a fotoquímica (o primeiro estágio do processo fotossintético), enquanto que os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios. Os principais pigmentos acessórios também incluem outros tipos de clorofilas: Chl *b*, presente em vegetais superiores, algas verdes e algumas bactérias; Chl *c*, em feofitas e diatomáceas; e Chl *d*, em algas vermelhas (TAIZ & ZIEGER, 2004). Estruturalmente, a clorofila **b** difere da clorofila **a**

por uma pequena variação na substituição no anel pirrólico II. (SCHWARTZ; LORENZO, 1990).

As plantas são capazes de transformar clorofila b em clorofila a através da ação da clorofila b redutase (ROCA et al., 2004) , tendo assim a capacidade de adaptar o aparelho fotossintético à intensidade da luz solar, mas o processo responsável não é descrito (KRAUTLER, 2003).

As clorofilas localizam-se nos cloroplastos, sendo esta organela o continente da fotossíntese, isto é, onde ocorrem as duas reações importantes: a fotoquímica, nas membranas dos tilacóides e a bioquímica, no estroma do cloroplasto. Tais organelas, além das clorofilas, contêm outros pigmentos chamados acessórios, como os carotenóides (carotenos e xantofilas), os quais estão envolvidos na fotossíntese. As ligações entre as moléculas de clorofilas são muito frágeis (não-covalentes), rompendo-se com facilidade ao macerar o tecido em solventes orgânicos (VON ELBE, 2000; MUSSI, 2003).

2.8 Atividade Antioxidante

Embora indispensável para a vida, o oxigênio pode causar danos ao organismo, já que o metabolismo celular promove a formação de radicais livres (KITZBERGER, 2005; BARROS et al., 2008). Esses radicais oxidam vários compostos como proteínas, ácidos nucleicos, DNA e lipídeos, podendo levar à formação de doenças degenerativas (PRAKASH, 2009). A geração de radicais livres pode ocorrer no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana celular. Dentre os radicais livres estão incluídos o superóxido ($O_2^{\cdot-}$), a hidroxila ($OH^{\cdot}$), o hidroperóxido ($HO_2^{\cdot}$), o óxido nítrico ($NO^{\cdot}$) e o dióxido de nitrogênio ($NO_2^{\cdot}$). Destes, a hidroxila é a mais reativa na indução de lesões nas moléculas celulares e o peróxido de hidrogênio, apesar de não ser considerado um radical livre potente, pode atravessar a membrana celular e induzir danos do DNA (BISCARO, 2009).

Esta oxidação provoca inúmeras alterações indesejáveis nos alimentos, as quais podem afetar as características sensoriais dos produtos ou reduzir o seu valor nutricional. Estas razões evidenciam que os antioxidantes apresentam importante papel no processamento e estocagem dos alimentos (KLIMCZAK; PACHOLEK, 2002).

Assim, nos últimos anos, as pesquisas com antioxidantes naturais tiveram grande destaque junto à comunidade científica. As suspeitas de que os antioxidantes sintéticos sejam carcinogênicos têm direcionado os estudos para os compostos naturais, principalmente aqueles encontrados em plantas (SINGH et al., 2002; SOARES, 2002).

Os antioxidantes têm a função de proteger as células do “estresse oxidativo” (CLARKE, 2009), por meio do sequestro dos radicais livres. Estudos epidemiológicos têm demonstrado relação inversa entre o consumo de frutas e vegetais, ricos em antioxidantes, e a ocorrência de doenças como câncer, Alzheimer e aterosclerose (WILLET, 2001). Os antioxidantes mais pesquisados são a vitamina E, vitamina C, carotenóides, e mais recentemente, os compostos fenólicos (DUBOST *et. al.*, 2007).

A determinação da atividade antioxidante dos alimentos, além de predizer o potencial antioxidante do alimento antes de ser ingerido, é importante para avaliar a proteção contra a oxidação e a deterioração do alimento, reações que podem levar à diminuição da sua qualidade e do seu valor nutricional (MORAES; COLLA, 2006).

Inúmeros experimentos acerca das propriedades antioxidantes de diferentes matrizes alimentares e ingredientes isolados têm sido conduzidos empregando diferentes métodos analíticos. Entretanto, a ampla variedade de sistemas de oxidação e de meios de mensuração da atividade antioxidante dificulta a comparação direta de diferentes estudos (SHAN et al., 2005).

Investigações recentes demonstram que existem diferenças entre os métodos para determinação da capacidade antioxidante. Dessa forma, recomenda-se a utilização de pelo menos dois deles (GAHLER et al., 2003).

Esses métodos mostram-se necessários devido à dificuldade de medir cada composto separadamente, e as interações potenciais entre os diferentes antioxidantes no sistema. Foram descritos números métodos de mensuração da atividade antioxidante de substâncias e alimentos, mas todos eles têm em comum a presença de um agente oxidante, um substrato adequado e uma estratégia de medida do ponto final (DUBOST *et. al.*, 2007).

Um dos métodos mais utilizados atualmente para avaliar a atividade antioxidante utiliza o radical DPPH• (1,1-difenil-2-picrilidrazil). O extrato é adicionado a

uma solução metanólica deste radical, e a redução do DPPH• pode ser acompanhada através do decréscimo da absorbância a 515 nm. Quando o DPPH• é reduzido por um antioxidante ou por radicais, a absorbância diminui (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). Os resultados podem ser expressos em % da redução da capacidade antioxidante ou como EC50 (concentração para inibir em 50% a absorbância inicial do radical DPPH•) (KITZBERGUER *et al.*, 2007).

Outro método bastante utilizado é através da captura do radical ABTS (2,2' – azinobis (3 – etilbenzotiazolina – 6 – ácido sulfônico)) que baseia-se na inibição do cátion ABTS por meio dos antioxidantes presentes na amostra. Como no método do DPPH, pode ser verificada a perda de coloração e consequentemente o decréscimo da absorbância a 734 nm. Uma curva padrão é feita com Trolox, um análogo solúvel da vitamina E, usado como antioxidante de referência. Os resultados são expressos em mM equivalente de Trolox em 1 grama ou 100 gramas de amostra (RUFINO *et al.*, 2007; GOMES, 2009).

2.9 Vitamina B₁, B₂ E B₆

Os feijões de modo geral, são citados como um dos principais alimentos fornecedores de tiamina e riboflavina em dietas de populações do estado de São Paulo (RONCADA & MAZZILLI, 1989). Porém a literatura cita que entre as vitaminas hidrossolúveis, a vitamina C e a B₁ são as mais sensíveis durante o processamento dos alimentícios, pois a tiamina, uma vitamina sensível, se degrada em muitos compostos voláteis sob a influência do calor e da luz (FERREIRA, 1983).

A tiamina (vitamina B₁) é uma substância sulfurada e, sob a forma de pirofosfato, participa como coenzima em vários caminhos metabólicos como ciclo do ácido cítrico, glicólise e produção de pentose fosfato (GOLDA *et al.*, 2004). Está especialmente envolvida em várias etapas do metabolismo dos carboidratos e seu requerimento diário depende dos teores dos carboidratos presentes na dieta (CRAIG *et al.*, 2000).

Trata-se de uma vitamina termolábil que se degrada facilmente em meio alcalino. Entretanto, sua estabilidade aumenta com a diminuição do pH. A degradação

pelo calor depende da quantidade de oxigênio, pH, tempo de atuação e natureza dos eletrólitos da solução (FERREIRA, 1983).

Na natureza, a tiamina pode ser encontrada na forma livre ou na forma de sais, como o complexo tiamina-proteína, pirofosfato de tiamina e complexo tiamina fosfoproteína (CHAVES, 1978). No organismo, sua forma ativa é a coenzima pirofosfato de tiamina, encontrada nas células como monofosfato ou pirofosfato e distribuída a todos os tecidos. Cerca de 80% da tiamina total é encontrada nos eritrócitos na forma de tiamina pirofosfato e em pequenas quantidades como tiamina monofosfato e tiamina livre (FINGLAS, 1993).

A tiamina é convertida a TPF (pirofosfato de tiamina), catalisada pela enzima tiamina quinase a partir de tiamina e ATP. A TPF participa nas reações catalisadas pelo α -cetoglutarato desidrogenase e complexo piruvato desidrogenase; este desencadeia a descarboxilação oxidativa do piruvato para formar o acetato e conseqüentemente, o acetil-CoA, principal componente do ciclo do ácido cítrico. A TPF também atua na descarboxilação de outros α -cetoácidos, α -cetoglutarato e cetocarboxilados derivados dos aminoácidos metionina, leucina, isoleucina e valina. Nas reações das transcetolases na via das pentose-fosfato a TPF se faz presente. Apesar destas reações não contribuírem quantitativamente para geração de energia, são as únicas fontes de ribose para a síntese de precursores de ácidos nucleicos e a maior fonte de NADPH, potencial redutor para biossíntese de ácidos graxos e outras vias biossintéticas. Assim, a deficiência da tiamina compromete severamente a produção de energia celular (FERREIRA, 1983; DELVIN, 1997; LYNCH e YOUNG, 2000).

A riboflavina, ou vitamina B₂, é uma vitamina termoestável e insensível ao oxigênio atmosférico. É estável em soluções fortemente ácidas, tornando-se mais resistente ao calor e à oxidação; porém, é instável na presença de álcali, ocorrendo a separação fotoquímica do ribitol (luz ultravioleta) e formando a lumiflavina (7,8-dimetil-10-metil-isoaloxazine). A lumiflavina possui poder oxidante maior do que a riboflavina e pode oxidar outras vitaminas, em especial o ácido ascórbico. Em soluções ácidas ou neutras, a irradiação conduz à formação do lumicromo (7-8-dimetil-aloxazina), uma substância de fluorescência azul (FENNEMA, 1993; FOX e THAYER, 1998).

Na natureza, a vitamina B₂ pode ser encontrada na forma livre (riboflavina) ou fosforilada, como coenzima, nas formas de flavina mononucleotídeo (FMN) e flavina adenina dinucleotídeo (FAD). A conversão da riboflavina em coenzima ocorre no citoplasma celular da maioria dos tecidos, mas, particularmente, no intestino delgado, fígado, coração e rins. A reação de fosforilação é catalisada pela flavoquinase. Esta converte a riboflavina livre em FMN e é dependente do ATP. Esta reação pode ocorrer durante a absorção através da mucosa intestinal. A conversão da FMN em FAD é realizada pela FAD-sintase. Diversas fosfatases podem catalisar a forma FAD em FMN e FMN em riboflavina livre (BRODY, 1993; McCORMICK, 1999).

A riboflavina, na forma de coenzima, participa de uma série de reações de oxirredução, essenciais para a produção de energia e a respiração celular (DELVIN, 1997). As flavoproteínas, enzimas associadas à riboflavina, possuem função de agentes catalisadores das reações de oxirredução nas células e são aceptores e transportadores de elétrons (VALLS et al., 1999). Podem doar elétrons para substratos ou para outros cofatores, isto é NADH⁺, H⁺. São também coenzimas de desidrogenases que catalisam o primeiro passo na oxidação de vários intermediários do metabolismo da glicose e dos ácidos graxos (BRODY, 1993; LYNCH e YOUNG, 2000). A FMN é necessária para a conversão da piridoxina em piridoxal fosfato. A FAD é necessária para a conversão de triptofano em niacina (MAHAN e ARLIN, 1995). Estes cofatores participam no transporte de elétrons no sistema mitocondrial.

Como participa de diversas reações de óxido-redução importantes no metabolismo através dos cofatores FMN e FAD, os quais atuam como carregadores de elétrons, dietas inadequadas de riboflavina, poderiam levar a distúrbios no metabolismo intermediário. Em ratos, a deficiência em riboflavina foi associada a redução tecido-específica na atividade da succinato oxidoredutase (succinato desidrogenase), efeito este que pode ter implicações na produção de energia através da fosforilação oxidativa. Além disto, a β -oxidação de ácidos graxos também é dependente de flavinas como aceptores de elétrons (McCORMICK et al., 1999).

A vitamina B₆ é um termo coletivo para piridoxina, piridoxal e piridoxamina, todos derivados da piridina. Eles diferem apenas do grupo funcional ligado ao anel. A piridoxina é encontrada em alimentos obtidos de animais (RIZZOLO et al., 1992). Todos

os três compostos podem servir como precursores da coenzima biologicamente ativa, o piridoxal-fosfato. O piridoxal-fosfato funciona como uma coenzima para grande número de enzimas, particularmente aquelas que catalisam reações envolvendo aminoácidos. A vitamina B₆ está envolvida como cofator em percursos que incluem o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas (VILLAVICENCIO et al., 2000; GOLDA et al., 2004).

A vitamina B₆ funciona como coenzima de reações de transaminação, descarboxilação e racemização de aminoácidos. O requerimento de vitamina B₆ por animais está positivamente relacionada com a ingestão de proteínas e aminoácidos. A deficiência de vitamina B₆ é raramente vista em animais, pois a maioria das dietas já é adequada (VILLAVICENCIO et al., 2000).

As fontes alimentares de vitamina B₆ são de origem tanto animal como vegetal e está presente em todos os alimentos naturais. As necessidades ainda não estão bem estabelecidas, porém sabe-se que são influenciados pela quantidade de ingestão de proteína na dieta. Quando a ingestão de proteína é mais elevada, a necessidade da vitamina B₆ é maior (SNELL, 1986).

2.10 Germinação de Sementes

A germinação é um fenômeno biológico que pode ser considerado como a retomada do crescimento do embrião, com o subsequente rompimento do tegumento pela radícula. É definida como a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, manifestando a sua capacidade para dar origem a uma plântula normal, sob condições ambientais favoráveis. Em síntese, tendo-se uma semente viável em repouso, por quiescência ou dormência, quando satisfeita uma série de condições externas (do ambiente) e internas (intrínsecas da semente), promoverá o crescimento do embrião, o qual conduzirá à germinação. Por isso, do ponto de vista fisiológico, germinar é simplesmente sair do repouso e entrar em atividade metabólica (NETO, 2004).

Dentre os principais fatores que afetam a germinação podem-se citar: a luz, a temperatura, a disponibilidade de água e o oxigênio. Referente à sensibilidade luminosa, existe ampla variação nas respostas germinativas. Para algumas espécies, a germinação pode ser inibida pela luz, enquanto em outras, a germinação é promovida.

Algumas sementes germinam somente quando expostas à luz e outras, com breve exposição, apesar de muitas se apresentarem indiferentes à luminosidade. Certas sementes germinam somente no escuro e outras necessitam de um curto ou longo fotoperíodo diário. A germinação não está apenas relacionada com a presença ou ausência de luz, mas também com a qualidade de luz (LOURES, 2007).

O processo de germinação tem sido proposto como uma alternativa para melhorar as qualidades nutricionais do grão. Neste processo são reportadas reduções nos teores de ácido fítico dependendo do tempo de germinação e da cultivar estudada (ABDULLAH et al., 1984).

Os efeitos da germinação em sementes sobre a composição química, constituintes bioquímicos e fatores antinutricionais podem variar grandemente com as condições de germinação (temperatura, luz, umidade e tempo), variedades ou cultivares das sementes e os métodos analíticos (BAU et al., 1997).

A germinação de sementes proporciona melhor valor nutritivo, pela maior digestibilidade protéica, além da redução dos fatores antinutricionais nas leguminosas, tais como inibidores proteolíticos e lecitinas, provocando a hidrólise de oligossacarídeos como rafinose e estaquiose, presentes nos grãos, os quais são causadores de flatulência e mais especificamente, em se tratando dos cereais, a germinação reduz o conteúdo de fitatos (ácido fítico combinado com cátions) pelo aumento da atividade da fitase e em ambos tem-se observado, ainda, o aumento da biodisponibilidade de minerais e vitaminas, principalmente da vitamina C (LOURES, 2007). As enzimas fitases são rapidamente ativadas por simples hidratação. Com a ativação das fitases, o ácido fítico é hidrolisado, liberando H_3PO_4 , Mg^{2+} , Ca^{2+} , e inositol, levando a redução no teor de ácido fítico (MENACHO, 2009), porém os efeitos da germinação sobre a composição química, constituintes bioquímicos e fatores antinutricionais podem variar grandemente com as condições de germinação (temperatura, luz, umidade e tempo), variedades ou cultivares das sementes e os métodos analíticos (BAU et al., 1997).

Segundo BRIGIDE (2002), o processo de germinação diminui a quantidade de antinutricionais. A germinação durante cinco dias diminui os teores de inibidores de tripsina, quimiotripsina, alfa-amilase e ácido fítico. Etapas do processamento envolvendo maceração, moagem, cozimento, fermentação, autoclavagem, assim como

a germinação pode reduzir ou destruir quantidades apreciáveis de ácido fítico em cereais e leguminosas.

Estudo realizado por SHIMELIS et al. (2007) que analisaram os efeitos da hidratação, autoclave, germinação, cozimento e suas combinações sobre a redução/eliminação de fatores antinutricionais, produtores de flatulência e à melhoria da digestibilidade das proteínas *in vitro* em feijões, observaram que as quantidades de saponinas, inibidores de tripsina e hemaglutininas, diminuíram drasticamente durante o processo de aquecimento, devido à sensibilidade ao calor. Os processos de hidratação e germinação foram menos eficazes na redução dos inibidores de tripsina, saponinas, hemaglutininas em comparação com o processo de cozimento. O processo de germinação apresentou redução nas quantidades de rafinose, estaquiose, ácido fítico e taninos, devido à atividade metabólica presente. A combinação da germinação seguida por cozimento produziu o resultado mais promissor neste estudo. Assim, em muitos casos, o uso de apenas um único método não é capaz de obter alterações nutricionais desejáveis, como a remoção ou inativação de fatores antinutricionais presentes no grão, sendo necessário à associação de dois ou mais métodos (ABU-TARBOUSH, 1998; SIDDHURAJU; MAKKAR; BECKER, 2002; GHAVIDEL et al., 2007).

Estudo realizado por Ologhobo & Fetuga (1984) citado por Brigide (2002), analisaram os efeitos de remolho, germinação, cocção e autoclavagem quanto aos teores de hemaglutinina, taninos, ácido fítico, inibidores de tripsina em dez variedades de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) cultivadas na Nigéria. Os resultados indicaram que a germinação e remolho foram os tratamentos mais efetivos para diminuição de fitatos, enquanto a germinação e cocção foram os mais efetivos para taninos, confirmando que o método de germinação é adequado para eliminar algumas substâncias indesejáveis.

Outro estudo, feito por Ene-Obong (1995) verificou os níveis de antinutricionais nos cultivares da África yambean (*Sphenostylis stenocarpa*), feijão guandu (*Cajanus cajan*) e feijão de corda (*Vigna unguiculata*) na Nigéria. Concluiu que os antinutricionais (inibidores de tripsina, fitatos e taninos) podem ser eliminados ou reduzidos durante maceração, descascamento, fermentação e germinação, lembrando

que o problema da digestibilidade da proteína vegetal tem sido questionado sobre os efeitos de vários fatores como fitatos, taninos, lectinas entre outros.

2.11 Irradiação de Alimentos

A irradiação de alimentos é um tratamento que consiste em submeter os alimentos, já embalados ou a granel, a uma quantidade minuciosamente controlada de radiação ionizante, por tempo prefixado e com objetivos bem determinados. O processo não aumenta o nível de radioatividade normal dos alimentos (IAEA, 1992).

É considerado um método seguro e eficiente para alguns alimentos podendo reduzir o risco de infecção alimentar e preservá-los com o mínimo de impacto em seu valor nutricional. Além do mais promove diminuição da dureza das sementes e diminuição do tempo de cocção. O processo não aumenta o nível de radioatividade normal dos alimentos. Poderão ser utilizadas, em geral nos alimentos as irradiações ionizantes, cuja energia seja inferior ao limiar das reações nucleares que poderiam induzir radioatividade no material irradiado (BRIGIDE, 2002; ARMELIN et al., 2007).

Além do mais tem se mostrado eficiente tanto na redução de oligossacarídeos, inibidores de tripsina e quimiotripsina (BYUN; KANG; MORI, 1996), quanto no aumento da atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes na soja (VARYAR; LIMAYE; SHARMA, 2004). Por outro lado, pode induzir a formação de radicais livres e desencadear uma série de reações químicas que podem afetar a fração lipídica da soja que é susceptível à oxidação (ZEB; TAUFIQ, 2004).

Segundo EL-NIELY (2007) o processo de radiação melhora a qualidade nutricional do grão, devido à diminuição da concentração do inibidor de tripsina e hemaglutinina, melhorando, com isso a digestibilidade protéica

Estudo realizado por NENÉ, VALUL e STREENIVASAN (1979), encontraram aumento na digestibilidade *in vitro* das proteínas de grãos de feijão irradiados. Essa observação se baseia em digestão proteolítica, e os autores atribuem esse aumento à degradação das proteínas em pequenos fragmentos mais susceptíveis à ação de enzimas ou à parcial destruição dos inibidores de tripsina.

BRIGIDE (2002) estudando a disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiados, observou que o processo de irradiação com

dose de 6 kGy mostrou redução dos fatores antinutricionais no feijão cozido. A irradiação foi efetiva para a disponibilidade do ferro, com conseqüente melhora no valor nutritivo, além de conferir conservação prolongada do grão.

FARAG (1998), reporta que grãos de soja tratados com doses de irradiação de até 10 kGy possuem teores normais de umidade, proteína bruta, gordura e cinza. Essas doses não promovem desnaturação das proteínas, e não afetam o conteúdo de nitrogênio das amostras. Foi relatado por DIEHL e SCHERZ (1975), que o complexo proteína-gordura nos alimentos é mais resistente às alterações promovidas pela irradiação que esses nutrientes em estado puro.

Em geral, a perda de aminoácidos essenciais como resultados do tratamento de irradiação são equivalentes às perdas de aminoácidos não essenciais, e os aminoácidos limitantes da soja não são afetados pela radiação gama (FARAG, 1998).

Em relação às quantidades de proteína total, total de aminoácidos, aminoácidos livres, gordura e perfil lipídico de lentilhas submetidas à irradiação gama com doses de 0,5, 1 e 3 kGy não foram encontradas alterações (HOSSAIN et al., 1988). Nesse estudo, somente aumento insignificante na glicose livre, acompanhado por diminuição na quantidade de amido foi encontrado com o aumento das doses de irradiação nos grãos de lentilha.

DOGBEVI, VACHON e LACROIX (1999), estudaram as alterações promovidas em feijões (leguminosa de valor nutricional semelhante ao da soja) irradiados com doses de 2, 4 e 8 kGy, e encontraram aumento da porcentagem de desaminação protéica e diminuição das ligações sulfúricas com o aumento das doses utilizadas. A desaminação é importante na quantificação do valor nutritivo das proteínas, a hidrólise dos grupamentos finais e ligações peptídicas estão diretamente relacionadas com a digestibilidade (LACROIX; AMIOT; BRISSON, 1983). A direta conseqüência da desaminação é o aumento da solubilidade da proteína devido a conversão de grupos de aminos em grupos hidrofílicos (DOGBEVI; VACHON; LACROIX, 1999). SHIH e KALMAR (1987) mostraram que a desaminação em óleo de grãos de soja resultaram num aumento das propriedades funcionais, como solubilidade e capacidade de emulsificação.

Quanto à degradação dos inibidores de protease expostos à radiação gama este está diretamente relacionado à dose de irradiação. Em grãos de soja o nível de inativação dos inibidores de tripsina aumentam linearmente com as doses de irradiação (41,8, 56,3, 62,7 e 72,5 % de redução da atividade inibitória com doses de radiação de 5, 15, 30 e 60 kGy, respectivamente) (FARAG, 1998). O autor sugere que a efetiva desativação desse fator antinutricional presente na soja pode ser obtido com doses de irradiação superiores a 60 kGy.

2.12 Efeitos de baixas doses de radiação no crescimento de sementes

Com o uso da radiação ionizante, pode-se induzir mutações em sementes criando variedades de plantas capazes de produzir mais, num período de tempo mais curto. Feijão, arroz, trigo, batata, tomate, cana-de-açúcar, mamão, laranja e outros vegetais já foram tratados com raios gama e através de mutações foi possível obter plantas mais resistentes às doenças. Em alguns casos, o valor nutritivo do alimento pode ser melhorado através da variação no teor de proteínas (SILVA, 2005).

A variação do crescimento das plantas em função da dose está relacionada a muitos fatores que incluem a espécie de planta, o estágio em que os tecidos das plantas foram irradiados e as condições ambientais em que foram feitas as irradiações (ZAKA et al., 2004). A radiação interage com a água e cria grande número de radicais com curta meias-vidas, dos quais os óxidos e peróxidos são normalmente os elementos finais. Óxidos e peróxidos atuam na matéria biológica provocando alterações, dentre as quais podemos destacar: iniciam a síntese de proteínas (MOON, 1985; PUNTARULO et al., 1988) e modificam o funcionamento da membrana. Baseando-se nestes conceitos e na literatura existente, conclui-se que este fenômeno pode ocorrer em qualquer espécie de planta ou cultivar e que a resposta ao estímulo de crescimento é detectada imediatamente após a irradiação (na germinação) (SHEPPARD et al., 1990).

TAVCAR (1966) investigou os efeitos da radiação gama sobre sementes de diversas variedades de trigo, cevada e milho, utilizando exposições de 500, 750, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 e 10000 R. Com exceção da dose mais elevada as demais estimularam o crescimento das raízes e folhas, sendo que para cada variedade não mais que duas doses foram efetivas. O autor concluiu que dependendo da variedade

dentro da mesma espécie, respostas semelhantes poderiam ser obtidas com doses diferentes e que a dose estimulante para uma variedade poderia ser até inibitória para outra.

2.13 Análise Sensorial

Apesar do Brasil ser o maior produto de feijão do mundo, há carências de estudo que caracterizam aparência, aroma, textura e sabor dos grãos das diversas variedades de feijão. Porém, tem-se reconhecido a importância das características físicas e sensoriais na aceitação pelos consumidores.

Os métodos sensoriais são utilizados para identificar as características ou propriedades de interesse na qualidade sensorial do alimento. Os testes mais comuns são os de preferência-aceitação, os discriminativos e os descritivos. Em métodos baseados na preferência do consumidor, os julgadores são escolhidos ao acaso e as decisões de aceitação e/ou preferência são obtidas sem o uso de modelo padrão. O teste de aceitação é utilizado quando se deseja conhecer o comportamento afetivo do consumidor com relação ao produto (FELIX, 2005).

A determinação da aceitação pelo consumidor é parte crucial no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos. Para uma triagem inicial ou uma avaliação preliminar da aceitação, a análise é normalmente realizada em condições laboratoriais, com 30-50 julgadores não treinados. Entre os métodos mais empregados para medida da aceitação de produtos está a Escala Hedônica. Nesta escala o provador expressa sua aceitação ou preferência pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida que varia gradativamente com base nos atributos “gosta e desgosta” (CARNEIRO et al., 2005; FELIX, 2005). Preferência pode ser definida como expressão do grau de gostar, escolha de uma amostra em relação à outra, e/ou percepção do agradável até o desagradável, pelos quais se baseiam a escolha. Já a aceitabilidade pode ser definida como uma experiência caracterizada por uma atitude positiva, e/ou pela utilização atual do produto (hábito de comprar ou consumir um alimento) ().

Os testes sensoriais são incluídos como garantia de qualidade por serem uma medida multidimensional integrada, haja vista possuírem importantes vantagens,

tais como: serem capazes de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis; definirem as características sensoriais importantes de um produto de forma rápida e serem capazes de detectar particularidades que não podem ser detectadas por outros procedimentos analíticos (CARNEIRO et al., 2005).

Referências

ABDULLAH, A.; BALDWIN, R.E.; MINOR, H. Germination effects on flatus-causing factors and antinutrients of mungbeans and two strains of small seeds soybeans. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 47, n. 6, p. 441-444, 1984.

ABU-TARBOUSH, H.M. Irradiation Inactivation of some antinutritional factors in plant seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, n.7, p.2698-2702, 1998.

AIDAR, H. P. Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de Produção, Cultivo do feijoeiro comum: características da cultura, 2003. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)**. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptiaembrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm> >. Acesso em: 19 ago. 2010.

ALMEIDA, D.T.; GREINER, R.; FURTUNADO, D.M.N.; TRIGUEIRO, I.N.S.; ARAÚJO, M.P.N. Contend of some antinutritional factors in bean cultivars frequently consumed in Brasil. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v.43, n.2, p. 243-249, 2008.

AMAROWICZ, R.; ESTRELLA, I.; HERNÁNDEZ-TROSZYNSKA. Antioxidant activity of extract of adzuki bean and its fractions. **Journal of Food Lipids**, Trumbull, v.15, n.2, p. 119-136, 2008.

ANDRADE, C.A.; COSTA, C.K.; BORA, K.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.; KERBER, V.A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. cunn. Ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v.17, n.2, p.231-235, Abr./Jun. 2007.

ARAGÃO, J. L.; VIANNA, G. R.; RECH, E. L. Feijão transgênico: um produto da engenharia genética. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, p. 48-51, 1998. Disponível em: < <http://www.biotecnologia.com.br> >. Acesso em: 20 ago.2010.

ARAÚJO, JACQUELINE CAMOLESE DE. **Avaliação de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) para o sistema orgânico de produção**. 2008. 84p. Dissertação (Mestrado na Universidade de São Paulo) – Programa de pós-graduação na área de concentração: Fitotecnia – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queriroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

ARMELIN, J.M.; CANIATTI-BRAZACA, S.G.; PIEDADE, S.M.S.; MACHADO, F.M.V.F.; SPOTO, M.H.F. Avaliação física de feijão carioca irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.3, p.498-502, jul.-set.,2007.

BARROS, L.; CRUZ, T.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. **Food and Chemical Toxicology**, London, v. 46, n.8, p. 2742-2747, 2008.

BAU, H-M.; VILLAUME, C.; NICOLAS, J-P.; MÉJEAN L. Effect of Germination on Chemical Composition, Biochemical Constituents and Antinutritional Factors of Soya Bean (*Glycine max*) Seeds. **Journal of Science and Food Agricultural**, London, v. 73, n.1, p.1/9, 1997.

BENINGER, C.W.; HOSFIELD, G.L. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and purê flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Michigan, v.51, n.12, p.7879-7883, Dec. 2003.

BISCARO, LUCIANA MARINO. **Efeitos da irradiação gama e da cocção sobre aspectos físicos, químicos e sensoriais de cultivares de soja (*Glycine max*) com e sem lipoxigenase**. Piracicaba, 2009. 131p. Dissertação (Mestrado na Universidade de São Paulo) – Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, USP, 2009.

BONETT, L.P.; BAUMGARTNER, M.S.T.; KLEIN, A.C.; SILVA, L.I. Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v.11, n.3, p.235-246, set/dez. 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebenson Wiss Technol**, Amsterdam, v. 22, n.1, p. 25-30, 1995.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, New York, v.56, n.11, p.317-333, 1998.

BRESSANI, R.; ELÍAS, L. G; BRAHAM, J. E. Reduction of digestibility of legume proteins by tannins. **Journal of Plant Foods**, New York, v.4, n.1, p.34-55,1982.

BRIGIDE, PRISCILA. **Disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiados**. Piracicaba, 2002. 71p. Dissertação (Mestrado na Universidade de São Paulo) – Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

BRODY, T. **Nutritional Biochemistry**. New York: Academic Press, 1993. p.437-447.

BYUN, M.W.; KANG, I.J.; KWON, J.K.; HAYASHI, Y.; MORI, T. Physicochemical properties of soybean oil extracted from γ -irradiated soybeans. **Radiation Physics and Chemistry**. Oxford, v. 46, n. 4/6, p. 659 - 662, 1996.

CANDELAS, M. G., ALANÍS, M. G., BAUTISTA, M., DEL RÍO, F. Y GARCÍA, C. Contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersión. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, Cidade do México, v.4, n.1 p.299-307, 2005.

CANNIATTI-BRAZACA, S.G. **Influência das modificações genéticas sobre as características físicas, químicas e nutricionais do feijão Guandu (*Cajanus cajan*, L.)**. 1994. 167p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) - Área Bromatologia – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

CÁRDENAS, L. R.; LEONEL, A. J.; COSTA, N. M. B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de cultivares de feijão comum. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 200-213, jan./mar. 2008.

CARNEIRO, J.C.S.; MINIM, V.P.R.; SOUZA Jr, M.M.; CARNEIRO, J.E.S.; ARAÚJO, G.A.A. Perfil sensorial e aceitabilidade de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.1, p.18-24 jan.-mar. 2005.

CHAVES, N. **Nutrição Básica e Aplicada**. São Paulo: Guanabara Koogan, 1978. p.108-110.

CHIARADIA, A. C. N.; GOMES, J. C. **Feijão: química, nutrição e tecnologia**. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1997. 180p.

CLARKE, J. **Mushrooms, The New Superfood**. Disponível em: http://www.mushroomuk.com/health_professionals/mushroom-superfood.pdf. Acesso em: 23 set. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Feijão total (1ª, 2ª e 3ª safra):** quadro comparativo de área, produção e produtividade, safras 2006/2007 e 2007/2008, 8º levantamento, São Paulo, maio/2008. 37p.

COSTA, N.M.B. Alimentos: Componentes Nutricionais e Funcionais. In: COSTA, N.M.B.; BORÉM, A. **Biotecnologia e Nutrição**. São Paulo: Nobel, 2003. p. 31-69.

CRAIG, I.D.; ASHBY, C.W.; BROWN, I.; CROSBY, N.T. Determination of thiamine and riboflavin pet foods and animal feedingstuffs. **ANALYST**, Cambridge, v.125, n.2, p.353-360, 2000.

CRUZ, G.A.D.R.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V.; GOMES, M.R.A.; COSTA, N.M.B.; BRUMANO, M.H.N.; MOREIRA, M.A. Protein quality and in vivo digestibility of different varieties of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.6, n.2, p.157-162, jul./dez., 2003.

DANTAS, B.F.; RIBEIRO, L.S.; ARAGÃO, C.A. Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n.2, p.106-110, 2007.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains- characteristics, biosynthesis, processing, and storage. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 40, n.3, p. 173-289, 2000.

DELVIN, T.M. **Textbook of biochemistry with clinical correlations**. 4. ed., New York: Wiley-Liss, 1997. p. 1119-1135.

DIEHL, J.F.; SCHERZ, H. Estimation of radiolytic products as a basis for evaluation the wholesomeness of irradiated foods. **International Journal of Applied Radiation and Isotopes**, New York, v. 26, n. 9, p. 499 – 507, 1975.

DOGBEVI, M.K.; VACHON, C.; LACROIX, M. Physicochemical properties of dry red kidney bean proteins and natural microflora as affected by gamma irradiation. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 3, p. 540 – 542, 1999.

DORTA, DANIEL JUNQUEIRA. **Efeitos citoprotetor e/ou citotóxico dos flavonóides: estudo estrutura-atividade envolvendo mecanismos mitocondriais, com ênfase na apoptose**. Ribeirão Preto, 2007. 166p. Tese (Doutorado na Universidade de São Paulo) – Programa de pós-graduação em toxicologia, Universidade de São paulo, Ribeirão Preto, 2007.

DUBOST, N. J.; OU, B.; BEELMAN, R. B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chemistry**, Oxford, v.105, n.2, p. 727–735, 2007.

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

EL-NIELY, H.F.G. Effect of radiation processing on antinutrients, in vitro protein digestibility and protein efficiency ratio bioassay of legume seeds. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.76, n.6, p.1050-1057, 2007.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Embrapa arroz e feijão. Sistemas de cultivo. Cultivares de feijão**. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP) 2008. Disponível em: www.cnpaf.embrapa.br/feijao/index.htm >. Acesso em: 12 ago. 2010.

ENE-OBONG, H.N. Content of antinutrients and in vitro protein digestibility of the African yambean, pigeon and cowpea. **Plant Food for Human Nutrition**, Dordrecht, v.48, n.3, p. 223-225, 1995.

FARAG, M.D.E.H. The nutritive value for chicks of full-fat soybeans irradiated at up to 60 kGy. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.73, n.3, p.319 – 328, 1998.

FELIX, M.A. **Análise química e sensorial dos grãos de soja (*Glycine max.* (L.) Merrill) tostados por diferentes tratamentos**. 2005. 102p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. Cidade do México: Acribia, 1993. p. 557-565.

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

FERREIRA, C. M. Mercado de feijão. Agência de informação EMBRAPA. Feijão. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) 2008**. Disponível em: < http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia4/AG01/arvore/AG01_69_1162003151646.html >. Acesso em: 16 ago. 2010.

FERREIRA, F.A.G. **Nutrição Humana**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1983. p. 377-419.

FINGLAS, P.M. e FAULKES, R.M., Critical review of HPLC methods for determination of thiamin, riboflavin and niacina in food. **Journal of Micronutrient Analysis**, Barking, v.3, n.1, p.251-283, 1993.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION - FAO. FAOSTAT database. Major food and agricultural commodities and producers. Countries by commodity, 2005. Disponível em: <http://www.fao.org/es/ess/top/commodity.html?lang=en&item=176&year=2005>>. Acesso em: 13 ago. 2010.

FOX, J.B.; THAYER, D.W. Radical oxidation of riboflavin. **International Journal Vitamin Nutrition Research**, Kirkland, v.68, n.3, p.172-180, 1998.

FROTA, K.M.G.; SOARES, R.A.M.; AREAS, J.A.G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.2, p.470-476, abr./jun., 2008.

GAHLER, S.; OTTO, K.; BOHM, V. Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.51, n.27, p. 7962-7968, 2003.

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

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam v.40, n.7, p.1292 – 1299, 2007.

GOLDA, A.; SZYNIAROWSKI, P.; OSTROWSKA, K.; KOZIK, A.; RAPALAKOZIK, M. Thiamine binding and metabolism in germinating seeds of select cereal and legumes. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v.42, n.3, p. 187-195, 2004.

GOMES, F. S. **Concentração de licopeno de suco de melancia através de processos de separação por membranas**. 2009. 107p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

GROSS, J. **Pigments in vegetables, chlorophylls and carotenoids**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 351p.

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

HOSSAIN, M.M.; TALIMA, M.; SUZUKI, T.; TODORIKI, S. Effects of γ -irradiation on the chemical composition of lentil, mung bean and wheats. **Food Irradiation**, Vienna, v. 23, n.1, p. 66–71, 1988.

HOUSE, W.A.; WELCH, R.M.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Potential for increasing the amounts of bioavailable zinc in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L) through plant breeding. **Journal of Science and Food Agricultural**, London, v. 82, v.13, p. 1452-1457, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Cereais, Leguminosas e Oleaginosas de 2007. **Pesquisa Agrícola Municipal (PAMCLO)**. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pamclo/2007/pamclo2007.pdf> >. Acesso em: 13 ago. 2010.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY - IAEA. **Use of irradiation as a quarantine treatment of food and agricultural commodities**. Vienna, 1992. 220p.

ISLAM, F.M.A.; RENGIFO, J.; REDDEN, R.J.; BASFORD, K.E.; BEEBE, S.E. Association between seed coat polyphenolics (Tannins) and disease resistance in common bean. **Plant Foods Human Nutrition**, Dordrecht, v.58, n.4, p.285-297, 2003.

KITZBERGER, C. S, G. **Obtenção de Extrato de Cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*) com CO₂ a Alta Pressão**. 2005. 142p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

KITZBERGER, C. S. G.; SMÂNIA, A. J.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 80, n.2, p. 631-638, 2007.

KLIMCZAK, M.M.; PACHOLEK, B. Antioxidant activity of ethanolic extracts of amaranth seeds. **Nahrung**, Stuttgart, v.46, n.3, p. 184-186, 2002.

KRAUTLER, B. **Chlorophyll breakdown and chlorophyll catabolites**. Elsevier Science Publishing, New York, v.13, n.1, p.183-209, 2003.

LACROIX, M.; AMIOT, J.; BRISSON, G.J. Hydrolysis and ultrafiltration treatment to improve the nutritive value of raphe seed protein. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 48, n.1, p. 1644 -1645, 1983.

LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I.; MENEZES, E.W. Qualidade nutricional. In: ARAÚJO, R.S.; AGUSTÍNRAVA, C.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J. de O. (Coords). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, 1996. p.71-99.

LANNA, A.C.; FERREIRA, C.M.; BARRIGOSI, J.A.F. **Análise do impacto ambiental da cultivar de feijão BRS Pérola**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2004, 80p.

LANA, R.M.Q.; ZANÃO JÚNIOR, L.A.; CORREIA, N.M.; LANA, A.M.Q. Variabilidade entre genótipos de feijoeiro na eficiência no uso do fósforo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.778-784, mai/jun, 2006.

LAYRISSE, M. New property of vitamin A and α -carotene on human iron absorption: effect on phytate and polyphenols as inhibitors of iron absorption. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Guatemala, v. 50, n.1, p.243-248, 2000.

LEE, C.H.; YANG, L.; XU, J.Z.; YEUNG, S.Y.Z.; HUANG, Y.; CHEN, Z.Y. Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides. **Food Chemistry**, London, v.90, n.4, p.735-741, 2005.

LESTIENNE, I.; ICARD-VERNIÈRE, C.; MOUQUET, C.; PICQ, C.; TRECHE, S. Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chemistry**, Oxford, v.89, n.3, p.421-425, 2005.

LOURES, NEORALDO THADEU PACHECO. **Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de brotos de lentilha na variedade precoce**. 2007. 67p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas) - Universidade estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2007.

LYNCH, P.L.M. e YOUNG, I.S. Determination of thiamine by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, New York, v.881, n.1-2, p.267-284, 2000.

MAHAN, L.K.; ARLIN, M.T. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 8. ed. São Paulo: Roca, 1995. p. 86-90.

MARKHAM, K.R. **Techniques of flavonoid identification**. New York: Academic Press, 1982. 113p.

MARTINEZ-DOMÍNGUEZ, B. M.; IBAÑES GÓMES, M. V.; RINCÓN LÉON, R. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Archivos Latinoamericanos Nutrición**, Caracas, v. 52, n.3, p. 219- 231, 2002.

McCORMICK, D.B.; SHILLS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. (Ed). **Modern Nutrition In Health and Disease**. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. p. 391-399.

MECHI, R.; CANIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.1, p.109-114, jan./mar., 2005.

MENACHO, LUZ MARIA PAUCAR. **Influência do processo de germinação dos grãos de duas cultivares de soja BRS 133 e BRS 258 nos compostos bioativos da farinha integral de soja germinada**. 2009. 176p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

MENDONÇA, C.V.C.E.; PATTO de ABREU, C.M.; CORRÊA, A.D.; SANTOS, C.D.; MORAIS, A.R. Quantificação de polifenóis e digestibilidade protéica de famílias de feijoeiro comum. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.4, p.858-864, Jul./Ago., 2003.

MESQUITA, F.R.; CORRÊA, A.D.; ABREU, C.M.P.; LIMA, R.A.Z.; ABREU, A.F.B. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.4, p.1114-1121, jul./ago., 2007.

MOON, J. W., "Theoretical physiological basis for radiation hormesis, In: CONFERENCE OF RADIATION HORMESIS, 1985, Oakland, **Proceedings....**New York: Marcel Dekker, 1985.p. 14 – 16.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticas: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v.3, n.2, p. 109-122, 2006.

MOSTAFA, M. M. RAHMA, E.H. Chemical and nutritional changes in soybeans during germination, **Food Chemistry**, Oxford, v. 23, n.4, p. 257-275, 1987.

MOURA, N.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; SPOTO, M.H.F.; ARTHUR, V. Avaliação sensorial de feijão preto submetido à radiação de cobalto⁶⁰. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.2, p.370-374, abr./jun., 2005.

MUBARAK, A.E. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. **Food Chemistry**, Oxford, v.89, n.4, p.489-495, 2005.

MUSSI, L. **Eficiência fotodinâmica das protoporfirinas IX de magnésio e zinco**. 2003. 73p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

MWIKYA, S.M.; CAMP, J.V.; RODRIGUEZ, R.; HUYGHEBAERT, A. Effects of sprouting on nutrient and antinutrient composition of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* var. Rose coco). **European Food Research and Technology**, Berlin, v.212, n.2, p.188–191, 2001.

NÉNÉ, S.P.; VALUL, U.K.; STREENIVASAN, A. Effect of gamma irradiation on flatulencecausing oligossacharides in green gram (*Phaseolus vulgaris*) starch. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n.1, p. 389 – 394, 1979.

NETO, L. **Germinação de sementes de soja armazenados em bancos de germoplasma**. 2004. 104p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal Chromatography**, Amsterdam, v. 881, n.1/2, p.543-555, 2000.

OLOGHOBO, A.D.; FETUGA, B.L. Effect of processing on the trypsin inhibitor, haemagglutinin, tannic acid and phytic acid contents of seeds of ten cowpea varieties. **Tropical Agriculture**, New York, v.61, n.4, p.261-264, 1984.

OOMAH, B.D.; CARDADOR-MARTÍNEZ, A.; LOARCA-PIÑA, G. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Science and Food Agricultural**, London, v.85, n.1, p.935-942, 2005.

ORF, J.H.; HYMOWITZ, T.; PULL, S.P.; PUEPPKE, S.G. Inheritance of soybean seed lectin. **Crop Science**, New York, v. 18, n.1, p. 899 - 900, 1979.

OSMAN, M.A.; REID, P.M.; WEBER, C.W. Thermal inactivation of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*), soybean and lima bean protease inhibitors: effect of acidic and basic pH. **Food Chemistry**, Oxford, v.78, n.4, p. 419-423, 2002.

PEREIRA, C.A.S.; COSTA, N.M.B. Proteínas do feijão preto sem casca: digestibilidade em animais convencionais e isentos de germs (germ-free). **Revista de Nutrição**, São Paulo, v.15, n.1, p. 5-14, 2002.

PRAKASH, A. (2009). **Antioxidant activity**. Disponível em: <http://www.medallionlabs.com/file.aspx?FileID=56>>. Acesso em: 23 maio 2011.

PUNTARULO, S., SANCHES, R. A., BOVERIS, A. "Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination", **Plant Physiology**, Rockville, v. 86, n.2, p. 626 – 630, 1988.

PUSZTAI A. **Plant Lectins**. New York: Cambridge University Press, 1991. 35p.

RAMAKRISHNA, V.; JHANSI RANI, P.; RAMAKRISHNA RAO, P. Anti-nutritional factors during germination in Indian bean (*Dolichos lablab* L.) seeds. **World Journal of Dairy & Food Science**, Westport, v.1, n.1, p.06-11, 2006.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, LÚCIA DE LOS ÁNGELES. **Biodisponibilidade de zinco e de ferro, valor nutricional e funcional de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamentos domésticos**. 2006. 189p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, 2006.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.; 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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p.200-213, jan./mar. 2008.

RANILLA, L.G.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Polyphenols and antioxidant capacity of seed coat and cotyledon from Brazilian and peruvian bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.55, n.1, p.90-98, 2007.

REISCHE, D.W.; LILLARD, D.A.; EITENMILLER, R.R. Antioxidants. In: AKOH, C.C.; MIND, D.B. **Food Lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**, 2.ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p.489-516.

RESENDE, O.; CORRÊA, P.C.; FARONI, L.R.D.A.; CECON, P.R. Avaliação da qualidade tecnológica do feijão durante o armazenamento. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 517-524, mar./abr., 2008.

REYES-MORENO, C.; PAREDEZ-LÓPEZ, O. Hard-to-cook phenomenon in common beans: a review. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, New York, v. 33, n. 3, p. 227-286, 1993.

RICKARD, S.E.; THOMPSON, L.U. Interactions and biological effects of phytic acid. In: SHAID, F (Ed.). **Antinutritional and phytochemicals in food**. Washington, 1997. p. 294-312.

RIZZOLO, A.; POLESELLO, S. Chromatographic determination of vitamins in foods. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.624, n.1/2, p.103-152, 1992.

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

ROCA, M.; JAMES, C.; PRUZINSKÁ, A.; HORTENSTEINER, S.; THOMAS, H.; OUGHAM, H. Analysis of the chlorophyll catabolism pathway in leaves of an introgression senescence mutant of *Lolium Temulentum*. **Phytochemistry**, Kidlington, v.65, n.9, p. 1231-1238, 2004.

ROCHA-GUZMÁN, N.E.; GONZÁLEZ-LAREDO, R.F.; IBARRA-RÉREZ, J.; NAVA-BERÚMEN, C.A.; GALLEGOS-INFANTE, J.A. Effect of pressure cooking on the antioxidant activity of extracts from three common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. **Food Chemistry**, Oxford, v.100, n.1, p.31-35, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Some considerations in generating carotenoid data for food composition tables. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 13, n.4, p.641-647, 2000.

RONCADA, M.J.; MAZZILLI, R.N. Fontes de vitaminas na dieta de populações do estado de São Paulo, Brasil. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v.1, n.1, p.71-86, 1989.

RÜDIGER, W.; SCHOCH, S. Chlorophylls. In: GOODWIN, T.W., (Ed.). **Plant pigments**. San Diego: Academic Press, 1988. p.1-53.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: -Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela captura do Radical Livre DPPH**. Fortaleza: Comunicado Técnico on line, 2007. 133p.

SANDBERG, A-S. Bioavailability of minerals in legumes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 88, n.3, p.S281-S285, 2002.

SANGRONIS, E.; RODRÍGUEZ, M.; CAVA, R.; TORRES, A. Protein quality of germinated *Phaseolus vulgaris*. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v.222, n.1/2, p.144-148, 2006.

SATHE, S. K. Dry Bean Protein Functionality. **Critical Reviews in Biotechnology**, Inglaterra, v. 22, n. 2, p. 175-223, 2002.

SCHWARTZ, S.J.; LORENZO, T.V. Chlorophyll in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Fort Lauderdale, v.29, n.1, p.1-17, 1990.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v.91, n.1, p. 21-40, 2001.

SEIJAS, C. A. *et al.* **Feijão: Embrapa lança mais uma opção para cultivo de feijão preto no país**, 2004. Disponível em: < www.zoonews.com.br/noticias2/noticia.php?idnoticia=41880 >. Acesso em: 6 dez. 2007.

SGARBIERI, V.C. Composition and nutritive value of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **World Review of Nutrition and Dietetics**, New York, v. 60, n.1, p. 132-198, 1989.

SGARBIERI, V. C. Composition and nutritive value of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **World Review of Nutrition and Dietetics**, Suíça, v. 60, n.1, p. 132-198, 1989.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

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

SHAN, B.; CAI, Y.Z.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.20, p. 7749-7759, 2005.

SHEPPARD, S. C., HAWKINS, J. L., "Radiation Hormesis of seedlings and seeds, simply elusive or an artifact?" **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 30, n. 1, p.17 – 25, 1990.

SHIH, F.F.; KALMAR, A.D. SDS-catalyzed deamidation of oilseed proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 35, n.1, p. 642 – 675, 1987.

SHIMELIS, E.A.; RAKSHIT, S.K. Effect of processing on antinutrients and *in vitro* protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa. **Food Chemistry**, Oxford, v.103, n.1, p.161-172, 2007.

SIDDHURAJU, P.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The effect of ionizing radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, Oxford, v.78, n.2, p.187-205, 2002.

SILVA, M. R.; SILVA, A. A. P. da. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n.1, p. 5-19, 1999.

SILVA, M.R.; SILVA, M.A.A.P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.13, n.1, Jan./abr., 2000.

SILVA, ANDERSON DE OLIVEIRA MELO. **Efeitos de baixas doses de radiação gama e do uso de alginatos de sódio irradiado e não irradiado na germinação e crescimento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2005. 100p. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Nuclear) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

SINGH, R.P.; MURTHY, K.N.C; JAYAPRAKASHA, G.K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.50, n.1, p.81-86, 2002.

SNELL, E.E. Pyridoxal phosphate: History and nomenclature. In Vitamin B₆ Pyridoxal Phosphate. **Chemical, Biochemical and Medical Aspects**. New York: John Wiley & Sons, 1986. p. 1-12.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, São Paulo, v.15, n.1, p.71-81, 2002.

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Molecular Aspects of Medicine**, New York, v. 24, n.6, p. 345-351, 2003.

STANLEY, D.W.; AGUILLERA, J.M. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes – The influence of structure and composition. **Journal of Food Biochemistry**, Oxford, v.9, n.4, p. 277-323, 1985.

SUPARMO; MARKAKIS, P. Tempeh prepared from germinated soybeans: a research note. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n. 6, p. 1736-1737, 1987.

TAIZ, L.; ZIEGLER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre : Artmed, 2004. p.693.

TAVCAR, A. Stimulating effects of low doses of radiation. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Effects of low doses of radiation on crop plants. **Technical reports series**, Vienna, v.64, n.1, p. 16-25, 1966.

TIVERON, ANA PAULA. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. 2010. 103p., Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

TOLEDO, T.C.F.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Avaliação química e nutricional do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) cozido por diferentes métodos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.2, p.355-360, abr./jun. 2008.

UENOJO, M.; MARÓSTICA, R.M.; PASTORE, M.G. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n.3, p.616-622, 2007.

VALLS, F.; SANCHO, M.T.; FERBÁNDEZ-MUIÑO, M.A.; CHECA, M.A. Determination of total riboflavin in cooked sausages. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Washington, v.47, n.3, p.1067-1070, 1999.

VARYAR, P. S; LIMAYE, A.; SHARMA, A. Radiation –Induced enhancement of antioxidant contents of soybean (*Glycine max Merrill*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 11, p. 3385-3388, 2004.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J.; DIAZ-POLLAN, C.; FERNANDEZ, M.; LOPEZ-JURADO, M.; URBANO, G. Influence of processing on trypsin inhibitor activity of fava beans and its physiological effect. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.45, n.9, p.3559-3564, 1997.

VILAS BOAS, E.V.de B.; BARCELOS, M.F.P.; LIMA, M.A.C. Tempo de germinação e características físicas, químicas e sensoriais dos brotos de soja e de milho nas formas isoladas e combinadas. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.1, p.148-156, jan./fev., 2002.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; GREINER, R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.57, n.3/6, p.289-293, 2000.

VONEIBE, J.H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Wisconsin – Madison, 2000. p. 782-799.

XU, B.J.; CHANG, S.K.C. Total phenolic content and antioxidant properties of eclipse Black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by processing methods. **Journal of Food Science**, Chicago, v.73, n.2, p.H19-H27, 2008.

ZAKA, R., Chenal, C., Misset, M. T., "Effects of low doses of short-term gamma irradiation on growth and development through two generations of *Pisum sativum*", **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 320, n.2/3, p. 121 – 129, 2004.

ZEB, A.; TAUFIQ, A. The high dose irradiation affect the quality parameters of edible oils. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, New York, v.7, n.6, p. 943-946, 2004.

ZHANG, J.; SHI, J.; ILIC, S.; XUE, S.J.; KAKUDA, Y. Biological properties and characterization of lectin from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). **Food Reviews International**, New York, v.25, n.1, p.12–27, 2009.

WANDER, A. E.; RAMALHO, M. A. P.; ANDRADE, M. J. B. de. **Cultivo do feijão da primeira e segunda safras na região Sul de Minas Gerais: introdução e importância econômica**, 2005. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/Fontes_HTML/Feijao/FeijaoPrimSegSafrasulMG/index.htm>. Acesso em: 12 ago. 2010.

WILLET, W. C. **Eat, Drink and be healthy – the harvard medical school guide to healthy eating**. New York: Simon and Schuster, 2001. 159p.

YAMAGUISHI, C.T. **Processo biotecnológico para a produção de feijão desidratado com baixo teor de oligossacarídeos da família rafinose**. 2008. 148p. Dissertação (Mestrado em Processo Biotecnológico) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

YOKOYAMA, L.P.; DEL PELOSO, M.J.; DI STEFANO, J.G.; YOKOYAMA, M. **Nível de aceitabilidade da cultivar de feijão “Pérola”**: avaliação preliminar. Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 1999. 20p.

YOKOYAMA, L. P. **Cultivo do feijoeiro comum: importância e econômica. Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de Produção**, 2003. Disponível em: <
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/importancia.htm> >. Acesso em: 19 ago. 2010.

3 INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE GERMINAÇÃO E IRRADIAÇÃO EM GRÃOS DE FEIJÃO NA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL

Resumo

O feijão é uma leguminosa que vem sendo estudada extensivamente na América Latina por ser uma das principais fontes de proteínas além de fazer parte dos hábitos alimentares da população. Porém, apesar do seu alto consumo no Brasil, há poucos estudos que caracterizam aparência, aroma, textura e sabor do grão, principalmente daqueles que sofreram o processo germinativo. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da radiação ionizante e a germinação, isolados e combinados, sobre os aspectos químicos, microbiológicos e sensoriais do feijão (*Phaseolus vulgaris*). O feijão utilizado foi da variedade carioca, cultivar pérola, adquirido de produtores de Goiás. Os grãos foram irradiados em uma fonte de Cobalto⁶⁰, nas doses 0, 0,05, 0,1 e 0,15 kGy, com taxa de dose de 0,456 kGy/hora. Após o tratamento de irradiação ocorreu a germinação que foi realizada em temperatura e luminosidade ambiente durante 72 e 96 horas. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas e determinada a composição centesimal. Para a análise microbiológica e sensorial foram avaliadas as amostras controle, irradiada na dose 0,15kGy, germinadas no tempo de 72 e 96 horas e irradiada (0,15kGy) e germinada (72 e 96 horas). Para a análise sensorial, foi aplicado o teste de aceitação, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos e para a análise microbiológica foi utilizado o teste presuntivo para *Salmonella* e coliformes a 45°C. Os dados da composição centesimal indicaram que a germinação aumentou os teores de umidade, proteína e fibras insolúveis e solúveis e decréscimo no conteúdo de cinzas, lipídeos e carboidratos. Já a irradiação não apresentou influência nas concentrações da composição centesimal das amostras. Apenas as amostras germinadas no tempo de 72 e 96 horas apresentaram crescimento para coliformes totais, mas abaixo dos níveis aceitáveis. *Salmonella* e coliformes fecais não apresentaram crescimento nas amostras. A análise sensorial, foi observada baixa rejeição nos feijões germinados, podendo ser utilizado na produção de brotos, como forma de alternativa de consumo. Portanto, considerando a baixa rejeição apresentada na avaliação sensorial, é possível sugerir que o feijão, em estudo, pode ser utilizado para a produção de brotos.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; Radiação gamma; Análise sensorial; centesimal; *Salmonella*; Coliformes

Abstract

Beans have been widely studied in Latin America once it is a major source of protein and is part of the dietary habits of the population. However, despite its high consumption in Brazil, there are few studies that characterize appearance, aroma, texture and flavor of the bean, especially those that suffered the germination process. Thus, this study aimed to evaluate the effect of ionizing radiation and germination, isolated and combined, on the chemical, microbiological and sensory features of beans (*Phaseolus vulgaris*). The bean variety used was “carioca”, cultivar “pérola”, obtained

from producers of Goiás state in Brazil. The grains were irradiated in a Cobalt⁶⁰ source at doses 0, 0.05, 0.1 and 0.15 kGy, with dose rate of 0.456 kGy/hour. After the irradiation treatment, germination occurred at ambient temperature and light for 72 and 96 hours. Then, the samples were frozen and lyophilized and the centesimal composition was determined. For microbiological and sensory analyses, control samples were evaluated, at a dose 0.15 kGy irradiated, germinated during 72 and 96 hours and irradiated (0.15 kGy) and germinated (72 and 96 hours). For the sensory analysis, the acceptance test was applied, using a hedonic scale of nine points and for the microbiological analysis, the presumptive test was used for *Salmonella* and coliforms at 45°C. The centesimal composition data indicated that germination increased moisture, protein, soluble and insoluble fibers and decreased contents of ash, lipids and carbohydrates. Irradiation showed no effect on concentrations of the chemical composition of samples. Only the samples germinated in 72 and 96 hours showed growth of coliforms, but below acceptable levels. *Salmonella* and fecal coliforms in the samples showed no growth. The sensory analysis showed low rejection of germinated beans and can be used in the production of sprouts as an alternative for a diet. Therefore, considering the low rejection presented in the sensory evaluation, it is suggested that the studied beans can be used to produce sprouts.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; Radiation gamma; Sensory analysis; Chemical; *Salmonella*; Coliformes

3.1 Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa que é largamente consumida no mundo, estando-lhe associadas a diferentes propriedades nutricionais. Contribui substancialmente como fonte de proteína para grande parte da população mundial, especialmente onde o consumo de proteína animal é relativamente baixo (RAMIREZ-CÁRDENAS, 2006). Além de seu alto teor protéico, o feijão é rico em carboidratos complexos, fibra alimentar, aminoácidos, polifenóis, vitaminas do complexo B e sais minerais, sendo que os encontrados em maior quantidade são o potássio, o sódio, o cálcio, o magnésio, o ferro e, principalmente, o manganês (VILLAVICENCIO *et al.*, 2000; KUTOS *et al.*, 2003). Dada a sua composição química, o feijão proporciona vários benefícios à saúde.

O Brasil é um dos maiores produtores e consumidores de feijão. Apesar de grande produção e consumo, há carências de estudos que caracterizam aparência, aroma, textura e sabor dos grãos, ou seja, na maioria das vezes não se conhece o perfil sensorial do feijão, principalmente daqueles que sofreram o processo germinativo (BONETT *et al.*, 2007). Atualmente, o feijão germinado tem recebido atenção por

melhorar a qualidade nutricional e sabor. Porém, a germinação provoca efeitos indesejáveis, tais como a degradação de lipídeos, a modificação da composição de aminoácidos das proteínas e a contaminação microbiana (VILAS BOAS et al., 2002).

Os efeitos da germinação sobre a composição química, aspectos nutricionais e características sensoriais, variam com as espécies, cultivares e as condições de germinação das sementes (temperatura, luz, tempo de germinação, entre outros fatores) (CHEN et al., 1975; VILAS BOAS et al., 2002) e as vantagens e desvantagens deste processo utilizado para o consumo humano não foram completamente estabelecidos para diferentes tipos de sementes, tais como oleaginosas, leguminosas e cereais e as suas correlações com a condição de germinação. A produção dos brotos para o consumo humano, além de promover melhorias na qualidade nutricional, propicia aumento da produção de alimentos, paradoxalmente à constância de suas áreas (VILAS BOAS et al., 2002).

Outro processo bastante utilizado na redução de compostos indesejáveis do feijão é a radiação ionizante. No entanto a utilização de baixas doses de radiação não é capaz de obter alterações significativas na composição do grão e sim promover efeitos estimulantes a semente, ou seja, tem a capacidade de aumentar a sua brotação. Isso ocorre, pois a radiação interage com a água criando grande número de radicais com curtas meias-vidas, dos quais os óxidos e peróxidos são normalmente os elementos finais. Estes atuam na matéria biológica provocando alterações, dentre as quais podemos destacar: iniciam a síntese de proteínas (MOON, 1985; PUNTARULO et al., 1988) e modificam o funcionamento da membrana. Baseando-se nestes conceitos e na literatura existente, conclui-se que este fenômeno pode ocorrer em qualquer espécie de planta ou cultivar e que a resposta ao estímulo de crescimento é detectada imediatamente após a irradiação promovendo na germinação (SHEPPARD et al., 1990).

Para garantir a qualidade de um alimento, os testes sensoriais são utilizados, os quais são considerados uma medida multidimensional integrada, haja vista possuírem importantes vantagens, tais como: serem capazes de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis; definirem as características sensoriais importantes de um produto de forma rápida e serem capazes de detectar particularidades que não podem ser detectadas por outros procedimentos analíticos,

além do mais são considerados os responsáveis pela geração de variáveis importantes para o lançamento de produtos no mercado consumidor (VILAS BOAS et al., 2002; LOURES, 2007).

Tais testes são considerados importante ferramenta, pois acessam, diretamente, a opinião do consumidor já estabelecido ou o potencial de um produto, sobre suas características específicas ou idéias sobre o mesmo, por isso são também chamados de testes de consumidor. Eles medem quanto a população gostou de um produto, para avaliar preferência ou aceitabilidade. Preferência pode ser definida como expressão do grau de gostar, escolha de uma amostra em relação à outra, e/ou percepção do agradável até o desagradável, pelos quais se baseiam a escolha. Já a aceitabilidade pode ser definida como uma experiência caracterizada por uma atitude positiva, e/ou pela utilização atual do produto (hábito de comprar ou consumir um alimento) (LOURES, 2007).

Mas, antes da realização da análise sensorial é necessário avaliar o alimento quanto à parte microbiológica. Conhecendo-se as características do alimento, é possível prever a flora microbiana que nele poderá se multiplicar (SILVA, 2000). Daí a importância da análise microbiológica, pois inúmeros métodos laboratoriais podem ser utilizados para investigar a ausência ou presença dos microorganismos (FRANCO, 2003). A Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001) estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos, não existindo padrões específicos para leguminosas. Esses podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: “produtos a base de soja”, cuja tolerância máxima para a amostra indicativa é de 5×10^2 NMP g⁻¹ ou UFC g⁻¹ de coliformes a 45°C e ausência de *Salmonella sp* em 25 gramas.

Com a perspectiva de se ter mais informações relativas à interação dos processos de irradiação e germinação no alimento e considerando a importância dos feijões para a população brasileira, este trabalho teve como objetivo verificar o efeito das radiações ionizantes e o processo de germinação, isolados e combinados, sobre os aspectos químicos, microbiológicos e sensoriais do feijão (*Phaseolus vulgaris*).

3.2 Material e Método

As análises da composição centesimal do grão e sensorial foram realizadas no Laboratório de Bromatologia e as análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Higiene e Laticínios do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil.

3.2.1 Matéria-Prima

A matéria-prima utilizada para a realização do experimento foi o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) da variedade carioca, cultivar pérola, adquirido de produtores da região de Rio Verde, interior de Goiás-GO. Os grãos foram irradiados no CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura), utilizando raios gama, provenientes de uma fonte de Cobalto⁶⁰, do tipo Gammacell, nas doses de 0, 0,05, 0,1 e 0,15 kGy sob uma taxa de dose de 0,456 kGy/hora e posteriormente foram germinados. A quantidade da dose absorvida durante a irradiação foi medida através de dosímetro polimetacrilato de metila (PMMA – Red perspex). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, e a dose de radiação absorvida foi relatada quantitativamente no intervalo de 530 nm. Para analisar os grãos somente irradiados, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* com a finalidade de obtenção da farinha. Essa farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

3.2.2 Germinação

Para a germinação os grãos de feijão sofreram imersão em 300ml de hipoclorito de sódio a 1% (v/v) por 20 min. Lavagem com água deionizada, hidratação dos grãos em 300ml de água deionizada por 8h à temperatura ambiente e ao final foi retirado o excesso de água. Após a hidratação os grãos foram mantidos no laboratório com temperatura e luminosidade ambiente. A germinação ocorreu durante os meses de novembro de 2009 até maio de 2010 com a temperatura variando na faixa entre 30°C a 18,5°C (temperatura média de 24,2°C) e a umidade relativa do ar em torno de 77,3%. A cada 8h as sementes eram umedecidas e agitadas levemente. As amostras foram recolhidas para análises após 72h e 96h de germinação. As amostras foram congeladas a -80° C durante um dia e posteriormente foram liofilizadas e trituradas em moinho de

facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* para a realização das análises de composição centesimal, sendo armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

3.2.3 Tratamentos

A avaliação da composição centesimal do feijão foi realizada com todos os tratamentos presentes no estudo. Já a análise sensorial e microbiológica ocorreu com apenas seis diferentes tratamentos, os quais foram selecionados, pois notou-se que a irradiação não afetou nutricionalmente a composição centesimal do grão, não havendo a necessidade da realização de todos os tratamentos para essas duas análises propostas. Os tratamentos selecionados foram: controle; irradiada na dose 0,15kGy; germinada no tempo de 72 e 96 horas; germinada a 72 horas e irradiada a 0,15kGy; e germinada a 96 horas e irradiada a 0,15kGy.

3.2.4 Composição Centesimal

Com a finalidade de caracterizar as amostras foi realizada a composição centesimal das mesmas. As análises químicas de teor de umidade, proteína bruta, extrato etéreo, fibras alimentares (solúvel e insolúvel) e de cinzas foram realizadas de acordo com a metodologia indicada pela AOAC (2005).

Para determinação do teor de matéria seca, utilizar-se-á o método gravimétrico em que as amostras são secas em estufa a 105° C, até peso constante.

O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método Microkjeldahl, sendo o teor protéico determinado multiplicando-se o conteúdo do nitrogênio total pelo fator 6,25.

O extrato etéreo foi determinado utilizando o extrator de Soxhlet. Na extração foi utilizado como solvente o éter etílico à temperatura de 45-50° C em refluxo contínuo da amostra por 6 horas. Recuperado o éter etílico, os tubos foram retirados e colocados em estufa por 20 minutos a 100° C, após esfriar em dissecador e pesados, obter-se-á a quantidade de lipídeos por diferença do peso do tubo.

A cinza foi determinada através de incineração da amostra em mufla à temperatura de 550-600° C por 4 horas.

Os carboidratos foram obtidos por diferença 100%- (% proteína + % umidade + % cinza + % extrato etéreo).

O teor de fibra dietética foi determinado de acordo com o método de Asp et al. (1983). Esse ensaio determina o conteúdo de fibra solúvel e insolúvel dos alimentos usando combinação dos métodos enzimáticos e gravimétricos. As amostras desengorduradas foram tratadas com α -amilase estável ao calor e então digeridas enzimaticamente com pepsina e pancreatina. O etanol foi adicionado para precipitar a fibra solúvel. Todos os resíduos foram filtrados e lavados com etanol e acetona. Após secagem, os resíduos foram pesados e foram analisadas a proteína e a cinza da fibra. O total de fibra foi calculado com o peso do resíduo menos o peso da proteína e da cinza.

3.2.5 Análises Microbiológicas

A fim de avaliar a qualidade microbiológica do grão, foram realizadas as análises do teste presuntivo para *Salmonella* e coliformes a 45°C, as quais são previstas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, através da Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001. A Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001) estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos, não existindo padrões específicos para leguminosas. Esses podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: “produtos a base de soja”, cuja tolerância máxima para a amostra indicativa é de 5×10^2 NMP.g⁻¹ ou UFC.g⁻¹ de coliformes a 45°C e ausência de *Salmonella sp* em 25 gramas.

3.2.5.1 Preparação das amostras

Para a preparação das amostras, os feijões foram cozidos em água potável durante 15 minutos. Após este procedimento foi pesado 25 gramas de amostras para a realização da análise, a qual foi retirada assepticamente e transferida para um homogeneizador modelo Stomacher Circulador 400, utilizado para esmagar, extrair, misturar, homogeneizar e preparar as amostras que foram analisadas, mantendo-as em suas condições originais, a fim de evitar qualquer tipo de contaminação cruzada, pois nenhuma parte do equipamento entra em contato direto com a amostra, que fica contida em sacos plásticos. Tal processo operacional é realizado por duas pás curvas. No início da operação, as pás esmagam a amostra e circulam os fragmentos em suspensão, provocando ação de agitação de cima para baixo. Tal ação garante maior extração de

organismos (bactérias) que estão em suspensão. Após a homogeneização, a amostra foi transferida para 225 mL de água peptonada a 0,1%, previamente esterilizada.

3.2.5.2 Coliformes Totais e Coliformes Fecais pelo Método do Número Mais Provável (NMP)

O Número Mais Provável de coliformes totais e fecais foi determinado pelo método clássico de fermentação da lactose, através da técnica dos tubos múltiplos de acordo com Silva; Junqueira e Silveira (2001) e Swanson; Petrane e Hanlin (2001).

Esta técnica permite a recuperação de células injuriadas através de um enriquecimento e compreende duas fases distintas: a fase do teste presuntivo e a fase do teste confirmativo, onde se determina a população de coliformes totais e fecais.

Para o teste presuntivo selecionou-se cinco séries de tubos de ensaio contendo tubos de Durham e Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), identificando-se as diluições de 10^{-1} a 10^{-5} e os respectivos locais, adicionando 1,0 mL da diluição correspondente por tubo de ensaio. As cinco séries de tubos foram incubadas a 35°C por 24-48 horas. Após o período de incubação, os tubos que apresentaram produção de gás devido à fermentação da lactose do meio foram considerados positivos no teste presuntivo. Os tubos que após 48 horas não apresentaram nenhuma alteração nos tubos Durham, foram considerados negativos.

Com auxílio de alça de níquel-cromo foram realizadas inoculações a partir dos tubos positivos do teste presuntivo para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Lactose Bile (CVBLB) e tubos com caldo EC. Os tubos CVBLB foram incubados em estufa a 35°C/24-48 horas para teste confirmativo de coliformes totais e os tubos EC em banho-maria 44,5-45°C/24 horas para teste confirmativo de coliformes fecais. Após os respectivos períodos de incubação, verificou-se a produção de gás nos tubos de Durham colocados nos meios de cultivo do teste confirmativo e a partir destes tubos positivos (gás) foi feita a consulta à Tabela de Thomas(1942), apud Swanson; Petran e Hanlin (2001) para a estimativa do NMP de coliformes totais e coliformes a 45°C.

Os resultados obtidos foram comparados com os padrões da legislação vigente para o produto, segundo a ANVISA (BRASIL, 2001).

3.2.5.3 Determinação de *Salmonella SP*

Para as análises microbiológicas de pesquisa de *Salmonella* spp têm sido bastante utilizado métodos rápidos de detecção, com resultados obtidos no prazo de 24-36 horas.

No desenvolvimento deste estudo utilizou-se o método *Salmonella* 1-2 TEST, da BioControl. Trata-se de um método oficial aprovado pela AOAC (2000) recomendado para detecção presuntiva das espécies móveis de *Salmonella* em alimentos.

O princípio se baseia na observação da imobilização pelos anticorpos polivalentes H (flagelar contidos no meio de motilidade, com o desenvolvimento de uma banda visual bem definida chamada de imunobanda).

Foi feito um pré-enriquecimento de cada amostra analisada, incubando-se 25 gramas de feijão em um erlenmeyer contendo 225 mL de Caldo Lactosado. Os frascos foram incubados por 18-24 horas a 35°C. Decorrido o período de incubação foi feito o enriquecimento seletivo, transferindo 1 mL do pré-enriquecimento para um tubo de ensaio contendo 9 mL de solução Caldo tetracionato verde brilhante ativado com iodo-iodeto, sendo incubado por 6 horas em banho-maria a 42°C.

Após o período de incubação do enriquecimento seletivo, procedeu-se o preparo dos kits 1-2 Test da seguinte forma: posicionou-se a tampa preta para cima, retirando-a e removeu-se o plug da câmara usando uma pinça estéril; desprezou-se o conteúdo deste compartimento e inoculou-se 1,5 mL da solução caldo tetracionato preparado separadamente; os kits foram posicionados com a tampa branca para cima retirando-a e cortando a ponta interna desta tampa; adicionou-se 1 gota de anticorpo, princípio responsável pela aglutinação e formação do gel que se forma junto da tampa branca. Os Kits foram incubados a 35°C por 14-30 horas. Após o período de incubação observou-se a formação ou não de imunobanda que caracteriza a positividade do teste para a bactéria *Salmonella*.

Os resultados obtidos foram comparados com os padrões da legislação vigente para o produto conforme a ANVISA (BRASIL, 2001).

3.2.6 Análise Sensorial

Após o desenvolvimento da avaliação microbiológica, foram realizados os testes sensoriais dos brotos de feijão.

O teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP. Foram consideradas as habilidades na percepção das diferenças em relação ao aroma, sabor, textura e aparência das amostras. Para sua determinação, aplicou-se o teste de aceitação, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos (9 = gostei extremamente; 1 = desgostei extremamante), segundo Meilgaard et al. (1999), com equipe não treinada de quarenta consumidores adultos saudáveis, de 18 a 50 anos, de ambos os sexos, constituída por funcionários e acadêmicos da Universidade, sem vínculo de subordinação com os pesquisadores, onde manifestaram seu consentimento assinando o termo de consentimento livre e esclarecido, conforme a Resolução 196/96 do Ministério da Saúde (DUTCOSKY, 1996). O teste sensorial foi realizado com aprovação de Comitê de Ética em pesquisa da ESALQ/USP. Para o recrutamento dos mesmos foram colocados cartazes espalhados por diversos pontos da ESALQ/USP e também foram abordados pelos pesquisadores para o convite em forma oral. Não foram aceitos para o teste provadores maiores de 60 anos ou menores de 18 anos, bem como fumantes de qualquer faixa etária.

No laboratório de análise sensorial com cabines individuais, os provadores receberam as amostras de feijão provenientes de seis tratamentos (controle, germinada no tempo de 72 e 96 horas, irradiada a 0,15kGY e germinada no tempo de 72 e 96 horas juntamente com a dose de irradiação de 0,15kGy), onde foram preparados (cozido) uma hora antes da realização das análises, sendo mantidos a 40°C, cobertos até serem servidos. Os feijões foram cozidos em água fervente por tempo previamente determinado (em ensaios anteriores até que se tenha o período ideal para que fiquem totalmente cozidos, foram aproximadamente 20 minutos).

Depois do cozimento dos feijões, cada provador recebeu 5 g de feijão de cada tratamento, que foram servidos em copos plásticos brancos, sendo cada amostra codificada com números de três dígitos escolhidos de forma aleatória e distribuídos sobre a bancada para avaliação dos provadores. Para cada provador, foi fornecida água em copos plásticos para que, após cada prova, pudessem remover qualquer resíduo da prova anterior, facilitando assim uma melhor avaliação.

As amostras foram distribuídas aleatoriamente e sofriam mudanças de posição para cada um dos provadores. Os provadores faziam a degustação das amostras uma a uma. Em seguida, anotavam sua avaliação e deixavam observações sempre que julgavam necessárias. O grau de satisfação para cada amostra foi expresso pelo emprego da escala hedônica de nove pontos, fornecida a cada provador, conforme Meilgaard et al. (1999). O índice de satisfação foi calculado como uma expressão percentual da média do grau de satisfação.

3.2.7 Análise Estatística

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento para todas as análises químicas, sendo os resultados expressos em média±desvio-padrão. Foi realizada análise de variância pelo teste F e a comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos segundo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) através do programa *Software Statistical Analysis System* (SAS). Fez-se também a correlação de Pearson, entre todas as variáveis estudadas com o processo de germinação e irradiação. A construção dos gráficos e tabelas foi feita pelo programa Excel (Microsoft).

3.3 Resultado e Discussão

Os dados referentes à composição centesimal dos grãos de feijão irradiado e/ou germinado e controle são apresentados na Tabela 2, 3 e 4.

Tabela 2 - Composição centesimal (base seca, média±desvio padrão) para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	Lipídeo (%)	Fibra insolúvel (%)	Fibra solúvel (%)	Carboidrato (%)
0	0	7,89 ± 0,40 ^f	4,82 ± 0,12 ^{a,b}	23,68 ± 0,86 ^b	1,61 ± 0,08 ^{a,b,c}	32,28 ± 1,13 ^{b,c}	3,76 ± 0,18 ^{a,b}	31,18 ± 0,83 ^a
0	72	74,01 ± 0,05 ^c	4,46 ± 0,10 ^{c,d}	25,24 ± 0,28 ^{a,b}	1,64 ± 0,02 ^a	33,71 ± 0,24 ^{a,b,c}	4,02 ± 0,15 ^{a,b}	8,04 ± 0,13 ^c
0	96	76,74 ± 0,05 ^a	4,24 ± 0,03 ^d	25,52 ± 0,49 ^{a,b}	1,57 ± 0,06 ^{a,b,c}	37,2 ± 2,03 ^{a,b,c}	4,5 ± 1,17 ^a	6,27 ± 0,26 ^c
0,05	0	7,72 ± 0,12 ^f	4,84 ± 0,07 ^a	23,96 ± 2,72 ^b	1,76 ± 0,04 ^a	30,98 ± 2,10 ^c	3,63 ± 0,74 ^{a,b}	32,14 ± 1,42 ^a
0,05	72	73,11 ± 0,05 ^d	4,38 ± 0,07 ^{c,d}	28,39 ± 0,59 ^a	1,17 ± 0,13 ^{c,d}	39,16 ± 2,62 ^{a,b}	3,41 ± 0,18 ^{a,b}	6,32 ± 0,71 ^c
0,05	96	77,4 ± 0,03 ^a	4,5 ± 0,13 ^{b,c,d}	27,93 ± 0,63 ^a	1,7 ± 0,05 ^a	31,24 ± 6,99 ^c	4,55 ± 0,42 ^a	6,8 ± 1,37 ^c
0,1	0	7,74 ± 0,52 ^f	4,89 ± 0,10 ^a	25,54 ± 0,86 ^{a,b}	1,76 ± 0,06 ^a	37,35 ± 0,12 ^{a,b,c}	2,99 ± 0,25 ^b	25,33 ± 1,58 ^b
0,1	72	74,47 ± 0,07 ^c	4,22 ± 0,27 ^d	27,59 ± 1,90 ^a	1,45 ± 0,43 ^{c,d}	35,57 ± 0,43 ^{a,b,c}	4,13 ± 0,02 ^{a,b}	6,09 ± 0,67 ^c
0,1	96	75,71 ± 0,06 ^b	4,41 ± 0,08 ^{c,d}	26,54 ± 0,46 ^{a,b}	1,1 ± 0,20 ^d	40,36 ± 3,01 ^a	3,31 ± 0,04 ^{a,b}	5,9 ± 0,84 ^c
0,15	0	8,1 ± 0,34 ^f	4,84 ± 0,09 ^a	25,71 ± 0,69 ^{a,b}	1,61 ± 0,05 ^{a,b}	38,16 ± 0,37 ^{a,b,c}	3,99 ± 0,25 ^{a,b}	23,61 ± 0,41 ^b
0,15	72	72,15 ± 0,10 ^e	4,58 ± 0,09 ^{a,b,c}	26,83 ± 1,38 ^{a,b}	1,33 ± 0,05 ^{a,b,c,d}	34,39 ± 0,11 ^{a,b,c}	3,56 ± 0,22 ^{a,b}	8,16 ± 0,53 ^c
0,15	96	75,72 ± 0,13 ^b	4,46 ± 0,05 ^{c,d}	27,56 ± 0,92 ^a	1,2 ± 0,11 ^{b,c,d}	32,93 ± 0,22 ^{b,c}	3,34 ± 0,02 ^{a,b}	7,41 ± 0,32 ^c

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

Tabela 3 - Coeficiente de correlação mostrando a relação entre os parâmetro e período de germinação

Parâmetro	Coeficiente de correlação
Proteína (%)	0,99
Lipídeo (%)	-0,32
Fibra insolúvel (%)	0,86
Fibra solúvel (%)	0,9
Carboidrato (%)	-0,98

Tabela 4 - Coeficiente de correlação mostrando a relação entre os parâmetros e doses de irradiação

Parâmetro	Coeficiente de correlação
Proteína (%)	0,91
Lipídeo (%)	-0,87
Fibra insolúvel (%)	0,91
Fibra solúvel (%)	0,35
Carboidrato (%)	-0,94

Observa-se na tabela 2 que o processo de germinação desencadeou aumento nos teores de umidade, proteína e fibras insolúveis e solúveis. Porém apresentou decréscimo no conteúdo de cinzas, lipídeo e carboidrato.

O percentual de umidade entre as amostras apresentaram média de 7,86% para os feijões controle e irradiados e 74,91% para os feijões que sofreram o processo de germinação e os que sofreram os processos de irradiação e germinação combinados. Assim, a quantidade de água foi de 9,5 vezes maiores nos brotos do que nas sementes. Uma explicação para o aumento do teor de umidade após a germinação é que durante este processo ocorre hidratação das sementes a fim de promover a reidratação dos tecidos, o aumento da respiração e de outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e de nutrientes necessários para o crescimento da planta (NETO, 2004; VILLELA; NOVENBRE; FILHO, 2007).

Kylen & McCready (1975), estudando nutrientes em grãos e brotos (três dias) de alfafa, lentilha e feijão-mungo, observaram 10,1% de umidade nas sementes e de 86 a 91% para brotos de feijão. Abdulan & Baldwin (1984),

encontraram, para mungo, 9,3% de umidade para o grão e 79,3% para o broto (3 dias), valores semelhantes aos do presente trabalho.

Barrueto-Gonzáles (2007) o qual avaliou a composição nutricional de sete cultivares brasileiros de feijão de diferentes grupos morfológicos como: manteigão (cv. Jalo Precoce), manteigão rajado (cv. Radiante), rosinha (cv. Vereda), Carioca (cv. Pérola), roxinho (cv. Timbó, preto (cv. Valente) e branco (cv. Ouro Branco) observou que a variedade pérola, obteve teor de umidade em torno de 8,5%, valor bem próximo do presente estudo.

Em relação a cinzas, é interessante observar que o seu teor total (sais minerais) diminuiu com o processo de germinação, apresentando diferença estatística entre as amostras controle e as que sofreram apenas o processo de irradiação. Provavelmente, a composição da água utilizada (água deionizada) não só no processo de embebição dos grãos (fase inicial de germinação), bem como na lavagem das amostras, durante todo o processo de germinação, tenha contribuído para essa diminuição. Estudo realizado por Machado et al. (2009), o qual analisou três espécies de *Fabaceae* (leguminosas) quanto à composição centesimal, alguns minerais e vitamina C durante seis dias de germinação, apresentaram valores elevados de cinzas. Uma explicação para esse aumento é que durante todo o processo de germinação utilizaram água potável, sendo esta rica em sais minerais, contribuindo com isso, com o seu aumento. O mesmo ocorreu com o estudo de Donangelo et al. (1995) que verificaram aumento do teor de cinza durante o processo de germinação para as duas das três espécies estudadas (*Lupinus albus* L.cv. Multolupa a variação foi de 3,5% de cinza na semente e 3,6% de cinza no germinado; para o feijão, foi de 4,2% de cinza na semente e 4,6% de cinza no grão germinado e só em soja houve pequena queda, com variação de 5,4% de cinza na semente e 4,8% de cinza no germinado).

Para as doses de irradiação não houve diferença estatística significativa em relação ao feijão controle. Esses resultados concordam com Al-Kaisey et al. (2003), que estudando o efeito da radiação gama em grãos de feijão com doses de 0, 2,5, 5, 7,5 e 10 kGy não encontraram alterações nos teores de cinza, proteína e gordura. Também é interessante observar que, durante o processo de germinação, as enzimas fitases, são rapidamente ativadas por simples hidratação. Com a ativação da fitase, o ácido fítico é

hidrolisado, liberando H_3PO_4 , Mg^{2+} , Ca^{2+} e inositol. Conseqüentemente, durante a germinação ocorrem reduções nos teores de ácido fítico, o que possivelmente aumentará a disponibilidade de minerais (RIBEIRO et al., 1999). Esta diminuição no teor de ácido fítico foi observada no presente estudo, o que provavelmente resultou no aumento do teor de cinzas.

VILAS BOAS et al (2002) determinaram, para brotos de soja, em base úmida, com seis dias de germinação, valor de cinza médio de $4,62 \text{ g } 100^{-1}$ broto, valores significativamente superiores em relação ao teor de cinzas obtidos para os brotos de feijão germinados durante 4 dias com teor de cinzas na base úmida de aproximadamente $0,99 \text{ g } 100^{-1}$ de broto).

O teor de proteína foi de 23,68% para o controle, 25,38% somente germinadas, sendo 25,24% para as amostras germinadas no tempo de 72 horas e 25,52% para as que foram germinadas no tempo de 96 horas, 25,07% somente irradiadas, 27,60% para as amostras germinadas no tempo de 72 horas e irradiadas nas doses 0,05; 0,1 e 0,15kGy e 27,34% para as amostras germinadas a 96 horas e irradiadas. Esse maior conteúdo de proteína no feijão germinado era esperado, visto que durante este processo ocorre à síntese enzimática protéica (BAU et al., 1997) ou a mudança na composição que segue a degradação de outros constituintes (BAU et al., 1997; RIBEIRO; IDA; OLIVEIRA, 1997; BARCELOS; VILLAS BOAS; LIMA, 2002; EL-ADAWY, 2002; MUBARAK, 2005). Estes resultados estão em concordância com os reportados por Bordignon et al. (1995), que trabalharam com três cultivares de soja, germinadas por período de 3 dias e verificaram que quando comparados as amostras com a semente não germinada, o teor protéico apresentou aumento de 16,17%; 12,65% e 8,69%, respectivamente. Os autores enfatizam que os aumentos de determinados componentes ocorrem por causa do decréscimo de outros, durante a germinação. Porém, quanto às amostras apenas irradiadas era esperado que o teor de proteína diminuísse em relação ao grão controle, já que mesmo utilizando doses reduzida de irradiação as proteínas podem sofrer desenrolamento, coagulação, desdobramento e divisão de aminoácidos. Os efeitos nas proteínas somente ocorrem em doses mais altas de irradiação. Normalmente as ligações peptídicas não são as mais atacadas e os principais efeitos verificam-se nas ligações sulfúricas e nas pontes de hidrogênio. Mas

outros autores afirmam que baixas doses de irradiação retêm a qualidade nutricional dos alimentos; carboidratos, proteínas e lipídeos permanecem relativamente estáveis (CIÉSLA et al., 2000).

Kakade & Evans (1966), estudando o efeito da embebição do grão antes da germinação e o efeito da germinação sobre o valor nutritivo de feijão, observaram que o teor de proteína diminui com a embebição, decrescendo de 23,6% de proteína, nenhum dia de embebição até 20%, 4 dias de embebição e aumentando, com a germinação, no período de 1 dia, 24,88% de proteína a 4 dias de germinação, 26,31% de proteína. Caso semelhante ao deste estudo, em que a proteína foi aumentando com o período de germinação (Tabela 2). Estes autores relatam que esse aumento ocorre graças ao decréscimo de outros compostos durante a germinação. O mesmo ocorreu com o estudo de Alonso et al. (2000) que observaram aumento gradual no período de germinação de 24, 48 e 72 horas, porém apenas no período de 72 horas que apresentou valores significativos.

El-Adawy (2002) verificou que com a germinação das sementes do grão-de-bico, o teor de proteína bruta e fibra bruta apresentaram aumento quando comparado as amostras não germinadas. O autor explica que este aumento foi devido, principalmente à utilização de componentes da semente e degradação das proteínas a peptídeos simples durante este processo.

Resultados similares em relação ao grão de feijão variedade pérola foram observados no estudo de Barrueto-Gonzáles (2007), que apresentou teor protéico em torno de 23,9%. Osborn (1988) cita que as variações encontradas no teor de proteína em grãos de leguminosas podem estar dependentes de alguns fatores como expressão genética que controla a síntese e acúmulo de frações específicas de proteína; aquisição de nutrientes, vigor da planta, maturação e tamanho da semente. Coelho (1991) menciona também que essas diferenças podem resultar do emprego de técnicas distintas de determinação, mas também podem refletir variações na composição química em função do grau de maturação em que o feijão foi colhido e condições de germinação. Além dos fatores ambientais, como localização geográfica e estação do ano (SATHE et al., 1984).

Quanto aos valores obtidos para o lipídeo, nota-se que as amostras que não foram germinadas, controle e somente irradiadas, apresentaram maior conteúdo no teor de lipídeos em relação às amostras que foram germinadas. Estes resultados apresentaram-se semelhantes aos observados na literatura. O conteúdo de lipídeo nas sementes diminui com a evolução do tempo de germinação (BAU et al., 1997; RIBEIRO; IDA; OLIVEIRA, 1997; VILAS BOAS; BARCELOS; LIMA, 2002). Essa diminuição é atribuída à degradação de reservas dos nutrientes, lipídeo e carboidrato, para o fornecimento de energia requerida durante o crescimento da planta (BAU et al., 1997; RIBEIRO; IDA; OLIVEIRA, 1997; EL-ADAWY, 2002; MUBARAK, 2005). No entanto, embora ocorra oxidação durante o processo, a análise de lipídeo não detecta esta alteração.

Resultados contraditórios foram encontrados por Bates et al. (1977), os quais verificaram que brotos de soja após 4 dias de germinação, apresentaram valores mais altos de lipídeos, 22,3%, quando comparados com grãos verdes, 20,5%, e no ponto de colheita, 21,0%. Resultados similares foram também encontrados por Donangelo et al. (1995) que verificaram aumento na composição lipídica após 48 horas de germinação nas três leguminosas estudadas (*Lupinus albus* L.cv. Multolupa apresentou aumento de 2,7%; *Glycine max* (L.) Merrill (soja) de 6,2% e *Phaseolus vulgaris* L. de 28,6%).

Os teores de fibras (solúveis e insolúveis) apresentaram aumento após o processo de germinação, já as amostras apenas irradiadas não apresentaram diferença estatística significativa entre os feijões controle. Ghavidel e Prakash (2007) demonstraram que após germinação as fibras totais e as frações dietéticas solúveis aumentaram e a fração insolúvel reduziu significativamente, considerando, entretanto, um período de germinação maior que o do presente estudo.

Machado et al. (2009) também observaram aumento no teor de fibra em feijão mungo com o processo de germinação. Verificaram que após quatro dias de germinação este aumento foi de aproximadamente 71%. Porém, Vilas Boas et al (2002), ao utilizarem a base úmida para o cálculo, determinaram valor médio de fibras para brotos de soja com seis dias de germinação de 9,41 100 g⁻¹ de brotos, apresentando decréscimo significativo com o avanço da germinação.

As quantidades de carboidratos disponíveis, obtidos por diferença, apresentaram valores de 31,18% para o feijão controle, 7,15% para as amostras que foram germinadas nos tempos de 72 e 96 horas, 27,02% para os feijões apenas irradiados, 6,85% para as amostras germinada a 72 horas e irradiadas e 6,70% para os feijões irradiados e germinados (96 horas). Assim as amostras que foram germinadas não apresentaram diferença estatística entre elas, porém diferiram das amostras controle e apenas irradiadas, mas estas ultimas não apresentaram diferença estatística entre as controle e irradiada na dose 0,05 kGy, porém diferiram das amostras irradiadas nas doses 0,1 e 0,15 kGy. A partir destes dados, observa-se redução significativa nos teores deste macronutriente para os feijões que sofreram o processo de germinação. Resultados similares foram encontrados por Machado et al. (2009) os quais verificaram que o teor de carboidrato total em grãos de mungo-verde, mungo-preto e guandu-anão diminuíram nos brotos produzidos por três dias. O mesmo ocorreu com o estudo de Hamilton & Vanderstoep (1979) que observaram diminuição no teor de carboidrato em brotos de alfafa produzidos por três dias de germinação (11,84%), em relação ao grão (53,41%). Isso pode ser decorrente ao seu uso como fonte de energia para o início da germinação, o qual proporciona a transformação de carboidratos em proteínas específicas, lipídeos e fibras, pois os referidos constituintes químicos têm em comuns cadeias básicas de carbono (EL-ADAWY, 2002; MUBARAK, 2005). Além do mais, como os carboidratos totais, são constituídos principalmente de sacarose, rafinose e estaquiose (oligossacarídeos), estes possivelmente foram hidrolisados durante o processo germinativo (EL-ADAWY, 2002; MUBARAK, 2005). Sendo a rafinose e estaquiose considerados como fatores de flatulência, sua degradação ou redução são desejáveis (RIBEIRO; IDA; OLIVEIRA, 1997). Conforme Duque et al. (1987), na germinação há um processo de metabolismo intenso que transforma as substâncias de reserva das sementes em compostos mais simples, prontamente utilizáveis pela plântula como aminoácidos, açúcares, enzimas e vitaminas, tornando-a de fácil digestibilidade para o homem.

Nas tabelas 3 e 4 estão apresentados os valores de coeficiente de correlação estimado em relação à resposta das alterações dos nutrientes com o período de germinação e doses de irradiação. Segundo Hair et al. (2005), o coeficiente de

correlação é aquela que indica a força de associação entre duas variáveis métricas. O sinal + ou – indica a direção na qual a relação irá seguir. Este valor pode variar de -1 a +1, sendo que a correlação positiva indica perfeita relação entre os parâmetros utilizados, o zero mostra que não há relação e o valor -1 mostra relação negativa perfeita ou reversa.

Assim, observa-se que o teor de carboidratos apresentou correlação negativa significativa com o período de germinação, o inverso ocorreu com as proteínas, fibras insolúveis e fibras solúveis. O teor de lipídeos não apresentou correlação com o processo germinativo. Em relação à irradiação, observa-se que os parâmetros proteína e fibra insolúvel apresentaram coeficiente de correlação positiva significativa e os lipídeos e carboidratos apresentaram valores negativos significativos. As fibras solúveis não apresentaram correlação em relação às doses de irradiação. O declínio no conteúdo de carboidrato no feijão durante a germinação está de acordo com os estudos que observaram a germinação de *Phaseolus vulgaris* (NIELSON & LIENER, 1984), *V. unguiculata* (OLOGHOBO & FETUGA, 1986) e *Dolichoalablad* (SHASTRY & JOHN, 1991). Estes autores atribuíram à redução deste constituinte devido a sua utilização no processo de germinação.

Oloyo et al. (2004) que estudaram as alterações químicas e nutricionais em sementes germinadas de *Cajanus cajan* L., observaram que com o progresso de germinação, proteína bruta e carboidrato apresentaram diminuição gradativa, já os lipídeos, fibra bruta, cinzas e energia aumentaram. Entretanto a proteína bruta e carboidrato apresentaram correlação negativa e significativa com o período de germinação e os lipídeos, fibra bruta, cinzas e energia apresentaram correlação positiva e significativa.

Os resultados obtidos das análises microbiológicas estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultados das análises microbiológicas de grãos de feijão que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o feijão controle, com NMP/g para coliformes totais e fecais e pesquisa de *Salmonella sp*/25 g

Irradiação (kGy)	Germinação (Horas)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais (NMP/g)	<i>Salmonella sp</i> /25g
0	0	Ausência	Ausência	Ausência
0,15	0	Ausência	Ausência	Ausência
0	72	11	Ausência	Ausência
0,15	72	Ausência	Ausência	Ausência
0	96	4	Ausência	Ausência
0,15	96	Ausência	Ausência	Ausência

As amostras de feijão foram submetidas a controle microbiológico seguindo os padrões microbiológicos sanitários para alimentos comercialmente estéreis destinados ao consumo humano, estabelecidos pela Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, para Alimentos prontos para consumo (BRASIL, 2001).

O valor de coliformes totais obtido para as amostras germinada no tempo de 72 e 96 horas foi de 11 e 4 NMP/g de amostra, respectivamente, isto pode significar que os coliformes totais que apresentaram crescimento podem ser de outras cepas, já que para coliformes fecais todas as amostras apresentaram ausência desse microorganismo. As amostras germinadas após o processo de irradiação não apresentaram crescimento destes microrganismos.

Na Tabela 5, também está registrado o não crescimento de *Salmonelas* em todas as amostras avaliadas. Segundo a Resolução RDC N°12, de 12 de janeiro de 2001, da ANVISA, que estabelece ausência de *Salmonella* em 25 gramas de amostra e de 5×10^2 NMP/g de coliformes a 45°C, para alimentos destinados ao consumo humano.

Comparando-se as amostras de brotos de feijão germinado no tempo de 72 e 96 horas com os valores toleráveis, observa-se crescimento de coliformes totais abaixo do aceitável, resposta que indica a não rejeição das amostras. A presença de coliformes totais nestas amostras pode ser proveniente da própria estrutura da semente ou durante o preparo dos brotos ou na água utilizada para o desenvolvimento do processo germinativo.

Assim, de acordo com os resultados, os feijões analisados apresentaram-se de acordo com os padrões previstos pela legislação seguros, podendo com isso ser utilizadas na análise sensorial.

Os dados referentes à análise sensorial dos grãos de feijão irradiado e/ou germinado e controle são apresentados nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6 - Média do grau de satisfação, de acordo com a escala hedônica (notas de 1 a 9) dos provadores em relação aos grãos de feijão que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média±desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Aroma	Sabor	Cor	Aparência
0	0	6,4 ± 1,53 ^{a,b}	6,27 ± 1,56 ^{a,b}	6,75 ± 1,73 ^a	6,60 ± 1,89 ^{a,b}
0,15	0	6,72 ± 1,5 ^a	6,62 ± 1,82 ^a	6,77 ± 1,76 ^a	6,65 ± 1,88 ^a
0	72	5,8 ± 1,5 ^{a,b}	5,45 ± 1,92 ^{a,b}	5,75 ± 1,90 ^{a,b}	5,67 ± 1,92 ^{a,b,c}
0,15	72	5,62 ± 1,84 ^b	5,35 ± 2,38 ^b	5,80 ± 2,02 ^{a,b}	5,85 ± 2,11 ^{a,b,c}
0	96	5,8 ± 1,39 ^{a,b}	5,57 ± 1,94 ^{a,b}	5,15 ± 1,77 ^b	5,35 ± 1,79 ^{b,c}
0,15	96	5,42 ± 1,73 ^b	5,45 ± 1,89 ^{a,b}	5,40 ± 1,78 ^b	5,32 ± 2,06 ^c

Valores médios de 40 provadores (9 = gostei extremamente, 1 = desgostei extremamente)

Tabela 7 - Representação dos valores em porcentagem da intenção de compra das amostras avaliadas no teste afetivo

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Intenção de compra (%)
0	0	22,22%
0,15	0	27,77%
0	72	7,40%
0,15	72	25,92%
0	96	7,40%
0,15	96	9,26%

Os resultados das avaliações sensoriais de aceitação em função das características percebidas pela degustação e aparência dos grãos de feijão controle, irradiado e germinado por três e quatro dias estão apresentados nas Tabelas 6.

Realizando-se o Teste de Tukey (Tabela 6) para comparação das médias das notas, verificou-se que, para o atributo aroma, somente as amostras 0,15 kGy e germinada no tempo de 72 e 96 horas apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) com a amostra apenas irradiada, porém não diferiram da amostra controle. A amostra irradiada na dose 0,15 kGy representa a que obteve a maior aceitação, situando-se no

atributo “gostei moderadamente”, enquanto que a amostra germinada no tempo de 96 horas e irradiada a 0,15 kGy foi a menor, encontrando-se na escala “nem gostei, nem desgostei”.

Em relação ao atributo sabor, observa-se que novamente a amostra irradiada na dose 0,15 kGy, obteve a maior aceitação diferindo estatisticamente da amostra germinada no tempo de 72 horas e irradiada a 0,15 kGy. Semelhante o que aconteceu com o atributo aroma, a amostra somente irradiada também se situa na escala hedônica “gostei moderadamente”. Deste modo podemos afirmar que a amostra irradiada a 0,15 kGy não foi efetivamente apreciada pelos provadores a ponto de obter médias equivalentes a gostei muito ou extremamente.

Quanto ao atributo cor, apenas as amostras germinadas no tempo de 96 horas e a amostra germinada (96 horas) e irradiada a 0,15 kGy diferiram significativamente das outras amostras. A amostra somente irradiada obteve a maior aceitação, situando-se no termo hedônico “gostei moderadamente”. Já a amostra germinada no tempo de 96 horas foi a que apresentou a menor nota.

Pela análise dos resultados em relação ao atributo aparência, observou-se que apenas a amostra germinada no tempo de 96 horas e irradiada a 0,15 kGy diferiram significativamente do controle. Porém a amostra somente irradiada foi novamente a que apresentou a melhor nota na escala hedônica e a amostra germinada há 96 horas e irradiada a 0,15 kGy foi a que teve o menor valor.

Estudo realizado por Vilas Boas et al. (2002), os quais verificaram boa aceitação (degustação e aparência) em brotos de soja, independente do tempo de germinação (3,4,5 e 6 dias), não apresentando diferença estatística significativa, situando-se na escala entre “gostar ligeiramente” até o “gostar moderadamente”.

A aceitação do feijão germinado, principalmente da amostra germinada no tempo de 96 horas sofreu restrições, devido, principalmente ao seu sabor e aparência desagradável. Porém, apesar de algumas restrições, podemos considerar que essas amostras não foram totalmente rejeitadas pelos avaliadores, pois na escala hedônica foi classificado como “nem gostei, nem desgostei”.

Chen et al. (1975) utilizando-se de escala de 0-10 pontos, não observaram diferenças significativas de sabor e textura entre sete cultivares de ervilhas germinadas,

exceto entre duas delas, para a característica de textura. A análise sensorial dos autores citados apresentou valor médio em torno de 6, sendo todas as cultivares de ervilha consideradas como aceitáveis. Assim, o presente estudo está de acordo com os reportados pelos autores citados acima. Sawyer et al. (1985) realizaram a análise sensorial em brotos de alfafa germinados entre 1 e 14 dias de germinação e não determinaram preferência estatisticamente significativa ($p>0,99$) entre os brotos.

Em relação aos atributos sensoriais aparência, cor e sabor, para os grãos germinados, os consumidores apresentaram preferência para o grão de feijão germinado no tempo de 72 horas. Citaram que o broto de feijão de 96 horas apresentava uma coloração bastante esverdeada e um gosto amargo bem acentuado em relação ao broto germinado no tempo de 72 horas. Um dos principais fatores responsáveis pelo esverdeamento do grão são a síntese e o acúmulo de clorofila, decorrentes da exposição à luz e conseqüente transformação de amiloplastos em cloroplastos (KRAUTLER, 2003). A exposição dos grãos à luz induz também a síntese e acúmulo de glicoalcalóides, especialmente a-solanina e a-chaconina (ROCA et al., 2004). Esses glicoalcalóides, quando em concentrações elevadas, conferem ao grão sabor amargo. Assim, embora não tenham participação no esverdeamento dos grãos, o fato da síntese desses alcalóides serem, como a da clorofila, induzida pela luz, leva os consumidores a associar o esverdeamento ao sabor amargo (TAKAMYA et al., 2000; GANDUL-ROJA et al., 2004).

Na avaliação da aparência, a amostra irradiada na dose 0,15 kGy foram consideradas “características” e não ocorreu alteração de cor entre o feijão irradiado e o feijão não irradiado. O aroma e o sabor também não se alteraram com o processo de irradiação. Nota-se que a amostra irradiada a 0,15 kGy apresentou os maiores valores para todos os parâmetros sensoriais avaliados quando comparado a amostra controle. Esta maior preferência pela amostra irradiada foi devido o seu sabor mais adocicado em relação ao grão não irradiado. Isto pode ser explicado pelo processo de irradiação destruir parcialmente substâncias fenólicas diminuindo a percepção de amargor dos grãos (MOURA et al., 2005).

Quanto à intenção de compra (tabela 7), o feijão irradiado na dose 0,15 kGy foi o que apresentou maior valor, em porcentagem, seguido da amostra germinada no

tempo de 72 horas e irradiado a 0,15 kGy, com 25,92%. A amostra controle apareceu em terceiro lugar com 22,22%. Já em relação à amostra germinada no tempo de 72 horas e irradiada a 0,15 kGy, que apresentou em segundo lugar na intenção de compra, foi devido o seu sabor amargo menos acentuado em relação a amostra germinada no tempo de 96 horas, demonstrando boa aceitabilidade pelos avaliadores.

A facilidade na obtenção destes brotos, podendo ser produzidos em casa sem utilização de equipamentos caros ou sofisticados, e as altas taxas de proteínas e fibras encontradas nas análises bioquímicas indicam que os mesmos podem ser utilizados na dieta diária das pessoas, como complemento alimentar de alto valor nutritivo. Assim, a maior disponibilidade deste tipo de broto e a melhora na qualidade nutricional possam incrementar sua aceitabilidade e sua utilização pelas pessoas.

3.4 Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

As diferenças encontradas na composição centesimal não tiveram influência do tratamento de irradiação, e sim do processo de germinação. A germinação resultou no aumento dos teores de umidade, proteína, fibra insolúvel e solúvel. Porém apresentou uma diminuição no conteúdo de cinzas, lipídeo e carboidrato.

As provas microbiológicas realizada para a avaliação da análise sensorial apresentaram crescimento bacteriano para coliformes totais abaixo do permitido pela legislação para as amostras germinadas no tempo de 72 e 96 horas, isto significa que, possivelmente, para uma produção em escala comercial, não haja necessidade de um tratamento antes da produção dos brotos. Em relação à avaliação de *salmonela* e coliformes fecais nenhuma amostra apresentou crescimento destes microorganismos.

Em relação à análise sensorial, foi observada baixa rejeição nos feijões germinados, podendo ser utilizado na produção de brotos, como forma de complemento nutricional na dieta alimentar. Porém, quando comparado ao grão irradiado e controle, os brotos apresentaram uma maior rejeição, o qual pode ser explicado pelo fato de ter sido utilizado um painel de provadores não treinados, o que normalmente não utilizam brotos em sua dieta alimentar.

Referências

ABDULLAH, A.; BALDWIM, R. E. Mineral and vitamin contents seeds and sprout of newly available small-seed soybean and smple of mungbeans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, n. 22, p.441-444, 1984.

AL-KAISEY, M.T.; ALWAN, A.H.; MOHAMMAD, M.H.; SAEED, A.H. Effect of gamma irradiation on antinutritional factors in broad bean. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 67, n.3/4, p. 493 – 496, 2003.

ALONSO, R.; AGUIRRE, A.; MARZO, F. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digesti bility of protein and starch in faba and kidney beans. **Food Chemistry**, Oxford, v.68, n.2, p.159–165, 2000.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Oficial methods of analysis**: official method 989. 17th. ed. New York: Arlington, 2000. 135p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS AOAC **Official Method of Analysis**, 18 ed. Washington: DC USA, 2005. 152p.

ASP, N.G.; JOHANSSON, C.G.; HALLMER, H.; SILJESTROEM, M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.31, n.3, p.476-482, 1983.

BARCELOS, M.F.P.; VILAS BOAS, E.V.B.; LIMA, M.A.C. Aspectos nutricionais de brotos de soja e de milho combinados. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.4, p.817-825, jul./ago., 2002.

BARRUETO-GONZÁLEZ, N.B. **Biodisponibilidade de cálcio, magnésio, cobre e zinco na soja (Glycine max) e em novas variedades de feijão-comum (Phaseolus vulgaris), obtidas por melhoramento genético clássico e sua relação com fatores antinutricionais não protéicos**. 2007. 122p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade de Campinas, Campinas, 2007.

BATES, R. P.; KNAPP, F. W.; ARAUJO, P. E. Protein quality gree-mature, dry mature and sprouted soybean. **Journal Food Science**, Chicago, v. 42, n.1, p. 271-272, 1977.

BAU, H-M. ; VILLAUME, C.; NICOLAS, J-P.; MÉJEAN L. Effect of Germination on Chemical Composition, Biochemical Constituents and Antinutritional Factors of Soya Bean (*Glycine max*) Seeds. **Journal of Science and Food Agricultural**, London, v. 73, n.1, p. 1-9, 1997.

BONETT, L.P.; BAUMGARTNER, M.S.T.; KLEIN, A.C.; SILVA, L.I. Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v.11, n.3, p.235-246, set./dez. 2007.

BORDINGNON, J. R.; IDA, E. L.; OLIVEIRA, M. C. N.; MANDARINO, J. M. G. Effect of germination on the protein content and on the level of specific activity of lipoxygenase-1 in seedlings of three soybean cultivars. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 45, n. 3, p. 222-226, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos**. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144>. Acesso em: 01 jun. 2010.

CHEN, L. H.; WELLS, C. E.; FORDHAM, J. R. Germinated seeds for human consumption. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 40, n. 6, p.1290-1294, 1975.

CIÉSLA, K.; ROOS, Y.; GLUSZEWSKI, W. Denaturation processes in gamma irradiated proteins studied by differential scanning calorimetry. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.58, n.3, p.233-243, 2000.

COELHO, R. G. Considerações sobre as proteínas de feijão. **Revista de Nutrição**, Campinas v.4, n.1/2, p. 122-145, jan./dez., 1991.

DONANGELO, C. M.; TRUGO, L.C.; TRUGO, M.F.; EGGUM, B.O. Effect of germination of legume seeds on chemical composition and on protein and energy utilization in rats. **Food Chemistry**, Oxford, v. 53, n.1, p. 23-27, 1995.

DUQUE, F.F.; SOUTO, S.M.; ABOUD, A.C. Mungo, proteína em forma de broto de feijão. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, v.1, n.1, p.21-23, abr./jun. 1987.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996. 123 p.

EL-ADAWY, T. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.57, n.1, p.83-97, 2002.

FRANCO, B. D. G. M. **Microbiologia dos Alimentos**, 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 258p.

GANDUL-ROJAS, B.; ROCA, M.; MÍNGUEZ-MOSQUETEIRA, M.I. Chlorophyll and carotenoid degradation mediated by thylakoid-associated peroxidative activity in olives (*Olea europaea*) cv. Hojiblanca. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.161, n.5, p.499-507, 2004.

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam v.40, n.7, p.1292 – 1299, 2007.

HAIR, J.F.; ANDERSON, R.E.; TATHAM, R.L.; BLACK, W.C. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. 593 p.

HAMILTON, M. J.; VANDERSTOEP, J. Germination and nutrient composition of alfafa seeds. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 44, n. 2, p. 443-445, 1979.

KAKADE, M. L.; EVANS, R. J. Effect of soaking and germination on the nutritive value of navy beans. **Journal Food Science**, Chicago, v. 31, n. 5, p.781-783, 1966.

KRAUTLER, B. Chlorophyll breakdow and chlrophyll catabolites. In **The Porphyrin Handbook**: Kadish, K.M., Smith, K.M., Guillard, R., Eds.; Publisher: Elsevier Science Publishing, New York, v.13, n.1, p. 183-209, 2009.

KUTOS, T.; GOLOB,T.; KAC, M.; PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chemistry**, Oxford, v. 80, n.2, p. 231 -235, 2003.

KYLEN, A. M.; McCREADY, R. M. Nutrients in seeds and sprouts of alfafa, lentils, mung beans and soybeans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 40, n.5, p. 1008-1009, 1975.

LOURES, N.T.P. **Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de brotos de lentilha da variedade precoce**. Cascável/PR, 2007. 67p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascável/PR, 2007.

MACHADO, A.L.L.; BARCELOS, M.F.P.; TEIXEIRA, A.H.R.; NOGUEIRA, D.A. Avaliação de componentes químicos em brotos de fabaceae para o consumo humano. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1071-1078, jul./ago. 2009.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR. G. **Sensory Evaluation Techniques**. 3. ed. London: CRC Press, 1999. 281 p.

MOON, J. W., "Theoretical physiological basis for radiation hormesis, In: CONFERENCE OF RADIATION HORMESIS, 1985, Oakland, **Procedings....**New York: Marcel Dekker, 1985.p. 14 – 16.

MOURA, N.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; SPOTO, M.H.F.; ARTHUR, V. Avaliação sensorial de feijão preto submetido à radiação de cobalto⁶⁰. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.2, p.370-374, abr./jun., 2005.

MUBARAK, A.E. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. **Food Chemistry**, Oxford, v.89, n.4, p.489-495, 2005.

NETO, L. **Germinação de sementes de soja armazenados em bancos de germoplasma**. 2004. 104p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Lavras, Lavras 2004.

NIELSON, S.S.; LIENER, I.E. Degradation of the major storage proteins of *Phaseolus vulgaris* during germination. Role of endogenous proteases and protease inhibitors. **Plant Physiology**, Rockville, v.74, n.3, p.494-502, 1984.

OLOGHOBO, A.D.; FETUGA, B.L. Effect of processing on the trypsin inhibitor, haemagglutinin, tannic acid and phytic acid contents of seeds of ten cowpea varieties. **Tropical Agriculture**, New York, v.61, n.4, p.261-264, 1984.

OLOYO, R.A. Chemical and nutrition quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. **Food Chemistry**, Oxford, v.85, n.4, p.497-502, 2004.

OSBORN, T. C. Genetic control of bean seed protein. **Agronomy Journal**, Madison, v. 7, n.1, p. 93-116, 1988.

PUNTARULO, S., SANCHES, R. A., BOVERIS, A. "Hidrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination", **Plant Physiology**, Rockville, v. 86, n.2, p. 626 – 630, 1988.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, LÚCIA DE LOS ÁNGELES. **Biodisponibilidade de zinco e de ferro, valor nutricional e funcional de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamentos domésticos**. 2006. 189p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

RIBEIRO, M.L.L.; IDA, E.I.; OLIVEIRA, M.C.N. Germinação de soja BR – 13 e Paraná: efeito sobre os constituintes minerais. **Archivos Latinoamericanos de Nutrition**, Caracas, v.47, n.4, p.352-358, 1997.

RIBEIRO, M.L.L.; IDA, E.I.; OLIVEIRA, M.C.N. Efeito da germinação de soja CV. BR – 13 e Paraná sobre ácido fítico, fósforo total e inibidores de tripsina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.1, p.31-36, 1999.

ROCA, M.; JAMES, C.; PRUZINSKA, A.; HORTENSTEINER, S.; THOMAS, H.; OUGHAM, H. Analysis of the chlorophyll catabolism pathway in leaves of a introgression senescence mutant of *Lolium Temulentum*. **Phytochemistry**, Kidlington, v.65, n.1, p.1231-1238, 2004.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*. A review. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **CRC Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, London, v. 21, n. 1, p. 41-93, 1984.

SAWYER, C.A.; DeVITTO, A.K.; ZABIK, M.E. Food service systems: comparison of production methods and storage times for alfalfa sprouts. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, n.1, p.188-191, Jan./Feb. 1985.

SHASTRY, M.; JOHN, E. Biochemical changes 1985 and in vitro protein digestibility of the endosperm germinating *Dolichos lablab*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.55, n.4, p.529-538, 1991.

SHEPPARD, S. C., HAWKINS, J. L., "Radiation Hormesis of seedlings and seeds, simply elusive or an artifact?" **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 30, n. 1, p. 17 – 25, 1990.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos** : métodos químicos e biológicos. 2.ed. Viçosa: UFV, 1990. p. 1-18.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia dos alimentos**, 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2000. 136p.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc software**: usage and reference (version 6). 2. ed. Cary, 1996. 1CD-ROM.

SWANSON, K.M.J.; PETRAN, R.L.; HANLIN, J.H. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. cap 6, p.53-67.

TAKAMURA, K.; TSUCHIYA, T.; OHTA, H. Degradation pathway(s) of chlorophyll: what has gene cloning revealed? **Trends in Plant Science**, Kidlington, v.5, n.10, p. 426-431, 2000.

VILAS BOAS, E.V.de B.; BARCELOS, M.F.P.; LIMA, M.A.C. Tempo de germinação e características físicas, químicas e sensoriais dos brotos de soja e de milho nas formas isoladas e combinadas. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.1, p.148-156, jan./fev., 2002.

VILLAVICENCIO, A., MANCINI-FILHO, J., DELINCEÉ, H. Effect of irradiation on antinutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics Chemistry**, Oxford, v.57, n. 3/6, p. 289-293, 2000.

VILLELA, F.A.; NOVOBRE, A.D.L.C.; FILHO, J.M. Estado energético da água na germinação de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n.1, p. 27-34, 2007.

4 EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA E DO PROCESSO DE GERMINAÇÃO NOS FATORES ANTINUTRICIONAIS E NA DIGESTIBILIDADE PROTÉICA *IN VITRO* EM FEIJÃO

Resumo

O feijão faz parte dos alimentos tradicionais consumidos na dieta da população brasileira e de muitos outros países, constituindo-se da principal fonte de proteína dos brasileiros, seguido pela carne bovina. Ele é considerado um excelente alimento porque fornece nutrientes essenciais, como proteína, ferro, cálcio, zinco, magnésio, vitaminas (principalmente do complexo B), carboidratos e fibras. No entanto a presença de fatores antinutricionais, como ácido fítico, inibidor de tripsina, taninos e lectina, prejudicam a digestibilidade e disponibilidade de certos nutrientes. Atualmente, o processo de germinação e irradiação tem sido empregado como alternativa para remoção ou inativação desses constituintes, melhorando com isso suas qualidades nutricionais. Deste modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da irradiação e germinação nos fatores antinutricionais e na digestibilidade de proteína do grão de feijão. O feijão utilizado foi da variedade carioca, cultivar pérola, adquirido por produtores de Goiás. Os grãos foram irradiados com Cobalto⁶⁰, nas doses 0, 0,05, 0,1 e 0,15 kGy. Após o tratamento de irradiação ocorreu a germinação que foi realizada em temperatura e luminosidade ambiente durante 72 e 96 horas. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas. O delineamento do estudo incluiu 12 tratamentos (4 doses e 3 tempos). Foram realizadas análises de ácido fítico, taninos, inibidor de tripsina, lectina e digestibilidade protéica. Os teores de ácido fítico apresentaram redução em seu conteúdo após a germinação, apesar de não ter sido significativo a 5%, em relação à amostra controle e as amostras somente irradiadas. Os valores de taninos, após o tempo de germinação de 72 horas não foi detectado teor deste antinutricional nas amostras. Houve redução estatisticamente significativa no conteúdo de inibidor de tripsina entre as amostras analisadas com o efeito da germinação. Na concentração de lectina, a germinação diminuiu o seu teor e a irradiação não apresentou efeito no conteúdo com o aumento das doses. Já a digestibilidade protéica *in vitro* apresentou aumento significativo após o processo de germinação. Assim pode-se concluir que o processo de germinação proporcionou alterações na composição do grão, levando a melhora da qualidade nutricional do feijão e a irradiação não comprometeu o seu valor nutricional, pois a utilização de baixas doses foi como forma de estimular o brotamento dos grão e não como forma de reduzir os fatores antinutricionais.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; Radiação gama; Antinutricional; Digestibilidade

Abstract

Bean is part of traditional foods largely consumed by the Brazilian population and in many other countries, it has become the main source of protein, after beef. It is considered excellent food because it provides essential nutrients such as protein, iron,

calcium, zinc, magnesium, vitamins (especially complex B), carbohydrates and fiber. However, the presence of anti-nutritional factors like phytic acid, trypsin inhibitors, lectins and tannins, impair the digestibility and availability of certain nutrients. Currently, the germination and irradiation processes have been used as an alternative for the removal or inactivation of these components, thus improving the nutritional quality of the bean. This study aimed to evaluate the effect of irradiation and germination on the anti-nutritional factors and protein digestibility of the bean. The bean variety used was “carioca”, cultivar “pérola”, obtained from producers of Goiás state in Brazil. The beans were irradiated with Cobalt⁶⁰ at doses of 0, 0.05, 0.1 and 0.15 kGy. After the irradiation treatment, germination occurred at room temperature and light for 72 and 96 hours. Then, the samples were frozen and lyophilized. The study design included 12 treatments (four doses and 3 replicates). Analyses were performed of phytic acid, tannins, trypsin inhibitor, lectin and protein digestibility. The phytic acid showed a reduction in its content after germination, although it was not significant at 5%, compared to the control sample and samples irradiated only. The contents of tannins, after the germination time of 72 hours, were not detected in the samples. There was a statistically significant reduction in trypsin inhibitor content between the samples with the effect of germination. In the concentration of lectin, germination decreased its content and irradiation had no effect on its content with increasing doses. The *in vitro* protein digestibility increased significantly after the germination process. Thus, it is concluded that the germination process provided changes in the bean composition, leading to its improved nutritional quality and irradiation did not compromise its nutritional value, as the use of low doses aimed to stimulate the bean sprouting and not as a way to reduce anti-nutritional factors.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; Radiation gamma; Anti-nutritional; Digestibility

4.1 Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) é uma fonte rica de nutrientes, sendo considerado por muito tempo no Brasil como o alimento básico para a população (COSTA et al., 2006). Provê quantidades significativas de proteínas, calorias, ácidos graxos insaturados (ácido linoléico), fibra alimentar, especialmente fibra solúvel, e é excelente fonte de alguns minerais e vitaminas (COELHO, 1991; BERRIOS et al., 1999; VILLAVICENCIO et al., 2000; KUTOS et al., 2003), além de possuir compostos fenólicos com ação antioxidante que podem reduzir a incidência de doenças. Apesar de tais vantagens, os feijões apresentam algumas características indesejáveis que limitam sua aceitabilidade ou seu valor nutricional, tais como: o fenômeno *hard to cook*, a presença de fatores antinutricionais, e o baixo valor nutricional das suas proteínas (JOOD et al., 1986; DE-LEON et al., 1992; VIDAL-VALVERDE, 1993; BARAMPAMA; SIMARD, 1994; COSTA DE OLIVEIRA et al., 2001).

Entre os fatores antinutricionais, o feijão contém principalmente taninos condensados, flavonóides, ácidos fenólicos, cumarinas, inibidor de tripsina, lectinas e ácido fítico (VIDAL-VALVERDE et al., 1997; EL-NIELY, 2007; RANILLA et al., 2007; ROCHA-GUZMÁN et al., 2007), sendo este último a principal forma de armazenamento de fósforo.

Os compostos fenólicos são uma das maiores classes de metabólitos secundários de plantas. Estes compostos existentes nos alimentos pertencem geralmente a ácidos fenólicos, flavonóides, cumarinas e taninos (PAULA, 2007). Apresentam destaque especial como antioxidante, por atuarem como eficientes captadores de espécies reativas de oxigênio, além de reduzirem e quelarem íons férrico que catalisam a peroxidação lipídica (RAMAKRISHNA et al., 2006; ANDRADE et al., 2007). Os taninos são encontrados principalmente na casca das sementes, constituindo fatores que têm sugerido como responsáveis pela baixa biodisponibilidade de ferro em feijões, diminuindo o valor nutricional das leguminosas. O nível desses taninos está relacionado com a cor da semente, ou seja, o branco possui quantidades muito baixas, enquanto o vermelho e o preto têm teores significativamente maiores. Os taninos dos feijões, localizados principalmente na casca do grão, são formados a partir da polimerização de compostos fenólicos e são caracterizados como não hidrolisáveis (ou taninos condensados), pois não são encontradas moléculas de glicose, após incubação sob condições de hidrólise (VILLAVICENCIO, 1998).

O ácido fítico, mio-inositol 1,2,3,4,5,6-hexafosfato, IP_6 é um composto natural, formado durante o processo de maturação das sementes e também responsáveis pela iniciação da dormência, constituindo a maior porção de fósforo total nos grãos (VILLAVICENCIO, 1998). Está presente em todo o reino vegetal e seus teores em feijões comuns variam de 0,6 a 2,7%. Esta variação pode ser devida, em parte, à diferença de variedades e em razão dos métodos de determinação. Nas sementes de leguminosas, os fitatos estão concentrados nos corpos protéicos do endosperma (RAMIREZ-CARDENAS, 2006).

A ação antinutricional de taninos e fitatos está baseada na capacidade de formar complexos insolúveis com minerais, inibir a atividade proteolítica das enzimas (proteínas) e amidos biologicamente indisponíveis para seres humanos em condições

fisiológicas normais, diminuindo, desta forma, a biodisponibilidade nutricional de importantes minerais e proteínas (TORRE *et al.*, 1991; RICKARD e THOMPSON, 1997; MARTINEZ-VALVERDE *et al.*, 2000; MARTINEZ-DOMINGUEZ, 2002). Entretanto, o ácido fítico e os compostos fenólicos quando em baixas concentrações apresentam também efeitos positivos sobre a saúde como ação protetora frente ao câncer, e prevenção de enfermidades cardiovasculares (SHAHIDI, 1997; MARTINEZ-DOMINGUEZ, 2002; RAMIREZ-CARDENAS, 2006).

A enzima responsável pela catálise hidrolítica do fitato é a fitase, que produz menores mioinositois fosfatos e o ácido fosfórico na razão de 1:6. Estas enzimas estão sempre presentes nos germes, mas durante a germinação, encontra-se em uma quantidade maior (KONIETZNY *et al.*, 1995). Durante a estocagem, fermentação, germinação, processamento dos alimentos ou mesmo na digestão de seres humanos, as fitases hidrolisam o fitato a mioinositol fosfato intermediários, formando as frações menores de inositol fosfatos, tais como o inositol pentafofato (IP5), inositol tetratafofato (IP4), inositol trifosfato (IP3), inositol difosfato (IP2), inositol monofosfato (IP1). Somente IP6 e IP5, têm um efeito negativo na biodisponibilidade dos minerais, os outros produtos hidroliticamente formados têm pouca capacidade de se ligarem a minerais ou a complexos formados, sendo assim, mais solúveis (VILLAVICENCIO, 1998).

No feijão também são conhecidos os inibidores de tripsina, denominados de Kunitz e Bowman-Birk. Em face de seus efeitos antinutricionais, vários estudos têm sido realizados para esclarecer o mecanismo de ação destes compostos, uma vez que ambos causam hipertrofia de pâncreas de ratos e aves (RIBEIRO *et al.*, 1999). Os inibidores de protease são proteínas que apresentam a capacidade de inibir a atividade proteolítica de certas enzimas, encontrados em muitas plantas, principalmente nas leguminosas. São de importância nutricional, pois influenciam no aproveitamento das proteínas das plantas. São proteínas termolábeis, no entanto, há necessidade do aquecimento adequado para provocar a sua inativação, aumentando, assim, o valor nutritivo das proteínas do vegetal que as contém. A temperatura, a duração do aquecimento, o tamanho das partículas e a umidade foram considerados os fatores

mais importantes para desativar a atividade dos inibidores de proteases (CANNIATTI-BRAZACA, 1994).

As lectinas (ou hemaglutininas), também considerado um fator antinutricional, são proteínas não pertencentes ao sistema imunológico, porém capazes de reconhecer sítios específicos em moléculas e ligar-se reversivelmente a carboidratos, sem alterar a estrutura covalente das ligações glicosídicas dos sítios (SILVA et al., 2000; ALMEIDA et al., 2008; ZHANG et al., 2009), além do mais são caracterizadas e detectadas por sua habilidade em aglutinar eritrócitos, em certos casos com alta especificidade (MENACHO, 2009). Algumas lectinas isoladas de sementes de leguminosas podem inibir o crescimento de animais experimentais e reduzir a digestibilidade e o valor biológico das proteínas (CARVALHO et al., 1998). Estas propriedades antinutricionais são provavelmente causadas pelo fato de algumas lectinas comprometer a integridade do epitélio intestinas e, portanto, a absorção e utilização de certos nutrientes (RADBERG et al., 2001; REYNOSO-CAMACHO et al., 2003). Encontradas em uma ampla variedade de espécies de plantas e animais, entretanto, estas substâncias estão presentes em maior quantidade em grãos de leguminosas como o feijão (5% do peso seco) e soja (6,5% do peso seco) e gramíneas (SILVA et al., 2000; SHARON et al., 2002). Os feijões comuns podem conter aproximadamente 20 g de lectina por 100 gramas de farinha (BURBANO et al., 1999). São acumuladas nos vacúolos das proteínas e nos cotilédones, variando de 2 a 10%, e são degradados durante o processo de germinação (VASCONEZ-COSTA, 2004; GONZÁLES DE MEJÍA & PRISECARU, 2005; BONETT et al., 2007).

A fim de melhorar a qualidade nutricional do feijão, o processo de germinação tem sido proposto. A germinação é definida como o processo pelo qual, sob condições favoráveis, o eixo embrionário retorna ao seu desenvolvimento, que tinha sido interrompido por ocasião da maturidade fisiológica. A absorção de água na semente é o primeiro evento da germinação e promove reidratação dos tecidos, o aumento da respiração e de outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e de nutrientes necessários para a retomada do crescimento da parte do eixo embrionário (NETO, 2004).

Este método é uma alternativa adequada para diminuição de fatores antinutricionais, como os fitatos, inibidores da protease, lectinas e taninos, presentes originalmente nestes grãos, o qual proporcionará melhora da digestibilidade protéica do grão (BARCELOS et al., 2002). Além de converter proteínas vegetais de baixa qualidade nutricional em proteínas de melhor qualidade, também provoca mudanças na composição centesimal, aumento nos teores de certos aminoácidos essenciais e vitaminas do complexo B, degradação parcial de proteínas e amido e melhora na digestibilidade (SHIMELIS et al., 2007; MACHADO et al., 2009). Porém estas alterações podem variar no tipo de vegetal, a variedade da semente e as condições de germinação (SANGRONIS et al., 2007).

Entretanto, em muitos casos, o uso de apenas um único método não é capaz de obter alterações nutricionais desejáveis, sendo necessário à associação de dois ou mais métodos (ABU-TARBOUSH, 1998; SIDDHURAJU; MAKKAR; BECKER, 2002; GHAVIDEL et al., 2007).

Deste modo, outra técnica muito utilizada na redução dos fatores antinutricionais é a aplicação da radiação ionizante. A radiação ionizante é considerada um método seguro e eficiente para alguns alimentos podendo reduzir o risco de infecção alimentar e preservá-los com o mínimo de impacto em seu valor nutricional. Além do mais promove diminuição da dureza das sementes e diminuição do tempo de cocção. O processo não aumenta o nível de radioatividade normal dos alimentos. Poderão ser utilizadas, em geral nos alimentos as irradiações ionizantes, cuja energia seja inferior ao limiar das reações nucleares que poderiam induzir radioatividade no material irradiado (BRIGIDE, 2002; ARMELIN et al., 2007). O uso da irradiação em baixas doses nos alimentos é conhecido por aumentar a sua brotação, o qual está relacionado a muitos fatores que incluem a espécie de planta, o estágio em que os tecidos das plantas foram irradiados e as condições ambientais em que foram feitas as irradiações (ZAKA et al., 2004). A radiação interage com a água e cria um grande número de radicais com curta meias-vidas, dos quais os óxidos e peróxidos são normalmente os elementos finais. Óxidos e peróxidos atuam na matéria biológica provocando alterações, dentre as quais podemos destacar: iniciam a síntese de proteínas (MOON, 1985; PUNTARULO et al., 1988) e modificam o funcionamento da

membrana. Baseando-se nestes conceitos e na literatura existente, conclui-se que este fenômeno pode ocorrer em qualquer espécie de planta ou cultivar e que a resposta ao estímulo de crescimento é detectada imediatamente após a irradiação (na germinação) (SHEPPARD et al., 1990).

Dentro da perspectiva das modificações nutricionais que ocorrem com os feijões após o processamento de irradiação e germinação, o trabalho tem como objetivo verificar os efeitos das radiações ionizantes e o processo de germinação, isolados e combinados, sobre os aspectos químicos, físicos e nutricionais do feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.).

4.2 Material e Método

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil.

4.2.1 Matéria-Prima

A matéria-prima utilizada para a realização do experimento foi o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) da variedade carioca, cultivar pérola, adquirido por produtores da região de Rio Verde, interior de Goiás-GO. Os grãos foram irradiados no CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura), utilizando raios gama, provenientes de uma fonte de Cobalto⁶⁰, do tipo Gammacell, nas doses de 0, 0,05, 0,1 e 0,15 kGy sob taxa de dose de 0,456 kGy/hora e posteriormente foram germinados. A quantidade da dose absorvida durante a irradiação foi medida através de dosímetro polimethylmetacrílico (PMMA – Red perspex). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, e a dose de radiação absorvida foi relatada quantitativamente no intervalo de 530 nm. Para analisar os grãos somente irradiados, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* com a finalidade de obtenção da farinha. Essa farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

4.2.2 Germinação

Para a germinação os grãos de feijão sofreram imersão em 300ml de hipoclorito de sódio a 1% (v/v) por 20 min. Lavagem com água deionizada, hidratação

dos grãos em 300ml de água deionizada por 8h à temperatura ambiente e ao final foi retirado o excesso de água. Após a hidratação os grãos foram mantidos no laboratório com temperatura e luminosidade ambiente. A germinação ocorreu durante os meses de novembro de 2009 até maio de 2010 com a temperatura variando na faixa entre 30°C a 18,5°C (temperatura média de 24,2°C) e a umidade relativa do ar em média 77,3%. A cada 8h as sementes eram umedecidas e agitadas levemente. As amostras foram recolhidas para análises após 72h e 96h de germinação. As amostras foram congeladas a -80° C durante um dia e posteriormente foram liofilizadas e trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* para a realização das análises. Após ser utilizada, a farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

4.2.3 Tratamentos

Após os processos de irradiação e germinação, foram realizados os seguintes tratamentos:

T1- Grão controle	T5- Grão germinado 48 horas	T9- Grão germinado 96 horas
T2- Grão irradiado 0,05kGy	T6- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,05kGy	T10- Gão germinado 96 horas e irradiado 0,05kGy
T3- Grão irradiado 0,1kGy	T7- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,1kGy	T11- Grão germinado 96 horas e irradiado 0,1kGY
T4- Grão irradiado 0,15kGy	T8- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,15kGy	T12- Grão germinado 96 horas e irradiado 0,15kGY

Em seguida, os grãos de feijões que foram germinados foram congelados para posterior liofilização. Após esta etapa, todas as amostras foram moídas em moinho até ficarem farelo.

4.2.4 Fatores Antinutricionais

4.2.4.1 Inibidores de Tripsina

A atividade inibitória de tripsina foi determinada de acordo com Kakade et al., (1969), usando-se benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPA) como substrato; 0,2 a 1,0 mL dos extratos protéicos foram pipetados e o volume final ajustado para 0,1 mL com tampão Tris 50 mM, pH 8,2, contendo CaCl_2 20 mM. A cada tubo, previamente acondicionado em banho-maria a 37° C, foi adicionado 1,0 mL da solução de tripsina (0,05 mg/mL de HCl 0,01 N) e, após 5 min., 7,0 mL de BAPA (0,3 mg/mL de tampão Tris 50mM, pH 8,2, contendo CaCl_2 20 mM), previamente aquecido a 37° C. A reação foi interrompida após 10 min pela adição de 1,0 mL de ácido acético 30%, filtrada em papel de filtro Whatman número 3 e realizada a leitura a 410 nm.

Utilizou-se como unidade da tripsina (UT) o aumento de 0,01 na absorbância a 410 nm nas condições do teste. As unidades da tripsina totais (UT) da atividade máxima e as da amostras contendo os inibidores (UTI). Os resultados foram expressos como UTI por g de proteína.

4.2.4.2 Ácido Fítico

O teor total de ácido fóico nas amostras foi determinado segundo o método descrito por Grynspan e Cheryan (1989), onde as amostras foram digeridas em 10 mL de solução de HCl 0,65 N durante 1 hora com agitação casual, posteriormente centrifugada a 300 rpm por 10 min. Na seqüência, foi pipetado 2 mL do sobrenadante que foi diluído em água destilada em balão volumétrico de 25 mL. Pipetou-se 10 mL da solução do balão para bureta previamente preparada fazendo com que a solução eluísse através de resina a uma velocidade de 1 gota a cada 30 segundos, posteriormente o eluído foi descartado. Em seguida foi pipetado 15 mL de solução de NaCl 0,1 M para a bureta, sendo o eluído descartado também. Pipetou-se 15 mL de solução de NaCl 0,7 M recolhendo o eluído em Becker limpo onde foi pipetado 5 mL em tubos de ensaio adicionados de 1 mL de reagente de Wade com agitação vigorosa. Após 15 minutos foi realizada a leitura da absorbância a 500 nm em espectrofotômetro, obtendo-se assim o teor de ácido fóico a partir da construção de curva padrão. Os resultados foram expressos em mg de ácido fóico/g de amostra.

4.2.4.3 Hemaglutinnas (Lectinas)

Empregou-se o método que se baseia na sensibilidade à aglutinação das hemácias tripsinizadas de boi e de coelho, quando na presença de hemaglutinina

(LIENER, 1955). As amostras de sangue foram convenientemente tratadas com anticoagulantes e solução tampão fosfato pH 7,0. A tripsinização das hemáceas foi feita, adicionando-se 20 mg de tripsina Difco (1:250) em 10 mL de solução salina tamponada (2:1 p/v) e mantendo a mistura à 37°C por 1 hora. Após esse período, repetiu-se a operação de lavagem e feita a ressuspensão das hemáceas a 1% (v/v) com solução tampão e então realizada a reação de aglutinação, colocando-se 50 microlitros de solução tampão salina em placas mais 50 microlitros de amostra, fazendo-se diluição seriada seqüencial. As placas foram incubadas por 1 hora a 37°C e posteriormente foi feita a leitura, definindo o título hemaglutinante como sendo a maior diluição capaz de promover aglutinação (+) nas condições do ensaio (MANCINI FILHO, 1982).

4.2.5 Compostos Fenólicos

4.2.5.1 Taninos Condensados

O conteúdo de taninos condensados das amostras foi determinado pelo método do butanol ácido segundo Porter; Hrstich e Chan (1986) com modificações sugeridas por Hagerman (1978). Inicialmente, pesou-se 0,6g dos grãos somente irradiados e controle e 1,2g as amostras que sofreram os dois processos e as amostras que foram somente germinados. Adicionou-se 10 mL de metanol para extração, cobrindo com papel alumínio. Agitou-se por 20 minutos, e a seguir foi centrifugado por 20 minutos a 4000rpm. Foi acertado em balão 10 mL do sobrenadante, para que a seguir ser adicionado 1 mL do extrato com 5 mL da mistura valina 1:1 em tubo de ensaio. Foram cobertos novamente com papel alumínio, agitando por 20 minutos à 30° C em banho Maria. As leituras das absorbâncias foram realizadas à 500nm em espectrofotômetro.

4.2.6 Digestibilidade protéica *in vitro* da proteína

A digestibilidade *in vitro* foi determinada segundo metodologia descrita por Akeson e Stahman (1964), a qual se baseia na hidrólise enzimática das proteínas com pepsina e pancreatina, seguida da determinação do nitrogênio não precipitável com ácido pícrico. A amostra fresca foi misturada com solução de pepsina na concentração de 3 mg/mL em HCL 0,1 N e deixada a 37°C por 3 horas. Posteriormente, foi neutralizada com NaOH 0,1 N, sendo então adicionada a solução de pancreatina na

concentração de 0,4% em tampão fosfato 0,1 M à pH 8,0, ficando a mistura incubada durante 24 horas sob agitação à 37°C. Foram retirados 2 mL da mistura, na qual foi acrescentados 10 mL de ácido pícrico a 1%. Logo após, foram centrifugadas a 4.000 rpm por 30 minutos. Do sobrenadante foi determinado o nitrogênio através do método Microkjeldahl.

4.2.7 Análise Estatística

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento para todas as análises químicas, sendo os resultados expressos em média±desvio-padrão. Foi realizada análise de variância pelo teste F e a comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos segundo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) através do programa *Software Statistical Analysis System* (SAS). Fez-se também a correlação de Pearson, entre todas as variáveis estudadas com o processo de germinação e irradiação. A construção dos gráficos e tabelas foi feita pelo programa Excel (Microsoft).

4.3 Resultado e Discussão

Os resultados obtidos no ácido fítico estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 - Teores de ácido fítico (mg g^{-1} feijão) em base seca, para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média $\pm$ desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Teor de Ácido Fítico (mg g^{-1})
0	0	11,85 $\pm$ 0,33 ^{b,c,d}
0	72	10,64 $\pm$ 0,51 ^d
0	96	11,04 $\pm$ 0,52 ^{c,d}
0,05	0	15,00 $\pm$ 1,11 ^{a,b}
0,05	72	15,16 $\pm$ 1,77 ^a
0,05	96	15,73 $\pm$ 0,95 ^a
0,1	0	14,44 $\pm$ 2,12 ^{a,b}
0,1	72	13,78 $\pm$ 0,62 ^{a,b,c,d}
0,1	96	13,92 $\pm$ 0,59 ^{a,b,c}
0,15	0	12,98 $\pm$ 1,31 ^{a,b,c,d}
0,15	72	14,71 $\pm$ 0,47 ^{a,b}
0,15	96	14,48 $\pm$ 1,25 ^{a,b}

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

Analisando a tabela 8 nota-se que com a evolução do tempo de germinação foi observado redução em seu conteúdo, apesar de não ter sido significativo a 5% de probabilidade, em relação a amostra controle e as amostras irradiadas, mostrando uma correlação alta e negativa (-0,84) com este processo. Esta redução foi de aproximadamente 11% e 7% no tempo de 72 e 96 horas, respectivamente. Já a irradiação apresentou pequeno efeito no teor deste antinutricional, com coeficiente de correlação de 0,25, não apresentando diferença estatística significativa entre as doses estudadas. Resultados similares foram encontrados por Ribeiro et al. (1999) com reduções nos teores de ácido fítico entre 15,96% e 9,46% no período de germinação de 72 horas, em duas cultivares diferentes de soja.

Estudo realizado por Ayet et al. (1997) verificaram que os teores de ácido fítico não diminuíram durante os primeiros 3 dias de germinação; após este período foi detectado redução acentuada em seus níveis.

Bau et al. (1997) afirmaram que após 5 dias de germinação da soja, seus teores de ácido fítico diminuíram em torno de 17% e após 12 dias de germinação, esta redução chegou aproximadamente 50%. Essa diminuição ocorre, pois durante o processo de germinação, as enzimas existentes na semente, entre elas a fitase, são rapidamente ativadas por simples hidratação. Com a ativação da fitase, o ácido fítico é hidrolisado, liberando H_3PO_4 , Mg^{2+} , Ca^{2+} e inositol. Consequentemente, durante a germinação ocorrem reduções nos teores de ácido fítico, o qual possivelmente aumentará a biodisponibilidade de minerais, aumentando o seu valor nutricional (RIBEIRO et al., 1999; SHIMELIS et al., 2007). A biodisponibilidade dos minerais, principalmente magnésio, cálcio, ferro e zinco, e proteínas são baixas antes do processo de germinação, pois o ácido fítico interfere na utilização de proteína devido à formação fitato-proteína e complexos fitato-mineral-proteína e na inibição das enzimas digestivas (WANG et al., 2006).

Shimelis et al. (2007) também observaram redução no conteúdo de ácido fítico (acima de 75%) nas três variedades de feijão estudadas (variedades Roba, Awash e Beshbesh), indicando um aumento na hidrólise de fitato durante a germinação, o que levou a liberação de fosfatos inorgânicos e orgânicos. O mesmo aconteceu com o estudo de El-Mahdy et al. (1985) o qual a germinação levou a uma diminuição acentuada no teor de ácido fítico em lentilhas e um considerável aumento do fósforo inorgânico e dos fósforos orgânicos. Estes resultados estão de acordo com o presente trabalho que observou aumento no conteúdo de fósforo total (controle: $4,51 \text{ g Kg}^{-1}$; $4,57 \text{ g Kg}^{-1}$) durante a germinação com a diminuição do teor de ácido fítico, aumentando com isso a disponibilidade desse mineral e a redução dos efeitos indesejáveis deste antinutricional. Este aumento foi de 1,33% para os brotos de feijão germinados no tempo de 72 horas. Hahm et al. (2009) relataram um aumento de 6% do fósforo após a germinação de sementes de gergelim por 3 dias, enquanto Mubarak (2005) relatou cerca de 4% de aumento no fósforo total em brotos de feijão após 3 dias de germinação. O aumento no conteúdo deste mineral pode estar atribuído ao aumento da atividade da enzima fitase durante a germinação.

Mubarak (2005) observou redução de 30% do fitato em feijão (*Phaseolus aureus*) após três dias de germinação. Já estudo realizado por Azeke et al. (2010), a

redução no teor de ácido fítico foi entre 18 e 45% após 3 dias de germinação. As maiores reduções apresentadas no estudo citado acima foi nos primeiros 6-7 dias de germinação, após o 7º dia esta redução não foi significativa. Isso coincide com a atividade da enzima fitase o qual foi observado redução neste mesmo período.

É relatado por diversos autores (BAU et al., 1997; SHIMELIS et al., 2007; AZEKE et al., 2010), aumento de 800 a 2000% da atividade da enzima fitase em diversas variedades de leguminosas com cinco dias de germinação (BAU et al., 1997). Egli et al. (2002) observou que a germinação favoreceu a atividade da enzima fitase, sendo que nas primeiras 24 horas a enzima permaneceu estável, seguido de um aumento após 48 e 72 horas. Este aumento foi superior a 300% do valor inicial nas amostras de lentilha, feijão e ervilha. Porém, esta elevação dependerá das condições de germinação estudadas, como por exemplo, variações ambientais, localização de cultivo, tipos de solo, aplicações de fertilizantes, bem como o tipo e cultivar do grão analisado (VIDAL-VALVERDE et al., 2002; SHIMELIS et al., 2007).

Azeke et al. (2010) também observou aumento significativo na atividade da enzima fitase durante o processo de germinação. Uma das explicações, segundo o autor, é que a germinação pode ter resultado na síntese da enzima fitase em adição de outras proteínas ou as enzimas fitases dormentes podem ter sido ativadas durante este processo. Porém, os mesmos autores, observaram que após este aumento, a atividade da enzima fitase diminui significativamente, provavelmente devido à degradação da enzima por ativar protease ou devido à inibição pela acumulação de fosfato.

Levando em consideração que a redução no conteúdo do ácido fítico é uma consequência do aumento da enzima fitase durante o processo de germinação, é importante determinar não só o seu conteúdo como também os produtos de sua hidrólise (IP_6), sendo somente o IP_5 e IP_6 que têm efeito na biodisponibilidade de minerais, os demais compostos formados têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou os complexos formados são mais solúveis (PAULA, 2007). Vários autores (TRUGO, DONANGELO, TRUGO, BACH, 2000; VIDAL-VALVERDE et al, 2002) citam que embora a quantidade de ácido fítico diminua durante o processo de germinação, o que irá acontecer com os produtos de sua hidrólise vai depender não só da leguminosa como também das condições de germinação.

Apesar de ter ocorrido, no presente estudo, diminuição nos teores de ácido fítico nas amostras apenas germinadas e aumento nos feijões que sofreram os processos de germinação e irradiação quando comparado as amostras controle, é importante ressaltar que os tempos trabalhados foram de 72 e 96 horas, ou seja, 3 e 4 dias, sendo, portanto, necessário um período maior para uma redução significativa nos teores de ácido fítico, já que na literatura essa redução ocorre principalmente após 4 dias de germinação.

Quanto às doses de irradiação, estudo realizado por Villavicencio et al. (2000) observou uma diminuição da quantidade de fitato nas variedades de feijão carioca e macacar com o aumento das doses. A redução de fitato ocorre pela degradação química do fitato em fosfato inositol pela ação dos radicais livres produzidos pela irradiação (SOUZA, 2006). O mesmo foi observado pelo estudo de Al-Kasey et al (2003). A variedade estudada neste trabalho teve o mesmo comportamento dos feijões descrito anteriormente, apresentando o menor valor para as amostras que foram submetidas à maior dose de irradiação (0,15kGy). Em relação à atividade da enzima fitase foi observado no estudo de Villavicencio et al. (2000) uma diminuição em sua atividade com o aumento da dose, isto ocorre devido a degradação da enzima fitase durante o processo de irradiação.

De acordo com a literatura, os fitatos, ácido fítico ou hexafosfato de inositol, estão presentes de 1 a 3% nas sementes de leguminosas e respondem por cerca de 80% do fósforo total nestes grãos. Estão associados aos componentes da fibra solúvel localizados nos corpos protéicos dos cotilédones (IYER, 1980; RABOY, 2002; SANDBERG, 2002) e desempenham um papel fisiológico nas plantas de estoque de fósforo, reserva de grupos fosfato reativos, estoque energético, fonte de cátions e iniciação da dormência (CHERYAN, 1980).

Martinez-Domínguez e al. (2002) citam ainda outras funções fisiológicas do ácido fítico relacionadas com as sementes de leguminosas tais como: mobilização das reservas de fósforo inorgânico na forma de fosfato e m-inositol e determinados cátions (Mg^{2+}) que participam na síntese de ácidos nucleicos durante a germinação. Além disso, o mioinositol é um importante precursor dos polissacarídeos da parede celular e de fosfolípidios que participam no sinal de tradução. Por outro lado, mencionam que a

capacidade antioxidante do ácido fítico faz com que este contribua também com o aumento do tempo de dormência da semente, já que previne a peroxidação de lipídios.

Em relação ao teor de taninos nos feijões controle e os que sofreram irradiação gama e o processo de germinação, isolados e combinados, obtiveram-se valores apresentados no Figura 4.

Figura 4. Teores de taninos ($\text{mg catequina.g}^{-1}$ feijão) em base seca, para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média $\pm$ desvio padrão)

Com a evolução do tempo de germinação do feijão, percebe-se pelo Figura 4 a tendência de diminuição no conteúdo de taninos, apresentando uma correlação alta e negativa (-0,97) com este processo, já a irradiação apresentou pequeno efeito no conteúdo deste antinutricional, com coeficiente de correlação baixa e negativa (-0,79), não proporcionando melhor qualidade ao grão e disponibilidade de elementos minerais. Este pequeno efeito pode ser explicado, pois a utilização de baixas doses utilizadas neste estudo foi como forma de estimular o brotamento dos grãos de feijão e não como redução deste constituinte. Porém alguns estudos comprovam que a utilização da irradiação com doses maiores diminuem o teor de taninos.

Em se pensando no consumo dos grãos, os taninos se tornam indesejáveis, pois formam complexos insolúveis com proteínas, enzimas, como tripsina, quimiotripsina e α -amilase, e os minerais, reduzindo a sua biodisponibilidade (CANNIATTI-BRAZACA, 1994). Portanto, a pequena quantidade de taninos das amostras analisadas se torna muito importante, quando se sabe que o feijão é uma considerável fonte alimentar de ferro para a população mais carente.

Shimelis et al. (2007) também observaram redução no conteúdo de taninos em feijões germinados. Segundo o autor, esta diminuição foi atribuído à formação de associações hidrofóbicas de taninos com as proteínas das sementes e enzimas. Além do mais, cita também que a perda de taninos durante a germinação pode ser devido a lixiviação deste antinutricional na água. De acordo com Goldstein e Swain (1965) os taninos tem sido encontrados para inibir as enzimas digestivas e, assim, reduzir sua digestibilidade de nutrientes, especialmente proteínas.

Oloyo (2004) afirma que a concentração de taninos em leguminosas diminui após 2 dias de germinação alcançando o seu nível mínimo, e que após o quinto dia seus teores elevam. Neste estudo foi observada (Figura 4) redução de aproximadamente 100% após 72 horas de germinação. Essa redução tem sido discutida entre os autores, que afirmam que a oxidação de polifenóis está ativada durante germinação causando hidrólise enzimática de taninos, com conseqüente redução (TORRES et al., 2006; SANGRONIS; MACHADO, 2007; GHAVIDEL e PRAKASH, 2007; T). Essa redução é muito favorável, pois este fator antinutricional tem a capacidade de reduzir drasticamente a digestibilidade, na proporção de 5:1, taninos/proteína, ou seja toda proteína é precipitada pela ação dos taninos (PINO & LAJOLO, 2003; MECCHI et al., 2005).

A diminuição na digestibilidade das proteínas é devida os taninos formarem complexos com elas através da formação de duplas ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxil dos taninos e os grupos carboxil das proteínas, diminuindo o aproveitamento das mesmas pelo organismo. Outro fator importante para a diminuição de taninos dos grãos é que esses também afetam a utilização de vitaminas, tais como vitamina A e vitamina B₁₂ (CANNIATTI-BRAZACA, 1994).

Para uma eficaz diminuição no conteúdo deste antinutricional, os autores Reddy, Sathe, Pierson e Salunkhe (1985) relatam que uma noite de imersão dos grãos em água seguido por germinação de 48 horas, reduz aproximadamente 50% no teor de taninos. Além disso, a polifenoloxidase é ativada provocando a hidrólise enzimática dos taninos durante a germinação (SANGRONIS et al., 2006). Assim, o efeito da embebição e germinação dos grãos em conjunto levam a uma redução acentuada no nível deste constituinte, o qual pode ser observado no presente estudo, que utilizou a combinação destes dois métodos nos grãos de feijão.

Diversos autores vêm reportando uma correlação alta e negativa entre o conteúdo de taninos na casca e unidade de tripsina inibida. Quanto maior a quantidade de polifenóis maior a inibição da tripsina, quimiotripsina e α -amilase (CANIATTI-BRAZACA, 1994). Portanto, para as amostras com maiores teores de taninos provavelmente houve também aumento na inibição da tripsina.

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

Villavicencio et al. (2000) verificaram que em feijões carioca e Macaçar, com o aumento da dose de irradiação ocorre a diminuição do teor de taninos em grãos crus e cozidos, esse comportamento se repetiu nos feijões Carioca crus estudados por Pinn (1992). Mechi et al. (2005) também encontrou que a irradiação gama promove a redução no conteúdo de taninos com o aumento da dose, resultando na melhora da qualidade nutricional do grão. Apesar de ter ocorrido, no presente estudo, diminuição no teor de taninos com o aumento da dose, a irradiação teve pequeno efeito no conteúdo deste antinutricional, não proporcionando melhor qualidade ao grão.

Apesar de se conhecer a ação adversa na digestibilidade protéica, os taninos dos feijões podem exercer uma atividade antioxidante nutricionalmente benéfica, conforme os estudos de Carbonaro et al., (1996). Taninos e outros polifenólicos (antocianinas, flavonóides), são sugeridos como antioxidantes, por serem quelantes de íons metálicos de cobre e ferro, além de extinguirem a reatividade do radical, por deslocamento do elétron no anel fenólico (VILLAVICENCIO, 1998).

O limite mínimo e máximo de taninos condensados necessários para benefício a saúde em termos de absorção de minerais não foi relatado. No entanto, de acordo com Gu et al. (2004), a ingestão diária média de taninos condensado foi estimada em 57,7 mg/pessoa na população dos Estados Unidos. Portanto, uma porção de 25 gramas de feijão comum com cerca de 1-3% de taninos totais, baseados em nossos resultados, os feijões controle e irradiados podem afetar substancialmente os níveis de ingestão, pois foi encontrado 185mg 25 g⁻¹ de taninos no alimento, porém quando analisado os feijões germinados, estes valores diminuíram não sendo detectados nesta análise. Estes resultados demonstram que os feijões que sofreram o método de germinação poderão apresentar impacto na biodisponibilidade de minerais, principalmente do ferro.

A atividade de inibidor de tripsina foi quantificada nas amostras e estas foram apresentadas na tabela 9.

Tabela 9 - Atividade de inibidor de tripsina (UTI mg⁻¹ feijão) em base seca, para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média±desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	UTI mg ⁻¹
0	0	11,75 ± 0,43 ^a
0	72	7,31 ± 0,70 ^b
0	96	4,28 ± 0,28 ^c
0,05	0	11,75 ± 2,49 ^a
0,05	72	7,86 ± 0,77 ^b
0,05	96	3,85 ± 0,30 ^c
0,1	0	11,39 ± 0,05 ^a
0,1	72	7,81 ± 0,1 ^b
0,1	96	3,71 ± 0,20 ^c
0,15	0	11,92 ± 2,02 ^a
0,15	72	7,51 ± 0,37 ^b
0,15	96	3,67 ± 0,16 ^c

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa (p≤0,05), n=3.

Uma redução estatisticamente significativa na atividade do inibidor de tripsina entre as amostras analisadas foi observada com o efeito da germinação (Tabela 9), apresentando uma variação de 11,75; 7,31 e 4,28 UTI mg⁻¹ para as amostras controle e germinadas no tempo de 72 e 96 horas, respectivamente, valores os quais se aproximam dos encontrados por Shimelis et al. (2007). Deste modo, para os feijões que sofreram apenas o processo de germinação (72 e 96 horas) e os que sofreram junto com a germinação a irradiação, apresentaram uma diminuição em torno de 37% e 63%, respectivamente, observando uma relação direta entre o tempo de germinação e a inativação do inibidor de tripsina, com um coeficiente de correlação de 0,97. El-Hag, Haard e Morse (1978) relataram cerca de 50% de redução na atividade de inibidor de tripsina em *P. vulgaris* durante a germinação de 10 dias. Porém, Kakade e Evans (1965) encontraram apenas uma redução de 5,48% na atividade de inibidor de tripsina do feijão durante 4 dias de germinação. Sangronis et al (2006) também observaram uma redução neste antinutriente com o processo de germinação do *P. vulgaris*. Esta

diminuição foi de 29,3% e 22,28% para o feijão preto e feijão branco, respectivamente. O mesmo aconteceu com a pesquisa de Donangelo et al (1995), o qual observou que a germinação de sementes de feijão preto, por 48 horas, apresentou uma diminuição de 20 a 25% na atividade do inibidor de tripsina. Já Alonso et al. (2000) relataram que a diminuição na atividade do inibidor de tripsina em feijão foi de 29,04% após o período de germinação de 72 horas. Burbano, Muzquiz, Ayet, Cuadrado e Pedrosa (1999) argumentaram que o inibidor de tripsina possa ser utilizado como fonte de energia durante os primeiros estágios da germinação.

Segundo Bau et al. (1997), no início da germinação, há redução gradativa na atividade inibitória de tripsina, a qual contribui para a elevação da digestibilidade de suas proteínas.

Savelkoul et al. (1992) observaram que a germinação em grãos de soja aumentaram a digestibilidade *in vitro* das proteínas, como também a melhora da digestão das proteínas degradadas durante o processo de germinação em relação as proteínas em sua forma nativa. Consideramos que a melhora da digestibilidade *in vitro* das proteínas das sementes germinadas pode ser induzida pelo efeito da combinação da diminuição no conteúdo de lectina e da atividade do inibidor de tripsina e/ou uma maior suscetibilidade ao ataque enzimático das proteínas degradadas formadas durante o processo de germinação, como descrito por Liener (1994); Boralkar et al., (1995) e Mejia et al. (2005).

Khokhar e Chauhan (1986) também encontraram uma redução significativa entre a atividade de inibidor de tripsina presentes em diferentes cultivar de feijão germinado. Segundo os autores essa diferença pode ser atribuída a diferenças na germinação dos grãos, já que durante a germinação ocorrem mobilização e degradação enzimática das proteínas, incluindo os inibidores de tripsina (EL-ADAWY et al., 2002; KUMAR et al., 2006). O mesmo aconteceu com o estudo de Shimelis et al. (2007), o qual observaram redução na atividade deste antinutricional após 96 horas de germinação, com redução de aproximadamente 15%, 16% e 17% para as variedades Roba, Beshbesh e Awash, respectivamente.

Porém, o conteúdo deste antinutricional durante o processo de germinação depende de vários fatores, dentre eles: o tipo de leguminosa e as condições e duração

do processo de germinação do grão, já que durante a germinação ocorrem mobilização e degradação enzimática das proteínas, incluindo os inibidores de tripsina (URBANO et al., 2005; SANGRONIS et al., 2006). Assim, alguns pesquisadores têm encontrado diminuição significativa no conteúdo do UTI de feijão germinado, enquanto outros não encontraram nenhuma variação substancial nos níveis de UTI ou até mesmo aumento no seu conteúdo em feijões após germinação.

Oloyo (2004) determinou um aumento na atividade de inibidor de tripsina em leguminosas, assim como Sharstry e John (1991). Este aumento na atividade do inibidor de tripsina em sementes durante a germinação pode ser atribuído a um aumento no teor de compostos fenólicos. Já o estudo de Urbano et al. (2005), a atividade do inibidor de tripsina não foi afetado após 3 dias de germinação, mas houve um pequeno aumento com 6 dias de germinação devido à concentração causada pela perda de matéria seca.

Em relação ao processo de irradiação, as amostras apenas irradiadas não apresentaram diferença estatística significativa em relação à amostra controle, mostrando uma correlação positiva e baixa (0,08) entre o inibidor de tripsina e doses de irradiação em kGy. Porém em doses maiores foi observado redução em sua atividade.

Al Kaisey et al. (2003) observaram diminuição na atividade de inibidor de tripsina nas sementes de fava irradiada. Em dose subsequente de irradiação, a diminuição do inibidor de tripsina (TI) foi proporcional à dose de irradiação. Os resultados mostraram que a redução máxima no valor de TIA foi observado em 10 kGy. O mesmo ocorreu com o estudo realizado por Abu-Tarboush (1998) que apresentou acentuada redução (34,9%) nos valores de TI de farinha de soja desengordurada. Essas perdas podem ser atribuídas à remoção de gordura da farinha de soja. Assim, nota-se que o tratamento de irradiação quebra a estrutura de TI, levando à redução na atividade do inibidor de tripsina na farinha desengordurada.

Farag (1998) encontrou aumento no nível de inativação com o aumento das doses utilizadas (41,8, 56,3, 62,7 e 72,5 % de perda de atividade inibitória da tripsina) para doses de 5, 15, 30 e 60 kGy, respectivamente. No presente trabalho, a irradiação com dose de 0,05 kGy não promoveu aumento e nem diminuição na atividade inibitória da tripsina, a dose de 0,1 kGy reduziu 3 % e a de 0,15 kGy aumentou 1 %.

Alguns estudos verificaram que a redução na atividade de inibidor de tripsina está diretamente relacionada com a umidade, ou seja, os grãos que foram submetidos à irradiação com umidade acima de 15%, obtiveram maior diminuição deste antinutricional (HAFEZ et al., 1985) Segundo esses autores, a maior umidade dos grãos intensifica o efeito da irradiação gama devido à radiólise. Os radicais hidroxil formados durante o processo de irradiação podem interagir estruturalmente com os inibidores de tripsina promovendo sua redução e/ou inativação (SOUZA, 2006). Siddhurajul, Makkar e Beccker (2002) sugeriram que a inativação dos inibidores de tripsina de grãos irradiados pode ser atribuída à destruição dos grupos dissulfeto presentes em seu sítio ativo. Assim, nota-se que as maiores reduções nos valores da atividade inibitória de tripsina no presente estudo foram para as amostras que sofreram junto com o processo de irradiação a germinação, os quais apresentaram teor de umidade de aproximadamente 75%. Porém, esta redução foi proveniente da germinação, já que as amostras foram submetidas às doses de radiação antes deste processo, com valor de umidade, segundo amostra controle, de 7,88%, valor este abaixo do estipulado por Hafez et al., (1985). Assim, conclui-se que se a irradiação tivesse ocorrido após processo germinativo, os valores deste antinutriente, poderia ser ainda mais reduzido.

As atividades hemaglutinante obtidas na análise de hemaglutinina estão apresentadas na tabela 10.

Tabela 10 - Atividade de hemaglutinina (Atividade de hemaglutinina mg^{-1} de amostra) (base fresca, média $\pm$ desvio padrão), para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média $\pm$ desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Atividade de Hemaglutinina mg^{-1}
0	0	6,4 ^a
0	72	0,2 ^c
0	96	0,1 ^d
0,05	0	6,4 ^a
0,05	72	0,2 ^c
0,05	96	0,1 ^d
0,1	0	6,4 ^a
0,1	72	0,4 ^c
0,1	96	0,2 ^c
0,15	0	6,4 ^a
0,15	72	0,2 ^c
0,15	96	0,2 ^c

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

A Tabela 10 mostra os resultados obtidos da atividade hemaglutinante determinada em grãos de feijão. De acordo com os resultados apresentados a concentração da atividade de lectina para os feijões que não foram germinados foi de 6,4 UH mg^{-1} de amostra. A germinação resultou na diminuição da atividade de lectina nos feijões, que variou entre 2,00 a 1,00 UH mg^{-1} de amostra, apresentando uma correlação alta e negativa (-0,99) entre a atividade de hemaglutinina com o método de germinação. Já na irradiação foi observado uma correlação positiva e baixa com a atividade de lectina (0,77), demonstrando que este processo não apresentou efeito na concentração deste antinutricional com o aumento das doses. O menor valor na atividade de lectina foi observado para os feijões que apresentam o tempo de germinação de 96 horas, resultando em uma diminuição de 84,38%, quando comparado ao controle. Os valores foram semelhantes aos encontrados por El-Adawy et al. (2002) e inferiores ao encontrado por Alonso et al. (2000).

El-Adawy et al. (2002) relataram que a atividade da hemaglutinina foi drasticamente reduzida (77%) após a germinação. O mesmo ocorreu com o estudo de El-Beltagy (1996), o qual observou uma diminuição nas sementes de feijão de aproximadamente 84,4% após 3 dias de germinação, assim como o presente estudo. Chen et al. (1977), também reportou um rápido desaparecimento da atividade de hemaglutinação em extratos de soja após 4 dias de germinação e Nielsen (1991), relatam uma diminuição na atividade de hemaglutinação durante a germinação do feijão.

Paucar-Menacho et al. (2010) observaram que a germinação resultou em diminuição na atividade de lectina em extratos de proteína de farinhas germinadas de soja, o qual variou de 6,0-22,7 mg g⁻¹. Sendo que os valores mais baixos de lectina foram observadas com o aumento do tempo de germinação, ou seja do tempo de 12 horas para 72 horas promoveu uma redução de 72,6% na atividade de lectina. Isto deve ser um fator importante sobre a melhoria do valor biológico e nutricional nos grãos de soja germinado para a sua utilização na alimentação humana e ração animal.

Shimelis et al. (2007) também observaram que a atividade de lectina é afetado significativamente após 48 horas de germinação, porém esta redução foi menor quando (14% após 4 dias de germinação) comparado com o presente estudo e até mesmo os citados anteriormente.

Apesar de vários autores citarem a diminuição da atividade da hemaglutinina após a germinação, alguns pesquisadores não encontraram redução neste antinutricional. Alonso et al. (2000) não observaram diferença na atividade de lectina após a germinação de 24, 48 e 72 horas. A estimativa do conteúdo de lectina por hemaglutinação por células vermelhas não é um método muito preciso, embora o procedimento utilizado no estudo citado acima e no presente estudo seja um método seguro para a verificação da eficiência dos tratamentos com relação a toxicidade das sementes.

Essa redução ocorre pois as lectinas são acumuladas nas vacúolas das proteínas das sementes de armazenamento e nos cotilédones e são degradados durante a germinação do grão (PAUCAR-MENACHO, 2009). Apresenta várias propriedades anti-nutricionais, como também propriedades anticancerígenas

(VASCONEZ-COSTA, 2004; GONZÁLES DE MEJÍA & PRISECARU, 2005). Em estudos de caso com humanos, são utilizados como agentes terapêuticos, ligando-se preferencialmente às membranas celulares de câncer ou seus receptores, causando citotoxicidade provocando câncer na célula por aglutinação e/ou agregação (GONZÁLES DE MEJÍA & PRISECARU, 2005).

As lectinas podem também diminuir a hidrólise das proteínas pela pepsina e pancreatina. Diminuem, portanto, a digestibilidade do alimento que as contenham, agindo não somente nas células intestinais de absorção, mas também sobre enzimas digestivas (THOMPSON et al., 1986).

Em relação à irradiação em baixas doses, não foi encontrado estudos que comprovem seu efeito na atividade deste antinutricional.

Os valores obtidos na análise da digestibilidade da proteína *in vitro* estão apresentados na tabela 11.

Tabela 11 - Digestibilidade da proteína *in vitro* (%) (base fresca, média±desvio padrão), para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	% Digestibilidade da proteína <i>in vitro</i>
0	0	82,99±5,34 ^{c,d,e}
0	72	85,40±1,32 ^{b,c,d}
0	96	86,88±0,79 ^{a,b,c}
0,05	0	80,84±3,99 ^{d,e,f}
0,05	72	92,40±1,35 ^a
0,05	96	87,38±0,77 ^{a,b,c}
0,1	0	79,06±1,13 ^{e,f}
0,1	72	88,97±1,78 ^{a,b}
0,1	96	88,53±1,17 ^{a,b,c}
0,15	0	76,02±1,15 ^f
0,15	72	86,43±1,14 ^{b,c,d}
0,15	96	89,27±0,68 ^{a,b}

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa (p≤0,05), n=3.

Tabela 12 - Coeficiente de correlação de Pearson para a associação entre a digestibilidade protéica *in vitro* e os fatores antinutricionais em relação o processo de germinação

X	Y	Coeficiente de correlação
Digestibilidade de proteína <i>in vitro</i>	Ácido Fítico	-0,75
Digestibilidade de proteína <i>in vitro</i>	Inibidor de tripsina	-0,99
Digestibilidade de proteína <i>in vitro</i>	Taninos condensados	-0,92
Digestibilidade de proteína <i>in vitro</i>	Hemaglutinina	-0,97

A determinação da digestibilidade de proteína *in vitro* é um dos fatores a ser levado em consideração na qualidade da proteína, o qual está relacionado com a porcentagem de proteína que é hidrolisada pelas enzimas digestivas e absorvida pelo organismo.

Pode-se observar na tabela 11 que a amostra que apresentou a maior porcentagem de digestibilidade protéica *in vitro* foi a amostra germinada no tempo de 72 horas juntamente com a dose de irradiação 0,05kGy, o qual apresentou 92,40%. Os grãos que sofreram apenas irradiação nas doses 0,05, 0,1 e 0,15 kGy apresentaram diminuição em seus valores em relação a amostra controle, sendo, 80,84%, 79,06% e 76,02%, respectivamente. Portanto, pode-se concluir que com a menor dose foi obtido à melhor digestibilidade protéica do grão.

Apesar de ter ocorrido diminuição na digestibilidade da proteína *in vitro* após a irradiação gama, as amostras controle não apresentaram diferença estatística significativa em relação às amostras irradiadas a 0,05 kGy e 0,1kGy, porém diferiram das amostras 0,15 kGy. Entre as amostras irradiadas, a dose 0,15 kGy não apresentou diferença estatística entre as outras amostras que sofreram o processo de irradiação. De fato, a irradiação apresentou correlação alta e negativa ($r=-0,99$) em relação à % de digestibilidade da proteína, mostrando que com o aumento da dose há uma diminuição nos valores de digestibilidade.

Carvalho et al. (1991), também observaram efeito negativo na digestibilidade de feijões *Phaseolus vulgaris* variedade carioca com a incidência de radiação gama, o que está de acordo com o presente estudo. O efeito negativo na radiação foi também constatado por Delincée, Villavicencio & Mancini (1998) que utilizaram doses de 0,5 a

10 kGy. Estes autores explicam que este comportamento se deve, provavelmente, a destruição de certos aminoácidos desnaturados em meio aquoso sob a influência da radiação gama. Os aminoácidos mais sensíveis aos efeitos negativos são os aromáticos, aminoácidos de cadeia lateral básica e os sulfurados, que são os aminoácidos limitantes do feijão, como metionina (MECHI et al., 2005).

Nielsen (1991) discutiu a digestibilidade das proteínas das leguminosas, mas especialmente do *Phaseolus vulgaris*, apresentando os fatores gerais de limitação da digestibilidade, ele enumerou a estrutura compacta intrínseca de algumas proteínas; a complexação com o amido, a hemicelulose, outras fibras, minerais e outras proteínas; e os polifenóis (termoestáveis) que se complexam as proteínas e que perdiam a capacidade de hidrólise.

Em relação à germinação, o feijão apresentou aumento significativo e alta correlação ($r=0,99$) na % da digestibilidade protéica, melhorando, portanto a sua qualidade. Esta melhora pode ser atribuída não apenas à remoção/redução dos fatores antinutricionais, tais como inibidor de tripsina, ácido fítico e taninos, mas também à desintegração estrutural das proteínas nativas, incluindo, inibidor e lectina, solubilidade diferencial do oligossacarídeo individual e suas taxas de difusão, atividade da enzima fitase para quebrar o ácido fítico nas sementes e o desenvolvimento da atividade da α -galactosidase endógena para diminuir os oligossacarídeos. O feijão após o processo de germinação apresentou aumento de 2,90 e 4,68% após 72 e 96 horas, respectivamente quando comparado a amostra controle. Sangronis; Machado (2007), também observaram aumento na digestibilidade de proteína in vitro de feijão branco, feijão preto e feijão pigeon com o efeito da germinação. Este aumento foi de 2% para o feijão branco, 3% para o feijão preto e 4% para o feijão pigeon, o que está de acordo com o presente estudo.

Correlação significativa e negativa foi observada entre o ácido fítico, taninos, lectina e inibidor de tripsina com a % de digestibilidade de proteína em feijões germinados (-0,75; -0,92; -0,97; -0,99, respectivamente) (Tabela 12). Indicando que o conteúdo destes antinutricionais e a digestibilidade de proteína estão correlacionados, ou seja, a diminuição no teor destes constituintes proporciona a melhora na digestibilidade da proteína do grão.

Alonso et al. (2000) relataram que a digestibilidade *in vitro* da proteína nos *Phaseolus vulgaris* aumentou para 10,3% após a germinação. Tal aumento pode ser atribuído a redução parcial ou total dos diferentes antinutrientes. O ácido fítico e os taninos condensados interagem com moléculas de proteínas, formando complexos e, portanto, reduzindo a suscetibilidade a ataques enzimáticos a proteína (ALONSO et al., 2000). Neste estudo, redução significativa no teor de ácido fítico e taninos foi observado, o que poderia explicar o aumento da digestibilidade da proteína.

Ghavidel et al. (2007) também observaram aumento significativo (14-18%) na digestibilidade protéica dos feijões que sofreram o processo de germinação quando comparado ao grupo controle, o qual é apoiado pelas conclusões de Negi et al. (2001) e Archana, Sehga e Kawatra (2001). El-Beltagy (1996) também encontrou aumento na digestibilidade de proteína *in vitro* de feijões após a germinação, porém outros autores tem reportado resultados discordantes com os resultados encontrados na presente investigação, Urbano et al. (2005) e Donangelo (1995) demonstraram em suas respectivas pesquisas, que a digestibilidade da proteína permaneceu constante com o processo germinativo das sementes.

Outros fatores que também podem alterar a digestibilidade protéica dos feijões são o endurecimento do grão, que tem efeito prejudicial sobre a qualidade protéica, acarretando significativa redução na digestibilidade da proteína *in vitro* e *in vivo*; e outros fatores próprios do cultivo, como, tipo de solo, pesticidas, época de plantio e armazenamento, também podem influenciar a digestibilidade (IBGE, 1996).

Alguns autores citam que as proteínas de origem animal apresentam geralmente a digestibilidade elevada acima de 95 % e as de origem vegetal valores abaixo de 80 % (SGARBIERI, 1996). Barcelos et al. (1999), encontraram valores de digestibilidade para a soja madura crua de 64,6 %, já Liener (1976), verificou valores da ordem de 70,1 %. O presente estudo apresentou valores de digestibilidade para a amostra controle de 82,99%, para as amostras que sofreram o processo de irradiação de 81,02% e para os feijões germinados no tempo de 72 e 96 horas foi de 85,4% e 86,88%, respectivamente, levando a concluir que o feijão apresenta digestibilidade protéica melhor em relação aos grãos de soja.

4.4 Conclusão

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, podemos considerar que a germinação do feijão é um bom procedimento para melhorar a qualidade nutricional do grão, pois proporcionou redução no conteúdo de ácido fítico, taninos, lectina e inibidor de tripsina, aumentando a digestibilidade protéica do grão. Além do mais, é considerado um método tecnologicamente simples, inexistente e de fácil utilização.

Já a irradiação não comprometeu o valor nutricional do feijão, pois a utilização de baixas doses foi como forma de estimular o brotamento dos grãos e não na redução dos fatores antinutricionais.

Referências

- ABU-TARBOUSH, H.M. Irradiation Inactivation of some antinutritional factors in plant seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, n.7, p.2698-2702, 1998.
- AKESON, WR; STAHPMAN, MA. A pepsina pancreatin digest index of protein quality evaluation. **Journal Nutrition**, New York, v.83, n.3, p.257-261, 1964.
- AL-KAISEY, M.T.; ALWAN, A.H.; MOHAMMAD, M.H.; SAEED, A.H. Effect of gamma irradiation on antinutritional factors in broad bean. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 67, n.1, p. 493 – 496, 2003.
- ALMEIDA, D.T.; GREINER, R.; FURTUNADO, D.M.N.; TRIGUEIRO, I.N.S.; ARAÚJO, M.P.N. Contendo f some antinutritional factors in bean cultivars frequently consumed in Brasil. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v.43, n.2, p. 243-249, 2008.
- ALONSO, R.; AGUIRRE, A.; MARZO, F. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. **Food Chemistry**, Oxford, v.68, n.2, p.159–165, 2000.
- ANDRADE, C.A.; COSTA, C.K.; BORA, K.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.; KERBER, V.A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. cunn. Ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Curitiba, v.17, n.2, p.231-235, Abr./Jun. 2007.
- ARCHANA, SEHGA, S.; KAWATRA, A. In vitro protein and starch digestibility of pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) as affected by processing techniques. **Nahrung**, Stuttgart, v.45, n.1, p.25–27, 2001.

ARMELIN, J.M.; CANIATTI-BRAZACA, S.G.; PIEDADE, S.M.S.; MACHADO, F.M.V.F.; SPOTO, M.H.F. Avaliação física de feijão carioca irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.3, p.498-502, jul.-set., 2007.

AZEKE, M.A.; ELSANHOTY, R.M.; EGIELEWA, S.J.; EIGBOGBO, M.U. The effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of some Nigerian-grown grain legumes. **Journal of Science and Food Agricultural**, London, v. 91, n.1, p.75–79, 2010.

AYET, G.; BURBANO, C.; CUADRADO, C.; PEDROSA, M.M.; ROBREDO, L.M.; MUZQUIZ, M.; CUADRA, A.; CASTAÑO, A.; OSAGIE, A. Effect of germination, under different environmental conditions, on saponins, phytic acid and tannins in lentils (*Lens Culinaris*). **Journal Science Food Agriculture**, London, v.74, n.2, p.273-279, 1997.

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

BARCELOS, M.F.P.; TAVARES, D.Q.; MIRANDA, M.A.C.; GERMER, S.P.M. Aspectos químicos e bioquímicos de leguminosas enlatadas em diferentes estádios de maturação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.1, p. 59 - 72, jan./abr. 1999.

BARCELOS, M.F.P.; VILAS BOAS, E.V.B.; LIMA, M.A.C. Aspectos nutricionais de brotos de soja e de milho combinados. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.4, p.817-825, jul./ago., 2002

BAU, H-M. ; VILLAUME, C.; NICOLAS, J-P.; MÉJEAN L. Effect of Germination on Chemical Composition, Biochemical Constituents and Antinutritional Factors of Soya Bean (*Glycine max*) Seeds. **Journal of Science and Food Agricultural**, London, v.73, n.1, p. 1-9, 1997.

BERRIOS, J.D.J.; SWANSON, B.G.; CHEONG, W.A. Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Research International**, Kidlington, v.32, n.10, p. 669-676, 1999.

BONETT, L.P.; BAUMGARTNER, M.S.T.; KLEIN, A.C.; SILVA, L.I. Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v.11, n.3, p.235-246, set./dez. 2007.

BORALKAR, M.; REDDY, N.S. Effect of roasting, germination and fermentation on digestibility of starch and protein present in soybean. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v.31, n.1, p.833-838, 1995.

BRESSANI, R.; MORA, P.R.; LORES, R.; GÓMEZ-BRENES, R. Evaluación de dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido, y efecto que estos provocan en la digestibilidad de la proteína. **Archivos Latinoamericanos Nutrición**, Venezuela, v. 41, n.4, p. 570-583, 1991.

BRIGIDE, PRISCILA. **Disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiados**. 2002. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queriroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

BURBANO, C.; MUZQUIZ, M.; AYET, G.; CUADRADO, C.; PEDROSA, M. Evaluation of antinutritional factors of selected varieties of *P. vulgaris*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.79, n.11, p.1468–1472, 1999.

CANNIATTI-BRAZACA, S.G. **Influência das modificações genéticas sobre as características físicas, químicas e nutricionais do feijão Guandu (*Cajanus cajan*, L.)**. 1994. 167p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

CARBONARO, M.; VIRGILI, F.; CARBOVALE, E. Evidence for protein-tannin interaction in legumes: implications in the antioxidant properties of *Fafá* bean tannins. **Lebensm Wiss Technol**, Zurich, v.29, n.1, p.743-750, 1996.

CARVALHO, M.R.B.; RODRIGUES, M.A.P. da S.; TAVARES, D.Q.; MCGINNIS, J.; SGARBIERI, V.C. Efeitos da irradiação (raios γ) sobre as propriedades físicas, sensoriais e nutricionais dos grãos de feijão. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.26, n.10, p.1663-1672, out. 1991.

CARVALHO, M.R.; SGARBIERI, V.C. Relative importance of phytohemagglutinin (lectin) and trypsin-chymotrypsin inhibitor on bean (*Phaseolus vulgaris* L) protein absorption and utilization by the rat. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology** Tokyo, v.44, n.5, p.685-696, 1998.

CHEN, L. H.; PAN, S. H. Decrease of phytates and hemagglutinating activity during germination of pea and bean seeds. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.1, 1977.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v.13, n. 4, p. 297-335, 1980.

CHIARADIA, A. C. N.; GOMES, J. C. **Feijão: química, nutrição e tecnologia**. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1997.180p .

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

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

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

DE-LEON, L.; ELIAS, L.G.; BRESSANI, R. Effect of salt solutions on the cooking time, nutritional and sensory characteristic of common beans. **Food Research International**, Kidlington, v. 25, n.2, p. 131-136, 1992.

DELINCEE, H.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J. Protein quality of irradiation brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 52, n. 1/6, p. 43-47, 1998.

DESHPANDE, S. S. et al. Effects of Dehulling on Phytic Acid, Polyphenols and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, New York, v. 47, n. 6, p. 1846-1850, 1982.

DONANGELO, C.; TRUGO, L.; TRUGO, N., EGGUM, B. Effect of germination of legume seeds on chemical composition and on protein and energy utilization in rats. **Food Chemistry**, Oxford, v.53, n.1, p.23–27, 1995.

EGLI, I.; DAVIDSSON, L.; JUILLERAT, M.A.; BARCLAY, D.; HURRELL, R.F. The influence of soaking and germination on the phytase activity and phytic acid content of grains and seeds potentially useful for complementary feeding. **Journal of Food Science**, Chicago, v.67, n.9, p.3484–3488, 2002.

EL-ADAWY, T. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.57, n.1, p.83-97, 2002.

EL-BELTAGY, A. **Effect of home traditional methods on quality aspects of some legumes**. 1996. 225p. Tese, Doutorado na Faculdade de Agricultura, Menofiya University, Egito, 1996.

EL-HAG, N.; HAARD, N. F.; MORSE, R. E. Influence of sprouting on the digestibility coefficient, trypsin inhibitor and globulin proteins of red kidney beans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n. 6, p. 1874-1875, Nov./Dec. ,1978.

EL-MAHDY, A.R.; MOHARRAM, Y.G.; ABOU-SAMAHA, O.R. Influence of germination on the nutritional quality of lentil seeds. **Z Lebensm Unters Forsch**, New York, v.181, n.1, p.318-320, 1985.

EL-NIELY, H.F.G. Effect of radiation processing on antinutrients, in vitro protein digestibility and protein efficiency ratio bioassay of legume seeds. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.76, n.6, p.1050-1057, 2007.

FARAG, M.D.E.H. The nutritive value for chicks of full-fat soybeans irradiated at up to 60 kGy. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 73, n.3, p. 319 – 328, 1998.

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v.40, n.1, p.1292 – 1299, 2007.

GOLDSTEIN, J. L.; SWAIN, T. The inhibition of enzymes by tannins. **Phytochemistry**, Kidlington, v.4, n.1, p.184–192, 1965.

GONZALES DE MEJIA, E.; PRISECARU, V. Lectins as bioactive plant proteins: A potential in cancer treatment. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v.45, n.6, p.445–455, 2005.

GRYNSPAN, F.; CHERYAN, M. Phytate-calcium interaction with soy protein. **Journal of the American Oil Chemists Society**, New York, v.66, n.1, p.93-97, 1989.

HAFEZ, Y. S.; MOHAMED, A. I.; SINGH, G.; HEWEDY, F. M. Effect of gamma irradiation on protein and fatty acids of soybean. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 5, p.1271-1274, 1985.

HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.26, n.4, p.809-812, 1978.

GU, L.; KELM, M. A.; HAMMERSTONE, J. F.; BEECHER, G.; HOLDEN, J.; HAYTOWITZ, D., et al. Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimation of normal consumption. **Journal of Nutrition**, Cambridge, v.134, n.3, p.613–617, 2004.

HAHM, T.; PARK, S.; LO, Y.M. Effects of germination on chemical composition and functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v.100, n.4, p.1643–1647, 2009.

KAKADE, M. L.; EVANS, R. J. Nutritive value of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.19, n.1, p.269–276, 1965.

KAKADE, M.L.; SIMONS, N.; LIENER, I.E. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the anti tryptic activity of soybean samples. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.46, n.1, p.518-526, 1969.

KHOKHAR, S.; CHAUHAN, B.M. Antinutritional factors in Moth Bean (*Vigna acontifolia*): varietal differences and effects of methods of domestic processing and cooking. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, n. 3, p. 591 – 594, 1986.

KONIETZNY, U.; GREINER, R.; JANY, K.D. Purification and characterization of a phytase from spelt. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v.18, n.3, p.165-183, 1995.

KUMAR, V.; RANI, A.; PANDEY, V.; CHAUHAN, G.S. Changes in lipoxygenase isozymes and trypsin inhibitor activity in soybean during germination at different temperatures. **Food Chemistry**, Oxford, v.99, n.3, p.563–568, 2006.

KUTOS, T.; GOLOB, T.; KAC, M.; PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chemistry**, Oxford, v. 80, n.2, p. 231 -235, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Tabelas de composição de alimentos**. 4. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1996. p. 24-36.

IYER, V.; SALUNKHE, D.K.; SATHE, S.K.; ROCKLAND, L.B. Quick-cooking beans (*Phaseolus vulgaris* L.): II. Phytates, oligosaccharides, and antienzymes. **Plant Food Humuman Nutrition**., Dordrecht, v. 30, n.1, p. 45-52, 1980.

JOOD, S.; MEHTA, U.; SINGH, R. Effect of processing on available carbohydrates in legumes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 34, n.3, p. 417-420, 1986.

LIENER, L.F. de. The photometric determination of hemagglutinating activity in soybean and crude soybean extracts. **Archivos of Biochemistry and Biophysics**, London, v.54, n.1, p. 223-227, 1955.

LIENER, I. E. Legume toxins in relation to protein digestibility. A review. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, n.5, p.1076-1081, 1976.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v.34, n.1, p.31-67, 1994.

MACHADO, A.L.L.; BARCELOS, M.F.P.; TEIXEIRA, A.H.R.; NOGUEIRA, D.A. Avaliação de componentes químicos em brotos de fabaceae para o consumo humano. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1071-1078, jul./ago. 2009.

MANCINI FILHO, J. **Efeito das fito-hemaglutininas de feijões (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre a mucosa intestinal**. 1982. 74p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1982.

- MARTINEZ DOMINGUEZ, B.; IBÁÑEZ, M.B; RINCÓN, F. Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Archivos Latinoamericanos Nutrición**, Caracas, v. 52, n. 3, p. 219-231, 2002.
- MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos Nutrición**, Caracas, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.
- MECHI, R.; CANIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v25, n.1, p.109-114, jan./mar., 2005.
- MEJIA, E.G. de; VALADEZ-VEJA, M.D.C.; REYNOSO-CAMACHO, R.; LOARCA-PINA, G. Tannins, Trypsin Inhibitors and Lectin Cytotoxicity in Tepary (*Phaseolus acutifolius*) and Common (*Phaseolus vulgaris*) Beans. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.60, n.3, p.137–145, 2005.
- MENACHO, LUZ MARIA PAUCAR. **Influência do processo de germinação dos grãos de duas cultivares de soja BRS 133 e BRS 258 nos compostos bioativos da farinha integral de soja germinada**. 2009. 176p. Tese (Doutorado em tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- MOON, J. W., "Theoretical physiological basis for radiation hormesis, In: CONFERENCE OF RADIATION HORMESIS, 1985, Oakland, **Proceedings....**New York: Marcel Dekker, 1985.p. 14 – 16.
- MUBARAK, A.E. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. **Food Chemistry**, Oxford, v.89, n.4, p.489-495, 2005.
- NEGI, A.; BOORA, P.; KHETARPAUL, N. Starch and protein digestibility of newly released moth bean cultivars: Effect of soaking, germination and pressure-cooking. **Nahrung**, Stuttgart, v.45, n.4, p.251–254, 2001.
- NETO, L. **Germinação de sementes de soja armazenados em bancos de germoplasma**. 2004. 104p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- NIELSEN, S. S. Digestibility of legume proteins. **Food Technology**, New York, v. 45, n. 6, p. 112-114, 1991.
- OLOYO, R.A. Chemical and nutrition quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. **Food Chemistry**, Oxford, v.85, n.4, p.497-502, 2004.

PAUCA-MENACHO, L.M. **Influência do processo de germinação dos grãos de duas cultivares de soja BRS 133 e BRS 258 nos compostos bioativos da farinha integral de soja germinada.** Campinas, 2009. 176p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2009.

PAUCAR-MENACHO, L.M.; BERHOW, M.A.; MANDARINO, J.M.G.; CHANG, Y.K.; MEJIA, E.G.de. Effect of time and temperature on bioactive compounds in germinated Brazilian soybean cultivar BRS 258. **Food Research International**, Kidlington, v.43, n.7, p.1856–1865, 2010.

PAULA, S.A. de. **Composição bioquímica e fatores antinutricionais de genótipos de soja.** 2007. 88p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

PINN, A.B.R.O. **Efeitos das radiações gama sobre a disponibilidade do ferro em feijões (*Phaseolus vulgaris*).** 1992. 129p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

PINO, V.H.D.; LAJOLO, F.M. Efecto inhibitorio de los taninos del frijol carioca (*Phaseolus vulgaris*) sobre la digestibilidad de la paseolina por dos sistemas multienzimáticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 49 – 53, 2003.

PUNTARULO, S., SANCHES, R. A., BOVERIS, A. "Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination", **Plant Physiology**, Rockville, v. 86, n.2, p. 626 – 630, 1988.

RABOY, V. Progress in breeding low phytate crops. In: Symposium: Plant Breeding: A new Tool for Fighting Micronutrient Malnutrition. **Journal of Nutrition**, Cambridge, v.132, n.3, p. 503S-505S, 2002.

RADBERG, K.; BIERNAT, M.; LINDEROTH, A.; ZABIELSKI, R.; PIERZYNOWSKI, S.G.; WESTROM, B.R. External exposure to crude red kidney bean lectin induces maturation of the gut in suckling pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.79, n.10, p.2669-2678, 2001.

RAMAKRISHNA, V.; JHANSI RANI, P.; RAMAKRISHNA RAO, P. Anti-nutritional factors during germination in Indian bean (*Dolichos lablab* L.) seeds. **World Journal of Dairy & Food Science**, New York, v.1, n.1, p.06-11, 2006.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, LÚCIA DE LOS ÁNGELES. **Biodisponibilidade de zinco e de ferro, valor nutricional e funcional de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamentos domésticos.** 2006. 189p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

RANILLA, L.G.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Polyphenols and antioxidant capacity of seed coat and cotyledon from Brazilian and peruvian bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washigton, v.55, n.1, p.90-98, 2007.

REDDY, N. R.; PIERSON, M. D.; SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K. Dry bean tannins: A review of nutritional implications. **Journal of the American Oil Chemists Society**, New York, v.62, n.3, p.541–549, 1985.

REYNOSO-CAMACHO, R.; GONZÁLEZ DE MÉJIA, E.; LOARCA-PIÑA, G. Purification and actue toxicity of a lectin extracted from terapy bean (*Phaseolus acutifolius*). **Food Chemistry Toxicology**, London, v.41, n.1, p.21-27, 2003.

RIBEIRO, M.L.L.; IDA, E.I.; OLIVEIRA, M.C.N. Efeito da germinação de soja CV. BR – 13 e Paraná sobre ácido fítico, fósforo total e inibidores de tripsina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.1, p.31-36, 1999.

RICKARD, S.E.; THOMPSON, L.U. Interactions and biological effects of phytic acid. In: SHAID, F (Ed.). **Antinutritional and phytochemicals in food**. Washinghon, v. 662, n.17, p. 294-312, 1997.

ROCHA-GUZMÁN, N.E.; GONZÁLEZ-LAREDO, R.F.; IBARRA-RÉREZ, J.; NAVA-BERÚMEN, C.A.; GALLEGOS-INFANTE, J.A. Effect of pressure cooking on the antioxidant activity of extracts from three common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. **Food Chemistry**, Oxford, v.100, n.1, p.31-35, 2007.

SANDBERG, A. S. Bioavailability of mineral in legumes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.88, n.3, p. S281- 285, 2002.

SANGRONIS, E.; RODRÍGUEZ, M.; CAVA, R.; TORRES, A. Protein quality of germinated *Phaseolus vulgaris*. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v.222, n.1/2, p.144-148, 2006.

SANGRONIS, E.; MACHADO, C.J. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. **LWT-Food Science and Tecnology**, Amsterdam, v.40, n.1, p.116-120, 2007.

SAVELKOUL, F. H. M. G.; VANDERPOEL, A. F. B.; TAMMINGA, S. The presence and inactivation of trypsin inhibitors, tannins, lectins and amylase inhibitors in legume seeds during germination: A review. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.42, n.1, p.71–85, 1992.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em Alimentos Protéicos**: Propriedades, Degradações, Modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

SHAHIDI, F. Beneficial health effects and drawbacks of antinutrients. In: SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, v. 662, n.1, p. 19, 1997.

SHARON, N.; LIS, H. How protein bind carbohydrates: Lessons from legume lectins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washigton, v.50, n.22, p.6586-6591, 2002.

SHASTRY, M.; JOHN, E. Biochemical changes 1985and in vitro protein digestibility of the endosperm germinating *Dolichos lablad*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.55, n.4, p.529-538, 1991.

SHEPPARD, S. C.; HAWKINS, J. L., "Radiation Hormesis of seedlings and seeds, simply elusive or an artifact?" **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 30, n. 1, p. 17 – 25, 1990.

SHIMELIS, E.A.; RAKSHIT, S.K. Effect of processing on antinutrients and *in vitro* protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa. **Food Chemistry**, Oxford, v.103, n.1, p.161-172, 2007.

SIDDHURAJU, P.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The effect of ionizing radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, Oxford, v.78, n.2, p.187-205, 2002.

SILVA, M.R.; SILVA, M.A.A.P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.13, n.1, p.3-9, jan./abr., 2000.

SOUZA, A.S.de. **Efeitos da irradiação na composição e propriedades funcionais da soja**. 2006. 120p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição, na área de concentração Nutrição Experimental aplicada à Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas, 2006.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc software**: usage and reference (version 6). 2 ed. Cary, 1996. 1CD-ROM.

THOMPSON, L.U.; TENEBaum, A.V.; HUI, H. Effects of lectins and the mixing of proteins on rate of protein digestibility. **Journal of Food Science**, Chigaco, v.51, n.1, p.150-152, 1986.

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

TORRES, A.; SANGRONIS, E.; RODRÍGUEZ, M.; CAVA, R. Protein quality of germinated *Phaseolus vulgaris*. **European Food Research Technology**, Heidelberg, v.222, n.1/2, p.144-148, 2006.

TRUGO, L.C.; DONANGELO, C.M.; TRUGO, N.M.F.; KNUDSEN, E.B. Effect of heat treatment on nutritional quality of germinated legume seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washigton, v.48, n.6, p.2082-2086, 2000.

URBANO, G.; LÓPEZ-JURADO, M.; FREJNAGEL, S.; GÓMEZ-VILLALVA, E.; PORRES, J.M.; FRÍAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C.; ARANDA, P. Nutritional assessment of raw and germinated pea (*Pisum sativum* L.) protein and carbohydrate by in vitro and in vivo techniques. **Nutrition**, New York, v.21, n.2, p.230–239, 2005.

VASCONEZ-COSTA, M. **Effect of genotype, environment and processing on the level of lectin and lunasin in soybean**. 2004. 243p. Tese. Doutorado na Universidade de Illinois, Champaign, 2004.

VIDAL-VALVERDE, C; FRÍAS, J.; VALVERDE, S. Changes in the carbohydrate composition of legumes after soaking and cooking. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 93, n.5, p. 547-550, 1993.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J.; DIAZ-POLLAN, C.; FERNANDEZ, M.; LOPEZ-JURADO, M.; URBANO, G. Influence of processing on trypsin inhibitor activity of fafa beans and its physiological effect. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washigton, v.45, n.9, p.3559-3564, 1997.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J.; SIERRA, I.; BLÁZQUEZ, I.; LAMBEIN, F.; KUO, Y. New functional legume foods by germination: Effect on the nutritive value of beans, lentils and peas. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v.215, n.6, p.472–477, 2002.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H. **Avaliação dos efeitos das radiações ionizantes de ⁶⁰Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais dos feijões *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** 1998. 139p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; GREINER, R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.57, n.3/6, p.289-293, 2000.

ZHANG, J.; SHI, J.; ILIC, S.; XUE, S.J.; KAKUDA, Y. Biological properties and characterization of lectin from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). **Food Reviews International**, New York, v.25, n.1, p.12–27, 2009.

ZAKA, R., CHENAL, C., MISSET, M. T. “Effects of low doses of short-term gamma irradiation on growth and development through two generations of *Pisum sativum*”. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 320, n.2-3, p. 121 – 129, 2004.

WANG, N.; DAUN, J.K. Effects of variety and crude protein content on nutrients and anti-nutrients in lentils (*Lens culinaris*). **Food Chemistry**, Oxford, v.95, n.3, p.493–502, 2006.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n.8, p. 3576- 3580, 2000.

5 INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO E GERMINAÇÃO SOBRE A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, COMPOSTOS FENÓLICOS, CAROTENÓIDES E CLOROFILA TOTAIS NOS GRÃOS DE FEIJÃO

Resumo

Os brotos de feijões, estão recebendo atenção cada vez maior como alimento funcional, devido aos diversos constituintes presentes, os quais possuem propriedades de reduzir o nível do estress oxidativo. Deste modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência do processo de radiação e de germinação, isolados e combinados, sobre a capacidade antioxidante, compostos fenólicos, carotenóides e clorofila nos grão de feijão. O feijão utilizado foi da variedade carioca, cultivar pérola, adquirido por produtores de Goiás. Os grãos foram irradiados com Cobalto⁶⁰, nas doses 0, 0,05, 0,1 e 0,15 kGy. Após o tratamento de irradiação foi realizada à germinação em temperatura e luminosidade ambiente durante 72 e 96 horas. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas. O delineamento do estudo incluiu 12 tratamentos (4 doses e 3 tempos). Foram realizadas análises de fenólicos totais, flavonóides totais, carotenóides e clorofila total e a capacidade antioxidante medida por dois diferentes radicais (ABTS e DPPH). Os resultados apontam que os teores de fenólicos totais apresentaram aumento estatisticamente significativo após germinação de 72 e 96 horas, porém o feijão controle não apresentou diferença significativa entre os feijões irradiados. Em relação aos flavonóides totais, não foi detectado este composto em nenhuma das amostras analisadas. A análise de clorofila e carotenóides totais apresentaram valores variando de 0,43 µg de clorofila/g para as amostras irradiadas (0,05 kGy) a 1,36 µg de clorofila /g para o feijão germinado no tempo de 96 horas e 0,12 µg de carotenóides/g nas amostras controle a 0,29 µg de carotenóides/g nas amostras germinadas a 96 horas, respectivamente. Assim, nota-se que com a evolução no tempo de germinação, houve tendência no aumento do conteúdo de clorofila e carotenóides. A maior atividade antioxidante foi encontrada para o feijão germinado no tempo de 96 horas, onde este aumento foi de 78% e 33% para os métodos ABTS e DPPH, respectivamente. Deste modo, estes resultados indicam que a germinação promove o aumento da capacidade antioxidante pela formação de espécies quelantes com a capacidade de intercepção peroxil. Conclui-se que a germinação pode ser um bom processo para obter um alimento com aumento da capacidade antioxidante.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; Radiação gamma; Antioxidante; Fenólicos

Abstract

Bean sprouts have been receiving increasing attention as a functional food due to its various compounds, which have properties to reduce the level of oxidative stress. Thus, this study aimed to evaluate the influence of radiation and the germination process, isolated and combined, on the antioxidant capacity, phenolic compounds, carotenoids and chlorophyll in the bean seed. The bean variety used was the “carioca”, cultivar “pérola”, obtained from producers of Goiás state in Brazil. Beans were irradiated

with Cobalt⁶⁰ at doses 0, 0.05, 0.1 and 0.15 kGy. After the irradiation treatment, germination was performed at room temperature and light for 72 and 96 hours. Then, the samples were frozen and lyophilized. The study design included 12 treatments (four doses and 3 replicates). Analyses were performed on total phenolics, total flavonoids, total chlorophyll and carotenoids and the antioxidant capacity measured by two different radicals (ABTS and DPPH). The results show that the levels of phenolic compounds showed a statistically significant increase in germination after 72 and 96 hours, but the control beans did not show a significant difference between the irradiated beans. The total flavonoids were not detected in any sample analyzed. The analysis of chlorophyll and carotenoids showed values ranging from 0.43 mg chlorophyll/g for samples irradiated (0.05 kGy) to 1.36 mg chlorophyll/g for beans germinated at 96 hours and 0, 12 mg carotenoids/g in control samples to 0.29 mg carotenoids/g in samples germinated in 96 hours, respectively. Thus, it is noted that with the increase in germination time, there was a trend for increased contents of chlorophyll and carotenoids. The highest antioxidant activity was found for the beans germinated in 96 hours, where the increase was 78% and 33% for ABTS and DPPH methods, respectively. Thus, these results indicate that germination promotes increased antioxidant capacity by the formation of quelants species with the ability to intercept peroxy. It is concluded that germination can be a good process for the food to obtain an increased antioxidant capacity.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; Radiation gamma; Antioxidant; Phenolic

5.1 Introdução

Considerada como uma importante leguminosa na nutrição humana, o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é amplamente consumido no México, América Central, América do Sul e nos países africanos (BERRIOS *et al.*, 1999; WELCH *et al.*, 2000; COSTA *et al.*, 2006). Nos países em desenvolvimento é a principal fonte de proteína na dieta, assim como de carboidratos complexos, fibras, vitaminas e minerais (BERRIOS *et al.*, 1999; VILLAVICENCIO *et al.*, 2000). As leguminosas também contêm fatores antinutricionais como inibidores de proteases, lectinas, saponinas, polifenóis e fitatos, que reduzem seu valor nutricional, diminuindo a digestibilidade ou biodisponibilidade dos nutrientes (SANDBERG, 2002). Porém, apesar de ser considerada uma fonte rica de nutrientes, muita atenção tem sido focada na atividade antioxidante presente nesta leguminosa, devido aos diversos constituintes presentes que possuem propriedades de reduzir o nível do estresse oxidativo (HASSIMOTO *et al.*, 2005).

Atualmente, a germinação tem sido reconhecida como um dos processos mais comuns e eficazes na melhoria da qualidade do grão, sendo influenciados por

diversos fatores externos, tais como o tempo de germinação, presença ou ausência de luz, temperatura, entre outros fatores interferentes (WELCH et al., 2000).

As mudanças significativas nas características bioquímicas, nutricionais e sensoriais nos grãos durante o processo de germinação, são devido à degradação de alguns nutrientes de reserva e sua utilização na respiração e síntese de novos constituintes celulares para o desenvolvimento do embrião. Sabe-se também que a melhoria na qualidade nutricional da semente não é apenas pela redução dos compostos antinutricionais, mas também pelo aumento dos níveis de aminoácidos livres, carboidratos disponíveis, fibra alimentar e outros componentes e o aumento na funcionalidade das sementes, devido à subsequente aumento nos compostos bioativos (LOPEZ-AMORÓS et al., 2006).

Um dos grupos mais abundantes de metabólitos secundários em leguminosas são os compostos fenólicos (DUEÑAS, HERNÁNDEZ, e ESTRELLA, 2002; DUEÑAS, ESTRELLA, e HERNÁNDEZ, 2004; DUEÑAS, FERNÁNDEZ, HERNÁNDEZ, ESTRELLA, e MUÑOZ, 2005; LÓPEZ-AMORÓS et al. 2006; AMAROWICZ, ESTRELLA, HERNÁNDEZ, e TOROSZYNSKA, 2008; AMAROWICZ & PEGG, 2008), os quais são caracterizados nos grupos dos compostos bioativos, sendo considerado um dos grupos mais importantes associados ao poder antioxidante, tendo sido descrito a sua capacidade de quelar metais e inibir a lipoxigenase (ANGELO e JORGE, 2007).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é variável entre os compostos e está relacionada à sua estrutura química (LÓPEZ-AMORÓS et al., 2006), onde estes possuem moléculas que interagem com os radicais livres e são consumidos durante a reação. Essas moléculas podem ser simples ou com alto grau de polimerização, e se apresentam livres ou ligadas a açúcares (ANGELO e JORGE, 2007).

Uma dieta rica em antioxidantes associadas aos mecanismos de defesa endógenos (catalase, peroxidase, metaloproteínas e superóxido dismutase) pode ser eficiente no combate de processos oxidativos naturais do organismo, que ocorrem devido às formas de oxigênio extremamente reativas denominadas “substâncias

reativas oxigenadas” ou ROS, as quais englobam os radicais livres (DEGASPARI e WASZCYNKYJ, 2004; LOPEZ-AMORÓS et al., 2006).

Os flavonóides consistem no mais importante grupo dos compostos fenólicos, sendo que a maioria possui 15 átomos de carbono em sua estrutura química, chamada de núcleo fundamental, que é formada por duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos. Frequentemente encontram-se oxigenados e a maioria está conjugada com açúcares, sendo chamados de heterosídeos. Já na forma livre, são denominados agliconas (SIMÕES et al., 2000). Por ser caracterizado como um composto fenólico, os flavonóides também possuem ação antioxidante, antiplaquetária, antiinflamatória e antialergênicas, podendo, também inibir certas enzimas ligadas a tumorigênese como a lipoxigenase e a cicloxigenase. Nos alimentos, os flavonóides protegem a oxidação da vitamina C, o que reduz a formação de radicais livres (DEGASPARI e WASZCYNKYJ, 2004).

Entretanto, em relação ao processo de germinação, pouco se sabe sobre as alterações ocorridas nos compostos fenólicos de leguminosas durante este processo. Na literatura existe muita informação sobre as mudanças observadas nos taninos condensados. A germinação de soja, lentilha e feijão, avaliados por diversos métodos, modifica a atividade antioxidante, indicando que existem diferenças entre os tipos de leguminosas, bem como nas condições da germinação, que nem sempre estão relacionadas com o conteúdo de alguns compostos antioxidantes (LÓPEZ-AMORÓS et al. 2006).

Outro nutriente reconhecido pela sua propriedade antioxidante são os carotenóides. Os carotenóides são pigmentos naturais que possuem papel muito importante na fisiologia dos vegetais; conferindo-lhes cor e participando da fotossíntese, conjuntamente com a clorofila. Muitos dos carotenóides presentes nos vegetais apresentam atividade de pró-vitamina A e atividade antioxidante (RODRIGUES-AMAYA e KIMURA, 2004).

Podem capturar eficientemente radicais de oxigênio singlete e radicais peroxila. São os mais eficientes inativadores naturais do oxigênio singlete, atuando de duas formas diferentes: uma via física, que ocorre pela transferência de energia das moléculas de oxigênio singlete aos carotenóides; e uma via química, que constitui não

mais que 0,5% do total da inativação do oxigênio singleto. Seqüestram radicais peroxila por interação química. Semelhante à vitamina E, os carotenóides possuem caráter lipofílico, atuando como antioxidante sobre as lipoproteínas LDL e HDL. São consumidos quando as LDLs se expõem a processos de oxidação lipídica (PODSEDEK, 2007).

Segundo Rufino et al. (2007), os métodos para determinar a capacidade antioxidante de um alimento podem ser baseados na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), no poder de redução do metal (FRAP, CUPRAC), na captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), na captura do radical orgânico (ABTS, DPPH) e na quantificação dos produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do caroteno).

Um dos métodos mais utilizados atualmente para avaliar a atividade antioxidante é o radical DPPH• (1,1-difenil-2-picrilidrazil). O extrato é adicionado a uma solução metanólica deste radical, e a redução do DPPH• pode ser acompanhada através do decréscimo da absorbância a 515 nm. Quando o DPPH• é reduzido por um antioxidante ou por radicais, a absorbância diminui (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). Os resultados podem ser expressos em % da redução da capacidade antioxidante ou como EC50 (concentração para inibir em 50% a absorbância inicial do radical DPPH•) (BROINIZI et al., 2007; KITZBERGUER *et al.*, 2007).

Outro método bastante utilizado é através da captura do radical ABTS (2,2' – azinobis (3 – etilbenzotiazolina – 6 – ácido sulfônico)) que baseia-se na inibição do cátion ABTS por meio dos antioxidantes presentes na amostra. Como no método do DPPH, pode ser verificada a perda de coloração e conseqüentemente o decréscimo da absorbância a 734 nm. Uma curva padrão é feita com Trolox, um análogo solúvel da vitamina E, usado como antioxidante de referência. Os resultados são expressos em mM equivalente de Trolox em 1 grama ou 100 gramas de amostra (KUSKOSKI et al., 2005; GOMES, 2009).

Outro composto presente nas plantas que apresentam aumento durante o processo de germinação é a clorofila. A clorofila é o pigmento responsável pela cor verde das plantas, cujo principal papel é a absorção da luz solar e sua conversão para energia química durante a fotossíntese, processo este fundamental para toda vida

terrestre. Apresentam uma molécula planar que está sempre ligadas a proteínas de forma não covalente, e acompanhada de carotenóides (BORRMAN, 2009).

Os pigmentos fotossintéticos presentes e a sua abundância variam de acordo com a espécie. A clorofila *a* (chl *a*) está presente em todos os organismos que realizam fotossíntese. É o pigmento utilizado para realizar a fase fotoquímica, enquanto os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência de energia para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios. A clorofila *b* (chl *b*), os carotenóides e as ficobilinas constituem os chamados pigmentos acessórios (TAIZ & ZEIGER, 2004; BORRMAN, 2009).

São moléculas formadas por complexos derivados da porfirina, tendo como átomo central o magnésio (Fig.A). Esse composto é uma estrutura macrocíclica assimétrica totalmente insaturada constituída por quatro anéis de pirrol (SCHOEFS, 2002). As clorofilas *a* e *b* encontram-se na natureza numa proporção de 3:1, respectivamente, e diferem nos substituintes do carbono C-3. Na clorofila *a*, o anel de porfirina contém um grupo metil (-CH₃) no C-3 e a clorofila *b* contém um grupamento aldeído (-CHO), que substitui o grupo metil (-CH₃) (VON ELBE, 2000). A clorofila *b* é convertida em clorofila *a* através de uma enzima chamada clorofila *a* oxigenase, que catalisa a conversão do grupo metil ao grupo aldeído (XU et al., 2001)

Além do processo de germinação, outro método bastante utilizado na melhoria da qualidade nutricional do grão é o processo de irradiação. Porém a utilização de baixas doses de radiação em alimentos é conhecido por aumentar a sua brotação e não na diminuição dos compostos indesejáveis presentes no grão (ZAKA et al., 2004). Isto ocorre, pois a radiação interage com a água presente no alimento e cria um grande número de radicais com curta meias-vidas, dos quais os óxidos e peróxidos são normalmente os elementos finais. Óxidos e peróxidos atuam na matéria biológica provocando alterações, dentre as quais podemos destacar: iniciam a síntese de proteínas (MOON, 1985; PUNTARULO et al., 1988) e modificam o funcionamento da membrana. Este aumento no processo germinativo pode ser influenciado por fatores que incluem a espécie da planta, o estágio em que os tecidos das plantas foram irradiados e as condições ambientais em que ocorreu a irradiação (ZAKA et al., 2004).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do processo de radiação e posterior germinação, isolados e combinados, sobre a capacidade antioxidante, compostos fenólicos, carotenóides e clorofila nos grão de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.)

5.2 Material e Método

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil.

5.2.1 Matéria-Prima

A matéria-prima utilizada para a realização do experimento foi o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) da variedade carioca, cultivar pérola, adquirido por produtores da região de Rio Verde, interior de Goiás-GO. Os grãos foram irradiados no CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura), utilizando raios gama, provenientes de uma fonte de Cobalto⁶⁰, do tipo Gammacell, nas doses de 0, 0,05, 0,1 e 0,15 kGy sob taxa de dose de 0,456 kGy/hora e posteriormente foram germinados. A quantidade da dose absorvida durante a irradiação foi medida através de dosímetro polimetacrilato de metila (PMMA – Red perspex). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, e a dose de radiação absorvida foi relatada quantitativamente no intervalo de 530 nm. Para analisar os grãos somente irradiados, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* com a finalidade de obtenção da farinha. Essa farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

5.2.2 Germinação

Para a germinação os grãos de feijão sofreram imersão em 300ml de hipoclorito de sódio a 1% (v/v) por 20 min. Lavagem com água deionizada, hidratação dos grãos em 300mL de água deionizada por 8h à temperatura ambiente e ao final foi retirado o excesso de água. Após a hidratação os grãos foram mantidos no laboratório com temperatura e luminosidade ambiente. A germinação ocorreu durante os meses de novembro de 2009 até maio de 2010 com a temperatura variando na faixa entre 30°C a

18,5°C (temperatura média de 24,2°C) e a umidade relativa do ar em média 77,3%. A cada 8h as sementes eram umedecidas e agitadas levemente. As amostras foram recolhidas para análises após 72h e 96h de germinação. As amostras foram congeladas a -80° C durante um dia e posteriormente foram liofilizadas e trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* para a realização das análises. Após ser utilizada, a farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

5.2.3 Tratamentos

Após os processos de irradiação e germinação, foram realizados os seguintes tratamentos:

T1- Grão controle	T5- Grão germinado 48 horas	T9- Grão germinado 96 horas
T2- Grão irradiado 0,05kGy	T6- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,05kGy	T10- Gão germinado 96 horas e irradiado 0,05kGy
T3- Grão irradiado 0,1kGy	T7- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,1kGy	T11- Grão germinado 96 horas e irradiado 0,1kGY
T4- Grão irradiado 0,15kGy	T8- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,15kGy	T12- Grão germinado 96 horas e irradiado 0,15kGY

Em seguida, os grãos de feijões que foram germinados foram congelados para posterior liofilização. Após esta etapa, todas as amostras foram moídas em moinho e peneiradas para a obtenção da farinha para realização das análises.

5.2.4 Fenólicos Totais

O conteúdo de fenólicos totais foi determinado por Despahnde e Cheryan (1987) utilizando o reagente de Folin Ciocalteu, carbonato de sódio anidro e catequina adicionadas de 2 mL de água destilada e 0,25 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos à temperatura ambiente, foram adicionados 0,25 mL de solução saturada de carbonato de sódio. Os tubos foram levados para o banho-maria a

37°C por 30 minutos para desenvolver coloração. Solução de catequina foi utilizada como padrão. As leituras de absorbância foram realizadas no espectrofotômetro.

5.2.5 Flavonóides Totais

O conteúdo de flavonóides totais foi determinado pelo método descrito por Jurd et al. (1956). O princípio desta reação se baseia na formação de quelatos entre o metal de alumínio e os flavonóides, principalmente os flavonols (3-hidroxiavonas) como a quercetina, em soluções alcoólicas, levando a um efeito batocrômico do espectro de absorção dos flavonóides, com alteração da coloração. Foi realizada relação colorimétrica pela mistura de 0,5 mL do extrato, 4,3 mL de etanol 80%, 0,1 mL de nitrato de alumínio 10% e 0,1 mL de acetato de potássio 1M. Como controle para as amostras, foi utilizado 0,1 mL de água destilada em substituição ao nitrato de alumínio. Após 40 minutos será medida a absorbância das amostras em espectrofotômetro a 415 nm. A absorbância obtida relaciona o teor de flavonóides totais, com base no padrão quercetina.

5.2.6 Clorofila e Carotenóides Totais

A clorofila e os carotenóides totais foram avaliados de acordo com a metodologia de Lichtenthaler (1987), pesando-se aproximadamente 2 g da amostra fresca triturada e acrescentando-se 18 mL de acetona a 80%. A seguir, a mistura foi centrifugada em 5000 rpm por 3 a 4 minutos. A leitura do sobrenadante realizou-se em espectrofotômetro a 663 nm (clorofila a), 646 nm (clorofila b) e 470 nm (carotenóides). Os dados foram calculados em $\mu\text{g mL}^{-1}$ para cada amostra.

Os teores de clorofila e carotenóides foram calculados pelas seguintes equações:

$$\text{Clorofila a (Ca)} = 12,25 \times A_{663} - 2,79 \times A_{646}$$

$$\text{Clorofila b (Cb)} = 21,50 \times A_{646} - 5,10 \times A_{663}$$

$$\text{Clorofila total (Ct)} = 7,15 \times A_{663} + 18,71 \times A_{646}$$

$$\text{Carotenóides (C)} = [1000 \times A_{470} - (1,82 \times \text{Ca} + 85,02 \times \text{Cb})]/198$$

Onde:

A_{663} , A_{646} e A_{470} = leitura no espectrofotômetro nos comprimentos de onda indicados

Ca = teor de clorofila a

Cb = teor de clorofila b

5.2.7 Atividade antioxidante

5.2.7.1 DPPH

A capacidade antioxidante dos extratos dos feijões foi medida segundo método proposto por Brand-William; Cuvelier e Berset (1995), que se baseia na redução da absorbância a 517nm do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), por antioxidantes. A solução de DPPH foi preparada de forma a apresentar absorbância em 517nm. Dependendo da amostra (maior poder antioxidante ou menor) pesou-se 0,8 g em um béquer e diluiu em 10 mL de metanol. Agitar em mesa agitadora por 15 minutos, e a seguir transferir em tubo de centrífuga. Centrifugar por 10 minutos a 2000 rpm. Pipeta-se 500µl do sobrenadante em tubo de ensaio com 3 mL de etanol e 300µL da solução DPPH. A reação foi mantida a temperatura ambiente por 15 minutos, no escuro. As leituras das absorbâncias foram realizadas em 517nm em espectrofotômetro. A absorbância das amostras (Am) correlacionada à absorbância do controle (Ac) resulta na porcentagem de seqüestro de radicais livres (%SRL) que pode ser expressa pela seguinte fórmula. (SINGH; MURTH; JAYAPRAKASHA, 2002).

$$\%SRL = \left(\frac{Ac - Am}{Ac} \right) \times 100$$

5.2.7.2 ABTS

O padrão TEAC descrito por Berg et al. (1999) e Re et al. (1999) que usa a determinação dos valores de TEAC com algumas modificações, foi utilizado. A TEAC foi calculada em relação à solução de Trolox (Arts et al., 2004). A solução estoque de Trolox foi diluída em 5 pontos (2,5 µM (1:799); 5 µM (1:399); 10 µM (1:199); 15 µM (1:132)) e a curva padrão foi preparada.

5.2.8 Análise Estatística

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento para todas as análises químicas, sendo os resultados expressos em média±desvio-padrão. Foi realizada análise de variância pelo teste F e a comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos segundo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) através do programa *Software Statistical Analysis System* (SAS). Fez-se também a correlação de Pearson, entre todas as variáveis estudadas

com o processo de germinação e irradiação. A construção dos gráficos e tabelas foi feita pelo programa Excel (Microsoft).

5.3 Resultado e Discussão

Os dados referentes aos fenólicos totais estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Teores de fenólicos totais (mg g^{-1}) e flavonóides (mg de quercetina 100g^{-1}) em base seca, para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (média $\pm$ desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Teor de fenólicos totais (mg g^{-1})	Teor de Flavonóides (mg de quercetina 100 g^{-1})
0	0	$1,93 \pm 0,25^e$	nd
0	72	$3,01 \pm 0,51^d$	nd
0	96	$4,74 \pm 0,33^a$	nd
0,05	0	$1,62 \pm 0,10^e$	nd
0,05	72	$2,97 \pm 0,10^d$	nd
0,05	96	$3,14 \pm 0,21^{c,d}$	nd
0,1	0	$1,75 \pm 0,30^e$	nd
0,1	72	$2,75 \pm 0,21^d$	nd
0,1	96	$4,15 \pm 0,32^{a,b}$	nd
0,15	0	$1,75 \pm 0,06^e$	nd
0,15	72	$2,86 \pm 0,10^d$	nd
0,15	96	$3,79 \pm 0,29^{b,c}$	nd

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

nd - não disponível

Ocorreu aumento estatisticamente significativo no teor de fenólicos totais após germinação de 72 e 96 horas em relação às amostras controle e as que sofreram somente o processo de irradiação (Tabela 13). A amostra controle não apresentou diferença estatística entre os feijões irradiados nas doses 0,05; 0,1 e 0,15 kGy, porém apresentou diferença quando comparado com as amostras germinadas. Já os feijões que sofreram o processo de germinação (72 horas) e irradiação, isolados e combinados, não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos,

porém diferiram de algumas amostras germinadas no tempo de 96 horas e das amostras somente irradiadas nas doses 0,05; 0,1 e 0,15 kGy. O teor de compostos fenólicos dos grãos de feijão analisados apresentaram resultados variando de 1,62 (feijão irradiado na dose 0,05kGy) a 4,74 (feijão germinado no tempo de 96 horas) mg g^{-1} de amostra, valores estes que estão de acordo com o encontrado de Fernandez-Orozco et al. (2008). Estes autores verificaram teores de compostos fenólicos em feijão cru na variedade esmeralda de 1,09 mg g^{-1} de amostra, 1,30 mg g^{-1} de amostra em feijão germinado a 72 horas e 2,24 mg g^{-1} de amostra para o feijão germinado no tempo de 96 horas, observando aumento após o processo de germinação. Resultados similares também foram encontrados por Martinez et al. (2011) com aumento nos teores de fenólicos totais em soja após o processo de germinação e para Cevallos-Casals et al. (2010) que verificaram aumento neste composto após o período de germinação de 7 dias em feijão mungo. Porém, essas mudanças no teor dos compostos fenólicos que ocorrem após a germinação, não são apenas dependentes do tipo de leguminosa, mas também sobre as condições do processo, a presença de luz e o tempo de germinação (LÓPEZ-AMORÓS et al., 2006).

Amarowicz, Troszynska, Barylko-Pikielna e Shahidi (2004), Fernandez-Orozco, Zielinski e Piskula (2003), Madhijith, Naczek e Shahidi (2004), e Zielinski (2003) relataram valores semelhantes no conteúdo de compostos fenólicos, variando de 1,9-5,7 mg.g^{-1} de amostra em diferentes leguminosas cruas. Zielinski (2003) relatou que a germinação de *Glycine max* cv. *mazovia* causou aumento no teor de compostos fenólicos de 2,6 mg de catequina/g de amostra para 3,1 mg de catequina g^{-1} de amostra após 7 dias de germinação. Este aumento no conteúdo de fenólicos mostraram papel potencialmente importante durante a germinação de sementes, bem como o reforço no valor nutracêutico das sementes por este processo (CEVALLOS-CASALS et al., 2010).

López-Amorós et al. (2006) também observaram aumento no teor dos compostos fenólicos após 2 dias de germinação em feijão, porém seus apresentaram bem acima dos encontrados no presente trabalho. A discrepância nos resultados pode ser atribuída devido o emprego de diferentes métodos de extração e estimativa de ácidos fenólicos (por exemplo, tempo de extração, diferentes proporções metanol/água para a extração), usando diferentes cultivares de feijão (por exemplo: diferenças

genéticas), usando diferentes padrões de ácido fenólico para reportar a concentração e a diferença no crescimento dos feijões (por exemplo, tempo, temperatura, presença de luz, umidade durante o processo germinativo do grão) (DICKO et al., 2005; MACHADO et al., 2008).

Dueñas et al. (2009) observaram aumento significativo na concentração de compostos fenólicos em sementes de tremoço após 4 dias e aumento mais pronunciado em nove dias de germinação, onde foi incrementado aproximadamente 53% do total de fenólico (expresso como mg de ácido gálico g⁻¹). Estes resultados estão de acordo com os fenólicos totais reportados no presente estudo (tabela 14), os quais apresentaram aumento de 35% e 59% após 3 e 4 dias de germinação e por Fernández-Orozco et al. (2006) que encontraram aumento de 53% de fenólicos totais (expresso em mg de catequina g⁻¹) em brotos de tremoço depois de nove dias. Aumento no teor de fenólicos totais em grão de bico também foi relatado após cinco dias de germinação (KHATTAK, ZEB, BIBI, KHALIL, e KHATTAK, 2007).

Diversos autores (LIN et al., 2006; PASKÓ et al., 2011) citam que os feijões que apresentam tegumentos escuros diminuem significativamente o teor de fenólicos totais após a germinação em curto prazo. Porém, seus valores são aumentados após a germinação de longo prazo (após 3 dias de germinação). A diminuição da quantidade do composto fenólico das leguminosas germinadas em curto prazo foi atribuída às perdas de compostos de pigmentação no tegumento, quando as sementes são embebidas e germinadas. Já o aumento deste composto está atribuído ao metabolismo bioquímico durante a germinação de sementes, que pode produzir metabólitos secundários, tais como antocianinas, flavonóides agliconas ou liberação de glicosídeos conjugados dos tegumentos e cotilédones devido à ativação enzimática (MWIKYA et al., 2001). Porém essa concentração pode variar muito, pois depende de inúmeros fatores, dentre eles: método de determinação, compostos determinados, procedimentos para a germinação, entre outros fatores (BARBOSA et al., 2006). A elevação no teor de compostos fenólicos também foi observado no estudo de Tian et al. (2010), os quais verificaram que após o processo de germinação em aveias, o conteúdo de fenólicos totais foram aumentando até 120 horas de germinação. Isto pode ser atribuído a melhor estabilidade dos compostos fenólicos a partir da sua estrutura após germinação.

Em contraste aos resultados observados neste estudo, Randhir, Lin e Shetty (2004) reportaram que a germinação causou diminuição no teor dos compostos fenólicos de sementes de *Vigna radiata*. Barroga et al. (1985) também relataram redução de aproximadamente 23-36% na quantidade de fenólicos totais durante a germinação de 48 horas do feijão mungo, o qual está de acordo com o estudo de Khattak et al. (2007). Já o estudo de Paramjvothi & Anjali (2005) relataram aumento significativo de fenólicos extraídos em metanol de sementes germinadas após 72 horas. Uma explicação que o autor cita para esta elevação é devido à síntese renovada de polifenóis ou degradação de polímeros insolúveis de elevado peso molecular em menor peso molecular que reagem com o reagente.

Quanto às doses de irradiação, estudo realizado por Villavicencio et al. (2000), Oigiangbe e Onigbinde (1996) e Pinn et al. (1993) não observaram efeito da irradiação na concentração deste compostos fenólicos para os feijões da variedade carioca e macaçar. Porém, as doses utilizadas por estes autores foram bem mais altas em relação a esse trabalho, assim, podemos considerar que o efeito de irradiação em baixas doses não compromete o valor nutricional da leguminosa estudada.

Dixit et al. (2010), avaliaram três genótipos de soja indiana, nas cores preta, verde e amarela (kalitur, hara e NRC37, respectivamente) irradiadas nas doses 0,5; 2,0 e 5,0 kGy, observaram que a radiação na dose 0,5 kGy mostrou aumento no conteúdo de fenólicos totais de 17%, 14% e 13% para as amostras Kalitur, Hara e NRC37, respectivamente. No entanto, os três genótipos apresentaram diminuição no teor deste composto na maior dose de radiação (5,0 kGy). Porém, em relação ao presente estudo, devemos considerar que as alterações ocorridas no teor dos compostos fenólicos foram obtidas com doses superiores ao nosso trabalho, portanto não podemos afirmar que a irradiação em baixas doses alteram a concentração deste composto.

Outros estudos também vêm demonstrando aumento nos compostos fenólicos após a radiação gama em baixas doses (0,3 kGy) (PENDHARKAR e NAIR, 1995; OUFEDIDIKH et al., 2000). Estes autores explicam que o aumento no conteúdo de fenólicos totais é devido ao surto da atividade enzimática no metabolismo de fenilpropanóide.

Em relação ao teor de flavonóides, nota-se que todas as amostras estudadas não apresentaram teores de flavonóides significativos. Segundo Martinez-Flórez et al. (2002) os flavonóides são encontrados principalmente em frutas, legumes, sementes e flores, bem como cerveja, vinho, chá verde, chá preto e soja, não sendo muito comum em feijão.

Entretanto, resultados semelhantes ao teor de compostos fenólicos e contraditórios na concentração de flavonóides totais foram encontrados no estudo de Lin et al. (2006). Estes autores observaram que com a evolução no tempo de germinação (24 e 96 horas) as concentrações de fenólicos totais e flavonóides aumentaram significativamente em feijões e soja. Estes resultados foram atribuídos ao metabolismo bioquímico das sementes durante a germinação, pois durante este processo pode haver produção de alguns metabólitos secundários da planta como as antocianinas e flavonóides ou a liberação de agliconas dos glicosídeos conjugados dos tegumentos e cotilédones das sementes, devido a ativação enzimática.

Outro estudo que também observou aumento no teor de flavonóides após o processo germinativo foi de Dueñas et al. (2009). Verificaram que durante a germinação de sementes de tremoço, comportamentos diferentes de flavonóides foram observados. Os flavonóides apresentaram dois pontos de concentrações máximas, que foram no terceiro dia e no nono dia de germinação, mostrando aumento maior no nono dia.

Beninger & Hosfield (2003), testaram a atividade antioxidante de flavonóides, pigmentos das plantas, encontrado em 12 linhagens comuns de feijões, observaram que estes antioxidantes destroem radicais livres, que são substâncias químicas ativas cujo excesso foi relacionado com doenças do coração, câncer e envelhecimento. O feijão do tipo preto possui maior quantidade de flavonóides, tendo assim maior atividade antioxidante, que os outros feijões, seguidos por vermelho, marrom, amarelo e feijão branco. Em geral, as sementes coloridas mais escuras foram associadas a níveis mais altos de flavonóides tendo, portanto, atividade antioxidante mais ativa no feijão. Sendo o feijão utilizado no estudo, da variedade carioca, com coloração clara, as concentrações de flavonóides não foram detectadas.

Os dados referentes a clorofila total estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Teores de clorofila e carotenóides totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)(base fresca, média $\pm$ desvio padrão), em feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Carotenóide ($\mu\text{g de carotenóide g}^{-1}$)	Clorofila ($\mu\text{g de clorofila g}^{-1}$)
0	0	0,12 $\pm$ 0,02 ^c	0,68 $\pm$ 0,05 ^{g,f}
0	72	0,21 $\pm$ 0,02 ^{b,c,d}	0,81 $\pm$ 0,04 ^{e,f}
0	96	0,29 $\pm$ 0,00 ^a	1,36 $\pm$ 0,09 ^a
0,05	0	0,20 $\pm$ 0,04 ^{b,c,d}	0,43 $\pm$ 0,05 ^h
0,05	72	0,19 $\pm$ 0,00 ^{b,c,d,e}	1,06 $\pm$ 0,05 ^{b,c}
0,05	96	0,24 $\pm$ 0,00 ^{a,b,c}	1,00 $\pm$ 0,06 ^{b,c,d}
0,1	0	0,18 $\pm$ 0,03 ^{c,d,e}	0,65 $\pm$ 0,05 ^g
0,1	72	0,17 $\pm$ 0,01 ^{d,e,f}	0,96 $\pm$ 0,04 ^{c,d,e}
0,1	96	0,25 $\pm$ 0,00 ^{a,b}	0,85 $\pm$ 0,01 ^{d,e}
0,15	0	0,13 $\pm$ 0,03 ^{e,f}	0,62 $\pm$ 0,04 ^g
0,15	72	0,18 $\pm$ 0,01 ^{c,d,e,f}	0,99 $\pm$ 0,06 ^{b,c,d}
0,15	96	0,28 $\pm$ 0,00 ^a	1,14 $\pm$ 0,01 ^b

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

A análise de clorofila total nos grãos de feijão carioca variedade pérola apresentou resultados variando de 0,43 (amostra irradiada a 0,05kGy) a 1,36 μg (feijão germinado no tempo de 96 horas) de clorofila g^{-1} de amostra (Tabela 14). Assim, nota-se que com a evolução no tempo de germinação do feijão, houve tendência no aumento do conteúdo de clorofila, apresentando correlação alta e positiva com este processo (0,81). O mesmo foi observado com o processo de irradiação, o qual apresentou correlação alta e positiva com o teor de clorofila nos grãos (0,91), porém não foram encontrados estudos que comprovem o efeito da irradiação no teor de clorofila. Realizando o Teste de Tukey, para comparação das médias, verifica-se que apenas as amostras germinadas no tempo de 72 horas e irradiada nas doses 0,1 e 0,15 kGy não apresentaram diferença significativa em relação a amostra controle. E apenas a amostra germinada no tempo de 96 horas foi o que apresentou diferença estatística significativa entre todas as amostras estudadas. Estes resultados estão em concordância com os reportados por Padmaja et al. (1990) que verificaram aumento no

teor de clorofila em feijão mungo até o quarto dia de germinação e permaneceu constante no quinto dia de germinação.

Um dos principais fatores responsáveis pelo esverdeamento do grão são a síntese e o acúmulo de clorofila, decorrentes da exposição à luz durante o processo germinativo e conseqüente transformação de amiloplastos em cloroplastos (KRAUTLER, 2003). A exposição dos grãos à luz induz também a síntese e acúmulo de glicoalcalóides, especialmente a-solanina e a-chaconina (ROCA et al., 2004). Esses glicoalcalóides, quando em concentrações elevadas, conferem ao grão um sabor amargo. Assim, embora não tenham participação no esverdeamento dos grãos, o fato da síntese desses alcalóides serem, como a da clorofila, induzida pela luz, leva os consumidores a associar o esverdeamento ao sabor amargo (TAKAMYA et al., 2000; GANDUL-ROJA et al., 2004).

Quanto ao teor de carotenóides totais foi observado aumento estatisticamente significativo com a evolução no tempo de germinação (Tabela 14), apresentando teores em torno de 0,12; 0,21 e 0,29 $\mu\text{g g}^{-1}$ para as amostras controle e germinadas no tempo de 72 e 96 horas, respectivamente, mostrando correlação alta e positiva (0,97) com este processo. Entretanto a irradiação apresentou pequeno efeito no teor deste constituinte, com coeficiente de correlação baixa e positiva (0,03), não apresentando diferença estatística significativa entre as doses estudadas. A amostra que apresentou a maior média de carotenóide foram os feijões que sofreram apenas o processo de germinação de 96 horas e os que obtiveram a menor média foi à amostra controle.

Estudo realizado por Khattak et al. (2008), que analisaram o impacto do tempo de germinação e o tipo de iluminação no conteúdo de carotenóides de grãos de bico, observaram que com a evolução no tempo de germinação as concentrações de carotenóides em grãos de bico irradiado aumentaram significativamente, entretanto, os brotos sob iluminação fluorescente, amarelo e vermelho diminuíram significativamente após 48 horas de germinação. Sob iluminação azul e preta no período de 48 horas permaneceu quase o mesmo valor do período de germinação de 24 horas. Os valores mínimos para carotenóides foram encontrados para os brotos que ficaram sob luz fluorescente (28,36mg 100g⁻¹) e o que apresentou o maior valor foram os brotos

irradiados ($80,05 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) após 48 horas de germinação. Já em relação ao tempo de 72 horas, o maior valor foi encontrado para os grãos de bico sob luz amarela ($131,74 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) seguido de brotos sob iluminação verde ($91,63 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e no tempo de 96 horas, os maiores teores foram encontrados nos brotos germinados sob condições de escuro ($86,27 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$), enquanto que nos brotos sob outras iluminações diminuí significativamente. O mesmo ocorreu com o estudo de Ghazali et al. (1991) os quais verificaram aumento no teor de carotenóides em feijão preto após três dias de germinação ($138 \mu\text{g}$ de carotenóides 100g^{-1}) sem a presença de luz e em temperatura ambiente, valor este acima dos encontrados no presente estudo.

Devido ao pouco estudo encontrado sobre o efeito da germinação na composição de clorofila e carotenóides totais, optou-se por apresentar valores em relação a grãos de trigo germinado e brotos de brócolis.

Yang et al. (2001) avaliaram a concentração de β -caroteno em trigos germinados e observaram que o conteúdo de β -caroteno aumentou gradualmente com o aumento do tempo de germinação, atingindo o pico no 8º dia.

Waje et al (2009) realizaram o estudo com o intuito de avaliar os efeitos da radiação gama em diferentes doses sobre a germinação de brócolis na composição de carotenóides e clorofila, observaram aumento nos teores durante a germinação. Inicialmente, o conteúdo de carotenóides foi afetado pela irradiação, mas no último dia de germinação, o teor de carotenóides dos brotos irradiados a 1 e 3 kGy não apresentaram diferença significativa entre o brócolis controle. No entanto as sementes tratadas com 5 kGy apresentaram menor teor de carotenóides do que as amostras não irradiadas. Fan et al. (2003) também verificaram que a irradiação na dose 3 kGy em brotos de alfafa não influenciaram no conteúdo de carotenóides.

Quanto ao conteúdo de clorofila total em brotos de brócolis, Waje et al. (2009) também verificaram que os teores de clorofila não foram significativamente afetados quando submetidas a irradiação na dose 1 kGy. Por outro lado, a irradiação com doses 3 e 5 kGy resultou em diminuição no teor deste composto.

Com isso, esses dados demonstram que os valores encontrados neste trabalho são bastante satisfatórios, devido ao mesmo efeito da germinação sobre estes

compostos, porém a ausência na literatura com este tipo de alimento impede maiores considerações e analogias.

Os dados referentes a atividade antioxidante em grãos de feijão estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 - Atividade antioxidante ($\mu\text{Mol Trolox g}^{-1}$) determinada pelos métodos DPPH e ABTS de extratos metanólicos de feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle (base fresca, média $\pm$ desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	ABTS	DPPH
		($\mu\text{m de TROLOX g}^{-1}$)	($\mu\text{m de TROLOX g}^{-1}$)
0	0	3,04 $\pm$ 0,85 ^d	1,54 $\pm$ 2,72 ^c
0	72	8,24 $\pm$ 0,68 ^b	2,28 $\pm$ 1,12 ^b
0	96	13,35 $\pm$ 1,94 ^a	2,46 $\pm$ 7,7 ^a
0,05	0	3,48 $\pm$ 0,34 ^d	1,52 $\pm$ 3,46 ^c
0,05	72	7,84 $\pm$ 0,19 ^b	2,26 $\pm$ 1,85 ^b
0,05	96	14,00 $\pm$ 1,27 ^a	2,46 $\pm$ 6,79 ^a
0,1	0	3,97 $\pm$ 2,02 ^d	1,54 $\pm$ 4,88 ^c
0,1	72	7,93 $\pm$ 0,15 ^b	2,25 $\pm$ 1,85 ^b
0,1	96	13,97 $\pm$ 0,36 ^a	2,47 $\pm$ 7,7 ^a
0,15	0	4,82 $\pm$ 0,68 ^{c,d}	1,55 $\pm$ 3,69 ^c
0,15	72	7,66 $\pm$ 0,56 ^{b,c}	2,27 $\pm$ 2,45 ^b
0,15	96	14,56 $\pm$ 1,86 ^a	2,46 $\pm$ 6,79 ^a

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

A Tabela 15 mostra os valores obtidos por dois diferentes métodos utilizados para medir a capacidade antioxidante do feijão.

Os métodos ABTS e DPPH apresentaram boa repetibilidade e tem sido amplamente utilizada para determinar a atividade antioxidante das amostras. Verificou-se que as sementes de feijão apresentaram boa atividade antioxidante, bem como as sementes germinadas com 3 e 4 dias de germinação os quais apresentaram compátivel ao antiradical/atividade antioxidante.

Dentre os feijões analisados, a maior atividade antioxidante encontrada foi obtida pela amostra que sofreu apenas o processo de germinação no tempo de 96

horas, o qual aumentou 78% e 33% para os métodos ABTS e DPPH, respectivamente, em relação ao feijão controle. As amostras germinadas no tempo de 72 horas apresentaram em relação ao grão controle, aumento na atividade antioxidante em torno de 64% e 32% pelos métodos ABTS e DPPH, respectivamente. Esse aumento pode ser devido à síntese de vitaminas hidrossolúveis antioxidantes (vitamina C), carotenóides, clorofila e/ou outros compostos, como os polifenóis, com características antioxidativas durante o processo de germinação (FRÍAS et al., 2005; LOPEZ-AMOROZ et al., 2006). Ao observar a tabela 13 e 14, nota-se que tanto os compostos fenólicos, como os carotenóides e clorofila apresentaram aumento em seus valores após o processo de germinação, o qual promovem aumento da capacidade antioxidante do grão. Estes resultados indicam que a germinação promove o aumento da capacidade antioxidante pela formação de espécies quelantes com a capacidade de intercepção peroxil.

Realizando-se o teste de Tukey (Tabela 15) para comparação das médias, verificou-se que, tanto para o método ABTS como para o método DPPH, a amostra controle, germinada no tempo de 72 horas e 96 horas apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), porém as amostras que sofreram o processo de irradiação nas doses 0,05; 0,1 e 0,15 kGy não apresentaram diferença em relação a amostra controle, mostrando que a irradiação em baixas doses não compromete a qualidade nutricional do grão.

Resultados similares ao presente estudo foram encontrados por Lopez-Amoroz, Henandez e Estrella (2006) que observaram que a capacidade antioxidante do feijão é aumentada após o processo de germinação de 4 e 6 dias. Porém notaram que o tempo de germinação e luz são fatores que influenciam na capacidade antioxidante do grão, pois na ausência de luz os feijões após seis dias de germinação apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante. Assim, estes resultados sugerem que as leguminosas contêm, juntamente com os compostos fenólicos, outros compostos bioativos, tais como vitaminas e carotenóides em diferentes concentrações (SIES et al., 1992; PRODANOV et al., 1998; ATIENZA et al., 1999) que podem afetar a atividade antioxidante dos grãos. Estes compostos podem exercer efeito sinérgico entre si e com compostos fenólicos, o que poderia ser a origem das diferenças observadas na atividade antioxidante das amostras.

A melhoria na atividade antioxidante durante o processo de germinação também foi relatado por outros autores. Fernández-Orozco et al. (2006) observaram que os valores TEAC em sementes de tremçoço (obtido pelo método ABTS) foram ligeiramente modificada até o quinto dia de germinação, mas depois de 6 e 9 dias houve aumento significativo (25% e 28%, respectivamente). Doblado et al. (2007), o qual avaliou a atividade antioxidante pelo método ABTS de brotos de feijão caupi, verificaram que o feijão cru apresentou $27,4 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ de amostra, apresentando bem acima dos encontrados no presente estudo. Após o processo de germinação, esta capacidade apresentou aumento de 58% e 67% com 4 e 6 dias de germinação, respectivamente. Frías et al. (2005) encontraram que o TEAC de extratos de tampão salino fosfato de tremçoço germinado aumentaram de 8% para 46% e observaram correlação positiva com o aumento de vitamina C nas amostras. Doval et al. (2001) verificaram que os brotos de soja apresentaram atividade antioxidante alta, o que inibiu a oxidação lipídica através da supressão de hidroperóxidos e formação de dienos conjugados. Como citado anteriormente o aumento na produção de radicais livres de oxigênio pode resultar em peroxidação lipídica, os quais podem aumentar a integridade da membrana, aumentando a permeabilidade da membrana e levando a inativação das enzimas, danificando a estrutura do DNA, e morte celular (KIM et al., 2011).

Diversos estudos (GENOVESE et al., 2004; DUEÑAS et al., 2009; PASKÓ et al., 2009) têm observado uma forte correlação entre conteúdo de polifenóis totais e a atividade antioxidante, e estes resultados sugerem que o conteúdo de polifenóis totais é um preditor da atividade antioxidante *in vitro*. Assim, nos feijões analisados, pode ser observado que a maior quantidade encontrada para fenólicos foi no feijão que sofreu apenas o processo de germinação no tempo de 96 horas, o qual apresentou a maior atividade antioxidante, apresentando coeficiente de correlação entre a atividade antioxidante e o teor de fenólicos de 0,99 e 0,82 para os métodos ABTS e DPPH, respectivamente.

Paskó et al. (2009) também observaram forte correlação entre fenólicos totais e atividade antioxidante com a germinação (ABTS, $R=0,98$; DPPH, $r=0,98$), mostrando que o conteúdo de fenólicos totais é um bom indicador da atividade antioxidante *in vitro*. Resultado contraditório ao presente estudo (Tabela 13 e 15) e do

citado acima foi encontrado no estudo de Genovevese et al. (2004), que verificaram coeficiente de correlação baixo ($r=0,26$) entre estes dois constituintes. Dueñas et al. (2009) também observaram baixa correlação ($r=0,72$), o que sugere que outros compostos diferentes também reagem com o reagente Folin-Ciocalteu. Portanto, aumento no teor de fenólicos totais nem sempre corresponde ao aumento na atividade antioxidante, como visto, por exemplo, nos dias 3 (17,5 mg trolox g^{-1} de amostra) e 4 (12,3 mg trolox g^{-1} de amostra) deste estudo citado.

Kim et al. (2011) observaram que os métodos DPPH e ABTS, não demonstraram diferença significativa na atividade do sequestro de radicais livres em sementes de soja transgenica germinada. Porém, o estudo mostrou que a atividade antioxidante de soja transgênica aumenta com o processo de germinação de três dias. Estes resultados estão de acordo com outros estudos que mostraram que a germinação de soja induz modificações de certos componentes biologicamente ativos, tais como saponinas, lecitinas e compostos estrogênicos, bem como o valor nutritivo da leguminosa é melhorado (BAU et al., 1997; BAU et al., 2000).

Em relação à irradiação em baixas doses, não foi encontrado estudos que comprovem seu efeito na capacidade antioxidante de feijões. Porém, em relação a doses mais altas foram observados aumentos na capacidade antioxidante do grão. Dixit et al. (2010) observaram aumento significativo na atividade antioxidante de três genótipos diferentes de soja após a radiação na dose 2,0 kGy. Porém, quando submetidas a dose 5,0 kGy a capacidade antioxidante dos três genótipos de soja foram diminuídas. Esse aumento na atividade antioxidante com dose mais baixa pode ser atribuído ao aumento nos níveis de compostos fenólicos, incluindo os flavonóides.

5.4 Conclusão

A germinação provocou mudanças significativas na composição fenólica do feijão, devido principalmente à ativação de enzimas endógenas e do metabolismo bioquímico complexo das sementes durante este processo. Em relação aos flavonóides não foi detectado este constituinte em nenhuma amostra analisada. A capacidade antioxidante do feijão foi aumentando com o aumento do tempo de germinação, já as doses de irradiação não apresentaram diferenças significativas quando comparado ao

feijão controle. O mesmo ocorreu com as concentrações de clorofila e carotenóides totais, o qual foi verificado aumento após o processo germinativo do feijão, contribuindo desta forma com o aumento da atividade antioxidante do feijão

Devido aos resultados obtidos nessa pesquisa podemos considerar que a irradiação nas doses utilizadas não interferem no valor nutricional do feijão carioca variedade pérola e a germinação pode ser um bom processo para obter grãos com elevada capacidade antioxidante.

Referências

- AMAROWICZ, R.; TROSZYNSKA, A.; BARYLKO-PIKIELNA, N.; SHAHIDI, F. Polyphenolics extracts from legume seeds: Correlations between total antioxidant activity, total phenolics content, tannins content and astringency. **Journal of Food Lipids**, Trumbull, v.11, n.4, 278-286, 2004.
- AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B. Legumes as a source of natural antioxidants. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v.110, n.10, 856–878, 2008.
- AMAROWICZ, R.; ESTRELLA, I.; HERNÁNDEZ, T.; TOROSZYNSKA, A. Antioxidant activity of extract of adzuki bean and its fractions. **Journal of Food Lipids**, Trumbull, v.15, n.1, 119–136, 2008.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n.1, p.1-9, 2007.
- ATIENZA, J.; SANZ, M.; HERGUEDAS, A.; ALEJOS, J.A.; JIMENEZ, J.J. Beta-carotene alpha-tocoferol and gamma-tocoferol contents in dry legumes. Influence of cooking. **Food Science and Technology International**, New York, v.4, n.6, p. 437–441, 1999.
- BARBOSA, A.C.L.; HASSIMOTTO, N.M.A.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.4, p.921-926, 2006.
- BARROGA, F.B.; LAURENA, A.C.; MENDOZA, E.M.T. Polyphenols in mungbean: determination and removal. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v.33, n.5, p.1006–1009, 1985.
- BAU, H.-M.; VILLAUME, C.; NICOLAS, J.-P. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of Science and Food Agricultural**, London, v.73, n.1, p. 1-9, 1997.

BAU, H.-M.; VILLAUME, Ch.; MEJEAN, L. Effects of soybean germination on biologically active components, nutritional values of seeds and biological characteristics in rats. **Nahrung**, Stuttgart, v.44, n.1, p. 2-6, 2000.

BENINGER, C.W.; HOSFIELD, G.L. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Michigan, v.51, n.12, p.7879-7883, Dec. 2003.

BERRIOS, J.D.J.; SWANSON, B.G.; CHEONG, W.A. Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Research International**, Kiflington, v. 32, n.10, p. 669-676, 1999.

BORRMANN, DANIELA. **Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores**. 2009. 125p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009

BRAND-WILLIAMS, W., CUVIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofrutode caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.4, p. 902-908, out./dez., 2007.

CEVALLOS-CASALS, B.A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. **Food Chemistry**, Oxford, v.119, n.4, p. 1485-1490, 2010.

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

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n.1, p. 33-40, Jan./Jun.2004.

DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M. Determination of phenolic compounds of dry beans using vanilin, redox and precipitation assays. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.2, p. 332-334, 1987.

DICKO, M.H.; GRUPPEN, H.; TRAORE, A.S.; VAN BERKEL, W.J.H.; VORAGEN, A.G.J. Evaluation of the Effect of Germination on Phenolic Compounds and Antioxidant Activities in Sorghum Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.7, 2581-2588, 2005.

DIXIT, A.K.; BHATNAGAR, D.; KUMAR, V.; RANI, A.; MANJAYA, J.G.; BHATNAGAR, D. Gamma Irradiation induced enhancement in isoflavones, total phenol, anthocyanin and antioxidant properties of varying seed coat colored soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.58, n.7, p.4298-4302, 2010.

DOBLADO, R.; FRÍAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C. Changes in vitamin C content and antioxidant capacity of raw and germinated cowpea (*Vigna sinenses* var. *carilla*) seeds induced by high pressure treatment. **Food Chemistry**, Oxford, v.101, n.3, p.918-923, 2007.

DOVAL, M. M., ROMERO, A. M., STURLA, M. A.; JUDIS, M. A. Antioxidative effect of soya bud in model systems. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v.213, n.4/5, p.297–300, 2001.

DUEÑAS, M., HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I. Phenolic composition of the cotyledon and the seed coat of two varieties of lentils (*Lens culinaris*). **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v.215, n.6, p.478–483, 2002.

DUEÑAS, M., ESTRELLA, I.; HERNÁNDEZ, T. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v.219, n.2, p.116–123, 2004.

DUEÑAS, M., FERNÁNDEZ, M. L., HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I.; MUÑOZ, R. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L.). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. **Journal of the Sciences of Food and Agriculture**, Washington, v.85, n.2, p.297–304, 2005.

DUEÑAS, M.; HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I.; FERNÁNDEZ, D. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). **Food Chemistry**, Oxford, v.117, n.4, p.599-607, 2009.

FAN, X.; RAJKOWSKI, K.T.; THAYER, D.W. Quality of alfalfa sprouts grown from irradiated seeds. **Journal of Food Quality**, Trumbull, v.26, n.1, p.165–76, 2003.

FERNANDEZ-OROZCO, R., ZIELINSKI, H.; PISKULA, M. Contribution of low molecular weight antioxidants to the antioxidant capacity of raw and processed lentil seeds. **Nahrung/Food**, Stuttgart, v.7, n.5, p.291–299, 2003.

FERNÁNDEZ-OROZCO, R.; PISKULA, M. K.; ZIELINSKI, H.; KOZLOWSKA, H.; FRIAS, J.; VIDAL- VALVERDE, C. Germination as a process to improve the antioxidant capacity of *Lupinus angustifolius* L. var. Zapaton. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v.223, n.4, p.495–502, 2006.

FERNÁNDEZ-OROZCO, R.; FRIAS, J.; ZIELINSKI, H.; PISKULA, M.K.; KOZLOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. *emerald*, *Glycine max* cv. *jutro* and *Glycine max* cv. *merit*. **Food Chemistry**, Oxford, v.111, n.3, p.622-630, 2008.

FRIAS, J.; MIRANDA, M. L.; DOBLADO, R.; VIDAL-VALVERDE, C. Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var Multolupa. **Food Chemistry**, Oxford, v.92, n.2, p.211–220, 2005.

GANDUL-ROJAS, B.; ROCA, M.; MÍNGUEZ-MOSQUETEIRA, M.I. Chlorophyll and carotenoid degradation mediated by thylakoid-associated peroxidative activity in olives (*Olea europaea*) cv. Hojiblanca. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.161, n.5, p.499-507, 2004.

GENOVESE, M.I.; HASSIMOTTO, N.M.A.; LAJOLO, F.M. Isoflavone profile and antioxidante activity of Brazilian soybeans varieties. **Food Science and Technology International**, London, v.11, n.3, p.205-211, 2005.

GHAZALI, H.M.; CHENG, S.C. The effect of germination on the physico-chemical properties of black gram (*Vigna mungo* L.). **Food Chemistry**, Oxford, v.41, n.1, p. 99-106, 1991.

GOMES, F. S. **Concentração de licopeno de suco de melancia através de processos de separação por membranas**. 2009. 107p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

HASSIMOTO, N.M.A.; GENOVESE, I.S.; LAJOLO, F.M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.8, p. 2928-2935, 2005.

KHATTAK, A. B.; ZEB, A.; BIBI, N.; KHALIL, S. A.; KHATTAK, M. S. Influence of germination techniques on phytic acid and polyphenols content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. **Food Chemistry**, Oxford, v.104, n.1, p. 1074–1079, 2007.

KHATTAK, A.B.; ZEB, A.; BIBI, N. Impact of germination time and type of illumination on carotenoid content, protein solubility and in vitro protein digestibility of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. **Food Chemistry**, Oxford, v.109, n.1, p. 797-801, 2008.

KIM, Y.H.; LEE, Y.Y.; KIM, Y.H, CHOL, M.S.; JEONG, K.H.; LEE, S.K.; SEO, M.J.; YUN, H.T.; LEE, C.K.; KIM, W.H.; LEE, S.C.; PARK, S.K.; PARK, H.M. Antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation in germinating seeds of transgenic soybean expressing os HGGT. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.59, n.2, p. 584-591, 2011.

KITZBERGER, C. S. G.; SMÂNIA, A. J.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 80, n.2, p. 631-638, 2007.

KRAUTLER, B. Chlorophyll breakdown and chlorophyll catabolites. **The Porphyrin Handbook**, New York, v.13, n.1, p.183-209, 2003.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, G.A.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v.25, n.4, p.726-732, 2005.

JURD,L.; GEISSMAN, T.A. Absorption spectraof metal complexes of flavonoids compounds. **Journal of Organic Chemistry**, Baltimore, v.21, n. 12, p. 1395-1401, Jun. 1956.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomenbranes. **Methods in Enzymology**, Orlando, v.148, n.2, p.346-382, 1987.

LIN, P.Y.; LAI, H.S. Bioactive compounds in legumes and their germinated products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.54, n.11, p. 3807-3814, 2006.

LÓPEZ-AMORÓS, M. L., HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I. Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.19, n.4, p.277–283, 2006.

MACHADO, C.M.; FERRUZZI, M.G.; NIELSEN, S.S. Impact of the hard-to-cook phenomenon on phenolic antioxidants in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.56, n.9, p.3102-3110, 2008.

MADHUJITH, T., NACZK, M.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Lipids**, Trumbull, v.11, n.3, p.220–233, 2004.

MARTINEZ, A.P.C.; MARTINEZ, P.C.C.; SOUZA, M.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Alterações químicas em grãos de soja com a germinação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.1, p.23-30, jan./mar., 2011.

MARTINEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLES-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUNÓN, M.J. Los flavonóides: propiedades y acciones antioxidants. **Nutrição Hospitalar**, São Paulo, v.17, n.6, p. 271-8, 2002.

MOON, J. W., "Theoretical physiological basis for radiation hormesis, In: CONFERENCE OF RADIATION HORMESIS, 1985, Oakland, **Proceedings**....New York: Marcel Dekker, 1985.p. 14 – 16.

MWIKYA, S.M.; CAMP, J.V.; RODRIGUEZ, R.; HUYGHEBAERT, A. Effects of sprouting on nutrient and antinutrient composition of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* var. Rose coco). **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v.212, n.2, p.188–191, 2001.

OIGIANGBE, N.O.; ONIGBINDE, A.O. The association between some physico-chemical characteristics and susceptibility of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walk) to *Callosobruchus maculatus* (F.). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v.32, n.1, p. 7-11, 1996.

OUFEDJIKH, H.; MAHROUZ, M.; AMIOT, M. J.; LACROIX, M. Effect of gamma-irradiation on phenolic compounds and phenylalanine ammonia- lyase activity during storage in relation to peel injury from peel of *Citrus clementina* hort. Ex. tanaka. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Wahington, v.48, n.2, p.559–565, 2000.

PADMAJA, K.; PRASAD, D.D.K.; PRASAD, A.K.R. Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate. **Photosynthetica**, Dordrecht, v.24, n.3, p. 399-405, 1990.

PARAMJYOTHI, S.; ANJALI, B. Effect of soaking seed on polyphenols of chickpea. **International Chickpea and Pigeonpea Newsletter**, Patancheru, v.12, n.1, p.24–25, 2005.

PASKÓ, P.; BARTÓN, H.; ZAGRODZKI, P.; GORINSTEIN, S.; FOLTA, M.; ZACHWIEJA, Z. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. **Food Chemistry**, Oxford, v.115, n.3, p.994-998, 2009.

PENDHARKAR, M. B.; NAIR, P. M. A comparative study of phenylpropanoid metabolism in gamma irradiated and unirradiated potato tubers. **Potato Research**., New York, v.38, n.2, p.187–198, 1995.

PINN, A.B.O.; COLLI, C.; MANCINI-FILHO, J. 1993. Beans *Phaseolus vulgaris* irradiation. I. Iron bioavailability. In: Bioavailability'93. Nutritional, **Chemical and Food Processing Implications of Nutrient Availability Karlsruhe**, Karlsruhe: BFE, v. 2, 1993. p. 195-199.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. **LWT: Journal of Food Composition and Analysis**, Amsterdam, v.40, n.1, p.1-11, 2007.

PRODANOV, M., SIERRA, I., VIDAL-VALVERDE, C. Effect of the germination on the thiamine, riboflavin and niacin contents in legumes. **Food Research and Technology**, Heidelberg, v.205, n.1, p.48–52, 1998.

PUNTARULO, S., SANCHES, R. A., BOVERIS, A. "Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination", **Plant Physiology**, Rockville, v. 86, n.2, p. 626 – 630, 1988.

RANDHIR, R., LIN Y.; HETTY, K. Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. **Process Biochemistry**, Oxford, v.39, n.5, p.637–646, 2004.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABST radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology**, New York, 26, n.9/10, p.1231-1237, 1999.

ROCA, M.; JAMES, C.; PRUZINSKÁ, A.; HORTENSTEINER, S.; THOMAS, H.; OUGHAM, H. Analysis of the chlorophyll catabolism pathway in leaves of an introgression senescence mutant of *Lolium Temulentum*. **Phytochemistry**, Kidlington, v.65, n.9, p. 1231-1238, 2004.

RODRIGUES-AMAYA, D.B.; KIMURA, M. **HaverstPlus handbook for carotenoid analysis**. Washington: International Food Policy Research Institute, 2004. 58p.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: -determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: Comunicado Técnico on line, 2007. 133p.

SANDBERG, A.S. Bioavailability of minerals in legumes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.88. n. 3, p.S281-S285, 2002.

SCHOEFS, B. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. **Trend in Food Science e Technology**, London, v. 13, n.11, p. 361-371, 2002.

SIES, W., STAHL, W., SUNDQUIST, A.R. Antioxidant functions of vitamins; vitamin E and C, β -carotene, and other carotenoids, In: Savberlich, H.E., Machlin, L.Y. (Eds.), Beyond Deficiency, New Views on the Function and Health Effects of Vitamins. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, p. 7–20, 1992.

SIMÕES, C.; FERREIRA, C.G. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2ªed. , Florianópolis: UFRGS /UFSC, 2000. 225p.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc software**: usage and reference (version 6). 2 ed. Cary, 1996. 1CD-ROM.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 693p.

TAKAMYIA, K.; TSUCHIYA, T.; OHTA, H. Degradation pathway(s) of chlrophyll: whas has gene cloning revealed? **Trends in Plant Science**, Kidlington, v.5, n.10, p. 426-431, 2000.

TIAN, B.; XIE, B.; SHI, J.; WU, J.; CAI, Y.; XU, T.; XUE, S.; DENG, Q. Physicochemical changes of oat seeds during germination. **Food Chemistry**, Oxford, v.119, n.3, p.1195–1200, 2010.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; GREINER, R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.57, n.3/6, P.289-293, 2000.

VON ELBE, J.H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Wisconsin – Madison, 2000. p. 782-799.

XU, H. Chlorophyll b can serve as the major pigment in functional photosystem II complexos of cyanobacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, New York, v. 98, n.1, P.135-139, 2001.

ZAKA, R., CHENALI, C., MISSET, M. T., “Effects of low doses of short-term gamma irradiation on growth and development through two generations of *Pisum sativum*”, **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 320, n.2/3, p. 121 – 129, 2004.

ZIELINSKI, H. Contribution of low molecular weight antioxidants to the antioxidant screen of germinated soybean seeds. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.58, n.3, p.1–20, 2003.

WAJE, C.K.; JUN, S.Y.; LEE, Y.K.; MOON, K.D.; CHOI, Y.H.; KWON, J.H. Seed viability and functional properties of broccoli sprouts during germination and postharvest storage as affected by irradiation of seeds. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 74, n.5, p. 370-374, 2009.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n.8. p. 3576- 3580, 2000.

YANG, F., BASU, T. K.; OORAIKUL, B. Studies on germination and antioxidant contents of wheat grain. **International Journal of Food Science and Nutrition**, Basingstoke, v.52, n.4, p.319–330, 2001.

6 AVALIAÇÃO NOS TEORES E DISPONIBILIDADE DE MINERAIS E NO CONTEÚDO DE TIAMINA, RIBOFLAVINA E PIRIDOXINA EM GRÃOS DE FEIJÕES IRRADIADOS EM BAIXAS DOSES E GERMINADOS

Resumo

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é uma importante fonte de proteínas, amido, vitaminas, minerais e fibras na dieta brasileira. A biodisponibilidade mineral, entretanto, pode ser afetada pelo processo de germinação e pela presença de fatores antinutricionais. Assim, considerando a importância do consumo, além do valor nutritivo e cultural dos feijões, convém elucidar o teor de vitamina do complexo B e o teor de minerais bem como a disponibilidade do cálcio, magnésio, zinco e ferro em feijões germinados no tempo de 72 e 96 horas e irradiados nas doses 0,05; 0,1 e 0,15 kGy. O feijão utilizado foi da variedade carioca, cultivar pérola, adquirido por produtores de Goiás. Os grãos foram irradiados com Cobalto⁶⁰, nas doses 0, 0,05, 0,1 e 0,15 kGy. Após o tratamento de irradiação ocorreu a germinação que foi realizada em temperatura e luminosidade ambiente durante 72 e 96 horas. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas. O delineamento do estudo incluiu 12 tratamentos (4 doses e 3 tempos). Foram realizadas análises de minerais, vitaminas B₁, B₂ e B₆ e disponibilidade *in vitro* de ferro, cálcio, zinco e magnésio. Observou-se que as diferenças encontradas na composição mineral não tiveram influência do tratamento de irradiação, e sim do processo de germinação. Em relação à disponibilidade *in vitro* de ferro, cálcio, magnésio e zinco, notou-se que apesar da germinação, irradiação e o grão controle não terem apresentado diferença estatística significativa, as amostras germinadas apresentaram aumento em seus valores em relação a disponibilidade *in vitro* de ferro, cálcio e zinco. Já a disponibilidade *in vitro* de magnésio, apresentou redução com o processo germinativo. Quanto à vitamina B₁, B₂ e B₆, relatou-se que a germinação aumentou os teores de riboflavina e vitamina B₆, porém diminui o teor de tiamina. O processo de irradiação não comprometeu o valor nutricional das vitaminas do feijão. Assim, conclui-se que os feijões germinados contribuem com nutrientes para a dieta devendo ser estimulado o aumento do seu consumo na dieta brasileira.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; Radiação gamma; Vitaminas; Minerais; Disponibilidade

Abstract

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is an important source of protein, starch, vitamins, minerals and fiber in the Brazilian diet. The mineral bioavailability, however, can be affected by the germination process and the presence of anti-nutritional factors. Thus, considering its dietary importance, besides the cultural and nutritional values of beans, it is highlighted the content of vitamin B and mineral content as well as the availability of calcium, magnesium, zinc and iron in beans germinated at 72 and 96 hours and irradiated at doses 0.05, 0.1 and 0.15 kGy. The bean variety used in this study was "carioca", cultivar "pérola", obtained from producers of Goiás state in Brazil.

Beans were irradiated with Cobalt⁶⁰ at doses 0, 0.05, 0.1 and 0.15 kGy. After the irradiation treatment, germination occurred at room temperature and light for 72 and 96 hours. Then, the samples were frozen and lyophilized. The study design included 12 treatments (four doses and 3 replicates). Analyses were performed on minerals, vitamins B₁, B₂ and B₆ and *in vitro* availability of iron, calcium, zinc and magnesium. It was observed that the differences in mineral composition had no influence of the irradiation treatment, but it affected the germination process. Regarding the *in vitro* availability of iron, calcium, magnesium and zinc, it was noted that although the germination, irradiation and the control bean did not show statistical differences in the germinated samples, they showed an increase in their values regarding the *in vitro* availability of iron, calcium and zinc. The *in vitro* availability of magnesium decreased the germination process. For vitamins B₁, B₂ and B₆, it was reported that the germination process increased levels of riboflavin and vitamin B₆, but decreased the amounts of thiamin. The irradiation process did not compromise the nutritional value of vitamins in the beans. Thus, it is concluded that the germinated beans contribute with nutrients to diets and their consumption should be encouraged in the Brazilian diet.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; Radiation gamma; Vitamins; Minerals; Availability

6.1 Introdução

As leguminosas desempenham papel importante na dieta tradicional de muitos países. O aumento no consumo desses alimentos tem sido associado ao fato de terem baixo conteúdo de gordura e serem excelente fonte de proteínas, fibras, vitaminas do complexo B e variedade de micronutrientes e fitoquímicos (MESSINA, 1999). No entanto, o valor biológico desses componentes pode ser limitado pela presença de fatores antinutricionais. Algumas das substâncias consideradas antinutricionais, podem contribuir tanto com a diminuição do valor nutricional das suas proteínas como com a biodisponibilidade dos nutrientes (RAMIREZ-CARDENAS et al., 2008). Entretanto esses constituintes podem ser eliminados através do processamento (imersão, cozinhar, autoclave, germinação e fermentação) antes do consumo.

Os estudos sobre a biodisponibilidade de minerais em leguminosas foram conduzidos para entender a utilização digestiva e metabólica dos principais elementos de importância nutricional presentes nestas fontes alimentares, como: ferro (LYNCH et al., 1984; WELCH et al., 2000; SAUQUILLO et al., 2003), cálcio (WEAVER et al., 1993; URBANO et al., 1999; NESTARES et al., 2003; PORRES et al., 2003), zinco (SAUQUILLO et al., 2003), fósforo (FERNANDEZ et al., 1997; NESTARES et al., 1999;

DUHAN et al., 2002; PORRES et al., 2004) e magnésio (NESTARES et al., 1997; NESTARES et al., 1999; NESTARES et al., 2003).

Além dos fatores antinutricionais, Van Dokkum (2003) cita alguns fatores dietéticos que interferem com a biodisponibilidade mineral, os quais são denominados facilitadores ou inibidores de absorção, como: vitamina C (facilitador); fibra alimentar (inibidor); polifenóis (inibidor); oxalato (inibidor); proteína (facilitador ou inibidor); frutose, ácido cítrico e lactose (facilitadores). Também menciona as interações minerais e a influência do processamento de alimentos (tratamento térmico, moagem, fermentação, germinação e ação enzimática) que podem atuar tanto como facilitadores como redutores da disponibilidade mineral.

A germinação pode ser definida como o processo pelo qual, sob condições favoráveis, o eixo embrionário retorna ao seu desenvolvimento, que tinha sido interrompido por ocasião da maturidade fisiológica. A absorção de água na semente é o primeiro evento da germinação e promove reidratação dos tecidos, o aumento da respiração e de outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e de nutrientes necessários para a retomada do crescimento da parte do eixo embrionário (NETO, 2004).

Pode ser considerado que a germinação é a fase mais rica em nutrientes no desenvolvimento vegetal, os quais são facilmente digeridos e assimilados e correspondem em suas características fisiológicas ao processo pré-digestivo pelo qual as proteínas são decompostas em aminoácidos, os carboidratos complexos em açúcares simples e as gorduras em ácidos graxos (COSTA, 2006).

A germinação provoca importantes alterações nas características bioquímicas, nutricionais e sensoriais do grão. Essas mudanças dependem do tipo de leguminosa e as condições de germinação, como o tempo, temperatura, e a presença ou ausência de luz durante o processo germinativo. Sabe-se que a germinação aumenta os níveis de aminoácidos, reduz a quantidade de fatores antinutricionais, aumenta o teor de algumas vitaminas e minerais e principalmente melhora a digestibilidade protéica do grão e a disponibilidade dos minerais (BARRUETO-GONZALES, 2007; GHAVIDEL et al., 2007).

Além do mais, a germinação apresenta importante efeito na composição das vitaminas hidrossolúveis das leguminosas, apresentando níveis diferentes em algumas vitaminas, tais como, ácido ascórbico, tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B₆, ácido pantotênico e ácido fólico em relação aos grãos não germinados (ZIELINSKI et al., 2006).

Assim, considerando a importância do consumo, além do valor nutritivo e cultural dos feijões, é interessante elucidar o teor de vitamina do complexo B e o teor de minerais bem como a disponibilidade do cálcio, magnésio, zinco e ferro em feijões germinados no tempo de 72 e 96 horas e irradiados nas doses 0,05; 0,1 e 0,15 kGy.

6.2 Material e Método

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil.

6.2.1 Matéria-Prima

A matéria-prima utilizada para a realização do experimento foi o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) da variedade carioca, cultivar pérola, adquirido por produtores da região de Rio Verde, interior de Goiás-GO. Os grãos foram irradiados no CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura), utilizando raios gama, provenientes de uma fonte de Cobalto⁶⁰, do tipo Gammacell, nas doses de 0, 0,05, 0,1 e 0,15 kGy sob taxa de dose de 0,456 kGy/hora e posteriormente foram germinados. A quantidade da dose absorvida durante a irradiação foi medida através de dosímetro polimetacrilato de metila (PMMA – Red perspex). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, e a dose de radiação absorvida foi relatada quantitativamente no intervalo de 530 nm. Para analisar os grãos somente irradiados, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* com a finalidade de obtenção da farinha. Essa farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

6.2.2 Germinação

Para a germinação os grãos de feijão sofreram imersão em 300mL de hipoclorito de sódio a 1% (v/v) por 20 min. Lavagem com água deionizada, hidratação

dos grãos em 300mL de água deionizada por 8h à temperatura ambiente e ao final foi retirado o excesso de água. Após a hidratação os grãos foram mantidos no laboratório com temperatura e luminosidade ambiente. A germinação ocorreu durante os meses de novembro de 2009 até maio de 2010 com a temperatura variando na faixa entre 30°C a 18,5°C (temperatura média de 24,2°C) e a umidade relativa do ar média 77,3%. A cada 8h as sementes eram umedecidas e agitadas levemente. As amostras foram recolhidas para análises após 72h e 96h de germinação. As amostras foram congeladas a -80° C durante um dia e posteriormente foram liofilizadas e trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* para a realização das análises. Após ser utilizada, a farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

6.2.3 Tratamentos

Após os processos de irradiação e germinação, foram realizados os seguintes tratamentos:

T1- Grão controle	T5- Grão germinado 48 horas	T9- Grão germinado 96 horas
T2- Grão irradiado 0,05kGy	T6- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,05kGy	T10- Gão germinado 96 horas e irradiado 0,05kGy
T3- Grão irradiado 0,1kGy	T7- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,1kGy	T11- Grão germinado 96 horas e irradiado 0,1kGY
T4- Grão irradiado 0,15kGy	T8- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,15kGy	T12- Grão germinado 96 horas e irradiado 0,15kGY

Em seguida, os grãos de feijões que foram germinados foram congelados para posterior liofilização. Após esta etapa, todas as amostras foram moídas em moinho até ficarem farelo.

6.2.4 Minerais

Os minerais foram determinados pelo método descrito por Sarruge & Haag (1974), sendo utilizada a digestão com ácido nítrico a 50°C por 10 a 15 minutos, a 100°C até digerir todo o material e atingir a temperatura de 150°C. Após resfriamento e diluição do material com água desmineralizada procedu-se à leitura em espectrofotômetro de absorção atômica modelo Perkim-Elmer 360. Utilizaram-se os seguintes comprimentos de ondas: 422,7 nm para cálcio; 324 nm para cobre; 248,3 nm para o ferro; 285,2 nm para magnésio; 279,5 nm para manganês e 213,9 nm para zinco. O potássio e o fósforo foram determinados em espectrofotômetro colorimétrico com o comprimento de onda de 420 nm.

6.2.5 Disponibilidade de ferro, cálcio, zinco e magnésio

A análise da diálise de ferro foi realizada segundo o método proposto por Whittaker *et al.* (1989), o qual foi realizada a digestão gástrica *in vitro* seguida de digestão intestinal *in vitro* com utilização de membrana de diálise e determinação de minerais por espectrometria de absorção atômica.

As amostras foram homogeneizadas com água e a acidez acertada para pH 2,0. Foi adicionado 3,0g de solução de pepsina e o conteúdo completado, para 100g com água deionizada.

Os Beckers foram levados ao banho-maria com agitação à 37°C por 2h. Foi realizada medida de acidez titulável em alíquota de 20,0g do digerido, subindo até pH 7,5 após adição de 5,0g da solução enzimática de bile-pancreatina, sendo que foi utilizado solução de NaOH.

Foram preparadas as membranas de diálise contendo 25 mL de água deionizada e a quantidade de $\text{NaH}(\text{CO}_3)$ equivalentes ao anotado na titulação ácida. Alíquotas de 20g do digerido foram colocadas em frascos Erlenmeyer, e introduzidas as respectivas membranas contendo $\text{NaH}(\text{CO}_3)$, foram adicionadas 5g das soluções bile-pancreatina, e os frascos foram levados ao banho-maria com agitação à 37°C para simulação da digestão intestinal. O conteúdo interno das membranas foram recolhidos, e o volume acertado para 25 mL e foi realizada leitura de Ca, Fe, Mg e Zn por espectrometria de absorção atômica. Os resultados foram expressos em porcentagem.

6.2.6 Vitamina B₁, B₂ E B₆

A extração das vitaminas B₁, B₂ e B₆ foi realizada em uma mesma etapa, conforme descrito por Presoto & Almeida-Muradian (2005), porém com algumas modificações. As amostras que sofreram o processo de germinação foram primeiramente liofilizadas e o conteúdo de matéria seca foi determinado gravimetricamente por secagem a 105°C. Em seguida, dissolveram-se 5 gramas de amostra em 50 mL de ácido clorídrico 0,1N, através de autoclave (30 min/121°C). Após a hidrólise ácida o pH foi ajustado em 4,6 com acetato de sódio 2,5M. Posteriormente, foi adicionado 1 mL da solução diástase (20g da enzima em 40 ml de água milliq), 1 mL da solução de β -glucosidase (2,9 mg da enzima em 38 mL de água milliq) e 1mL da solução de fosfatase (6,1 mg da enzima em 36 mL de água milliq) , ao extrato e levou ao banho-maria durante 18 horas a 42°C. Logo após, o extrato foi filtrado através de papel filtro e o filtrado foi transferido para balões de 50 mL o qual foi completado o volume com água milliq quando necessário.

O método de análise cromatográfico da vitamina B₁ foi baseado no procedimento de Presoto & Almeida-Muradian (2005). As condições cromatográficas utilizadas foram: fase móvel: tampão fosfato pH 7,2 e dimetilformamida (85:15); fluxo: 1,2mL.min⁻¹; volume de injeção: 20 μ l; coluna: C₁₈ de fase reversa RP-18 esférica 5 μ m/250 x 4,6 mm com pré-coluna 5 μ m/10x4,6 mm Lichrospher; detecção por fluorescência: Ex 368 nm; Em 440 nm.

Para preparo da solução padrão de vitamina B₁, uma massa de 50,0 mg de mononitrato de tiamina foi transferida com água milliq e 5 mL de ácido clorídrico 1 M para balão volumétrico âmbar de 100 mL e completou-se o volume com água milique. A partir da solução acima, pipetou-se 10 mL e transferiu para um balão âmbar de 100 mL e completou o volume com água milliq (“Solução Padrão”).

Para a reação de conversão da tiamina em tiocromo, foram adicionados aproximadamente 2 mL da solução padrão e 3 mL da solução de ferricianeto de potássio, em um balão volumétrico âmbar de 10 mL. O volume total foi agitado em agitador de tubos e colocado em repouso por 2 min para que ocorresse a reação. Após este tempo, foram adicionados 450 μ L de ácido ortofosfórico 85%. A solução foi então resfriada e o volume final foi completado com água deionizada, obtendo uma solução final na concentração de 10 μ g de mononitrato de tiamina /mL. A curva padrão utilizada

apresentava as seguintes concentrações, em ng/mL: 25, 50, 100, 200 e 500. Estas soluções foram injetadas no cromatógrafo imediatamente após o preparo.

O método de análise da vitamina B₂ foi baseado no procedimento descrito por Presoto & Almeida-Muradian (2005) com modificação na composição da fase móvel. As condições cromatográficas utilizadas foram: fase móvel: tampão fosfato pH 7,2 e dimetilformamida (82:18); fluxo: 1,5 mL.min⁻¹; volume de injeção: 20 µL; coluna: C18 de fase reversa RP-18 esférica 5 µm/250x 4,6 mm com pré-coluna 5 µm / 10x4,6 mm Lichrospher; detecção por fluorescência: Ex 450 nm; Em 530 nm.

Para preparo da solução padrão de vitamina B₂, foi pesada uma massa de 25,0 mg de riboflavina, levada à fervura branda (85 a 90°C), sob agitação, com 70 mL de água milique e 0,6 mL de ácido acético glacial grau HPLC até total dissolução, transferida quantitativamente para um balão volumétrico âmbar de 100 mL com água milique, obtendo uma solução de 250 µL.mL⁻¹. A fim de se obter uma solução final de concentração 5 µg de riboflavina.mL⁻¹, pipetou 2 mL da solução 250 µL.mL⁻¹ em um balão volumétrico âmbar de 100 mL e completou com água milliq. A solução padrão concentrada foi diluída a fim de se obter uma curva padrão com as seguintes concentrações, em ng.mL⁻¹: 25, 50, 125, 250 e 500.

O procedimento de análise da vitamina B₆ foi baseado no descrito por Presoto & Almeida-Muradian (2005). As condições cromatográficas utilizadas foram: fase móvel: tampão fosfato pH 2,5 e metanol (98:2); fluxo da bomba: 0,6 mL.min⁻¹; volume de injeção: 20µL, coluna: C18 de fase reversa Superspher 100 RP-18 *endcapped* 5 µm/ 250 x 4,6 mm com précoluna 5 µm/10x4,6 mm Lichrospher 100 RP-18; detecção por fluorescência: Ex 296 nm; Em 390 nm.

Para preparo da solução padrão de vitamina B₆, as formas cloridrato de piridoxina, cloridrato de piridoxal e dicloridrato de piridoxamina (30 mg cada) foram diluídas separadamente em água milique e depois foi completado em um balão volumétrico âmbar de 100 mL, obtendo uma solução de 300µg.mL⁻¹. Para obter uma solução final de concentração 3 µg.mL⁻¹, foi pipetado 1 mL de cada solução (piridoxamina, piridoxal e piridoxina) e completado em um balão volumétrico de 100 mL com água milliq. A curva padrão utilizada apresentava as seguintes concentrações, em

ng.mL⁻¹, contendo as três formas da vitamina B₆, uma vez que os três vitâmeros da vitamina B₆ foram analisados simultaneamente: 37,5; 75; 150; 375 e 750.

6.2.7 Análise Estatística

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento para todas as análises químicas, sendo os resultados expressos em média±desvio-padrão. Foi realizada análise de variância pelo teste F e a comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos segundo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) através do programa *Software Statistical Analysis System* (SAS). Fez-se também a correlação de Pearson, entre todas as variáveis estudadas com o processo de germinação e irradiação. A construção dos gráficos e tabelas foi feita pelo programa Excel (Microsoft).

6.3 Resultado e Discussão

Nas tabelas 16 e 17 estão apresentados os valores médios de Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, P, K, Na, Mn, S quantificados após germinação e irradiação dos grãos de feijão.

Tabela 16 - Valores médios (base seca, média±desvio padrão) de micronutrientes para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Cobre (mg kg ⁻¹)	Ferro (mg kg ⁻¹)	Manganês (mg kg ⁻¹)	Zinco (mg kg ⁻¹)
0	0	19,36 ± 2,84 ^{b,c,d}	95,64 ± 6,90 ^{b,c,d}	12,12 ± 0,64 ^{a,b}	33,18 ± 1,76 ^{b,c}
0	72	21,25 ± 1,09 ^{b,c}	127,69 ± 7,63 ^{a,b}	12,88 ± 0,62 ^{a,b}	31,62 ± 0,92 ^{b,c}
0	96	19,16 ± 1,50 ^{b,c,d}	107,93 ± 12,24 ^{b,c,d}	12,29 ± 0,12 ^{a,b}	31,63 ± 1,86 ^{b,c}
0,05	0	19,25 ± 1,14 ^{b,c,d}	89,87 ± 1,69 ^{c,d}	12,64 ± 0,60 ^{a,b}	33,45 ± 2,28 ^{b,c}
0,05	72	22,28 ± 3,28 ^b	91,53 ± 9,25 ^{c,d}	13,58 ± 0,26 ^{a,b}	42,13 ± 2,82 ^a
0,05	96	18,32 ± 6,90 ^{b,c,d}	106,82 ± 33,80 ^{b,c,d}	9,81 ± 4,82 ^b	27,04 ± 7,43 ^c
0,1	0	14,63 ± 0,33 ^{c,d}	81,69 ± 4,49 ^d	10,77 ± 0,35 ^b	31,83 ± 0,49 ^{b,c}
0,1	72	33,09 ± 1,09 ^a	154,82 ± 10,81 ^a	15,73 ± 0,84 ^a	32,29 ± 0,48 ^{b,c}
0,1	96	13,5 ± 1,16 ^d	78,98 ± 1,22 ^d	13,67 ± 0,12 ^{a,b}	35,12 ± 1,65 ^{a,b}
0,15	0	15,02 ± 0,86 ^{b,c,d}	119,04 ± 4,77 ^{b,c}	11,32 ± 0,22 ^b	32,64 ± 0,65 ^{b,c}
0,15	72	12,84 ± 2,06 ^d	75,66 ± 1,78 ^d	13,6 ± 0,51 ^{a,b}	34,17 ± 1,63 ^{b,c}
0,15	96	12,33 ± 1,41 ^d	75,08 ± 1,73 ^d	13,94 ± 0,30 ^{a,b}	35,29 ± 0,54 ^{a,b}

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa (p≤0,05), n=3.

Tabela 17 - Valores médios (base seca, média±desvio padrão) de macronutrientes para os feijões que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o feijão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Fósforo (g kg ⁻¹)	Potássio (g kg ⁻¹)	Cálcio (g kg ⁻¹)	Magnésio (g kg ⁻¹)	Enxofre (g kg ⁻¹)	Sódio(g kg ⁻¹)
0	0	4,51 ± 0,08 ^{b,c}	1,14 ± 0,05 ^{a,b,c}	4,51 ± 0,08 ^{b,c}	1,52 ± 0,22 ^a	1,88 ± 0,06 ^a	3,32 ± 0,55 ^a
0	72	4,57 ± 0,13 ^{b,c}	1,05 ± 0,09 ^{a,b,c}	4,57 ± 0,13 ^{b,c}	1,44 ± 0,06 ^a	1,85 ± 0,11 ^a	4,73 ± 0,78 ^a
0	96	4,46 ± 0,20 ^{b,c}	1,13 ± 0,08 ^{a,b,c}	4,46 ± 0,20 ^{b,c}	1,44 ± 0,12 ^a	1,84 ± 0,02 ^a	5,39 ± 0,47 ^a
0,05	0	4,83 ± 0,12 ^{a,b,c}	1,16 ± 0,03 ^{a,b,c}	4,83 ± 0,12 ^{a,b,c}	1,34 ± 0,06 ^a	1,8 ± 0,28 ^a	5,44 ± 1,11 ^a
0,05	72	5,08 ± 0,07 ^a	1,32 ± 0,17 ^a	5,11 ± 0,03 ^a	1,76 ± 0,21 ^a	2,21 ± 0,03 ^a	3,96 ± 0,05 ^a
0,05	96	4,69 ± 0,06 ^{a,b,c}	0,95 ± 0,24 ^c	4,69 ± 0,05 ^{a,b,c}	1,24 ± 0,37 ^a	1,44 ± 0,70 ^a	3,62 ± 1,08 ^a
0,1	0	4,41 ± 0,23 ^c	1,26 ± 0,06 ^{a,b}	4,41 ± 0,23 ^c	1,41 ± 0,11 ^a	1,2 ± 0,49 ^a	4,98 ± 0,96 ^a
0,1	72	4,78 ± 0,05 ^{a,b,c}	1 ± 0,03 ^{b,c}	4,78 ± 0,05 ^{a,b,c}	1,76 ± 0,37 ^a	2,07 ± 0,05 ^a	3,8 ± 0,61 ^a
0,1	96	4,91 ± 0,14 ^{a,b}	1,25 ± 0,05 ^{a,b,c}	4,91 ± 0,14 ^{a,b}	1,7 ± 0,30 ^a	1,69 ± 0,57 ^a	4,34 ± 1,11 ^a
0,15	0	4,52 ± 0,08 ^{b,c}	1,32 ± 0,03 ^a	4,57 ± 0,08 ^{b,c}	1,27 ± 0,17 ^a	1,56 ± 0,33 ^a	3,7 ± 0,98 ^a
0,15	72	4,68 ± 0,11 ^{a,b,c}	1,04 ± 0,09 ^{a,b,c}	4,68 ± 0,11 ^{a,b,c}	1,46 ± 0,10 ^a	1,69 ± 0,57 ^a	3,72 ± 0,70 ^a
0,15	96	4,92 ± 0,35 ^{a,b}	1,32 ± 0,06 ^a	4,92 ± 0,35 ^{a,b}	1,57 ± 0,18 ^a	2,09 ± 0,19 ^a	3,74 ± 0,96 ^a

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa (p≤0,05), n=3.

As análises de variância dos resultados obtidos na determinação do teor de fósforo apesar de apresentarem pequenas reduções nos valores entre as amostras analisadas apresentaram diferença estatística entre alguns tratamentos (Tabela 17). As amostras que foram germinadas no tempo de 72 horas e irradiada na dose 0,05 kGy apresentou diferença estatística entre as amostras controle, germinada à 72 e 96 horas e os feijões que foram irradiados nas doses 0,1 kGy. Quanto às outras amostras não apresentaram diferenças significativas entre elas. Porém, os valores das amostras que sofreram o processo de germinação (72 e 96 horas), apresentaram-se maiores em relação a controle e as irradiadas nas doses 0,05; 0,1 e 0,15 kGy. O teor de fósforo entre as amostras variou entre $4,83 \text{ g kg}^{-1}$ (amostra irradiada na dose 0,05 kGy) a $4,41 \text{ g kg}^{-1}$ (amostra irradiada a 0,1 kGy) não apresentando diferença significativa entre esses dois valores. Quanto ao coeficiente de correlação entre o teor de fósforo e os dois processos realizados, tanto a germinação como a irradiação apresentaram um coeficiente baixo e negativo (-0,18 e -0,27, respectivamente). Os valores encontrados para os brotos de feijão se aproximam dos encontrados no estudo de Machado et al. (2009), o qual avaliou três espécies de Fabaceae baseado nas características químicas, apresentou aumento no teor de fósforo com o processo de germinação ($443,33 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ para mungo-verde e $383,33 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ para mungo-preto após 72 horas de germinação), sendo as espécies mungo-preto e guandu iguais ($p > 0,05$) até o terceiro dia de germinação e inferiores ao mungo-verde.

Abdullah & Baldwin (1984) estudando o conteúdo de minerais e vitaminas em grãos e brotos de soja e mungo germinado por três dias verificaram que os níveis de fósforo em grãos de soja foram em média $710 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ e no broto de soja $772 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. O mungo apresentou $443 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ no grãos e $515 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ no broto.

Porém a literatura apresenta contradições nos resultados do teor de fósforo total em soja germinada por 72 horas. Khader (1983) e Bau & Debry (1979) encontraram um decréscimo de 14,9 a 16% no teor de fósforo total. Já, Ahn & Yang (1985) observaram um aumento de 7,2% no teor desta variável, o que está de acordo com os resultados obtidos neste trabalho. As diferenças encontradas nos valores de fósforo nos estudos, provavelmente se deram devido tanto à composição do solo em

que cresceram as culturas, como pelas diferenças nas cultivares utilizadas em cada trabalho.

Considerando o teor de fósforo total e de ácido fítico, pode-se fazer uma relação entre os teores de fósforo e ácido fítico durante a germinação das cultivares de feijão. Nas amostras controle, tem-se que 72,43% do P total, encontram-se sob a forma de ácido fítico. Ao término de 72 e 96 horas de germinação, estes valores diminuíram para 69,95% e 71,22% de P fítico, respectivamente. Porém, quando as amostras sofreram os processos de germinação e irradiação combinados, não apresentaram diminuição na porcentagem de fósforo fítico, mas em relação às amostras somente irradiadas apresentou essa diminuição. Levando-se em conta que, durante a germinação, os teores de P total aumentaram, e houve diminuição no teor de ácido fítico, observou-se aumento na disponibilidade de fósforo, reduzindo-se assim, os efeitos indesejáveis deste constituinte.

Entre as amostras estudadas, observou que a maior quantidade de potássio foi nos feijões irradiado na dose 0,15 kGy, os grãos germinados no tempo de 72 horas e irradiado a 0,05 kGy e as amostras germinadas a 96 horas e irradiada na dose 0,15 kGy, enquanto que, o menor teor foi na amostra germinada no tempo de 96 horas e irradiada a 0,05kGy. Em relação ao processo germinativo, os valores obtidos não apresentaram diferença estatística significativa entre a amostra controle os feijões irradiados nas doses 0,05, 0,1 e 0,15kGy, mostrando, com isso um coeficiente de correlação baixo e negativo (-0,37). Já a irradiação, apesar de não ter apresentado diferença significativa entre as doses, o coeficiente de correlação mostrou-se positiva e alta (0,97).

Segundo DRI (Dietary Reference Intake, 2004), a recomendação de ingestão diária de potássio para um adulto é de 4700mg. Assim, os resultados mostram que 100 gramas de todas as amostras germinadas em 72 e 96 horas, são capazes de fornecer 105 mg e 113 mg, respectivamente, das necessidades diárias desse mineral.

Lee & Kurananithy (1990) observaram aumento no teor de potássio após o processo de germinação, porém esta elevação está relacionada com a utilização de água potável nas etapas de hidratação e lavagem dos grãos, o qual apresenta concentrações elevadas desses minerais. Assim, como no presente estudo não foi

utilizado água potável para a embebição dos grãos, bem como na lavagem das amostras, o teor deste mineral não apresentou diferença estatística entre os feijões analisados quando comparado ao estudo citado acima.

Estudos conduzidos com *Vigna radiata*, mostraram que os teores de potássio diminuíram do grão para o primeiro dia de germinação ($11,825\mu\text{g g}^{-1}$ a $11,370\mu\text{g g}^{-1}$) e, em seguida, tiveram seus valores aumentados no terceiro dia ($11,960\mu\text{g g}^{-1}$ no terceiro dia) e quinto dia ($13,305\mu\text{g g}^{-1}$ no quinto dia) (LEE & KURANANITHY, 1990).

Devido à presença do ácido fítico nos grãos, em geral na forma de fitato como sais de potássio-magnésio, a disponibilidade de minerais é reduzida, porém com a hidrólise do fitato no processo de germinação esses minerais aumentam, ou melhor dizendo, esses minerais estariam mais prontamente disponíveis. No caso do trabalho citado no parágrafo anterior e no presente estudo, a determinação de minerais não foi por método de disponibilidade e sim por análise de minerais medindo o teor total, tanto quelados como prontamente disponíveis, esses minerais foram quantificados (BAU et al., 1997).

Em estudo conduzido por Donangelo, Trugo, Trugo e Eggum (1995) observaram que a germinação de *L. albus*, *P. vulgaris* e *G. max* não modificaram significativamente a concentração de minerais, como zinco, cálcio, fósforo, manganês e ferro, mas reduziu o conteúdo de cobre. Estes resultados estão de acordo com o presente estudo, os quais também não apresentaram diferença estatística significativa no teor destes minerais. Estes valores podem ser consequência da imersão e lixiviação do grão antes do processo de germinação. Um fato a ser considerado é que o ácido fítico tende a se ligar a cátions, como cálcio, magnésio, ferro e zinco. Este antinutriente é hidrolisado durante a germinação, o que supõe maior biodisponibilidade destes minerais no corpo humano (AUGUSTIN & KLEIN, 1989). Portanto, pode considerar que é um benefício adicional atribuído a sementes germinadas.

Para o cálcio, foram verificados valores variando entre 4,41 a $5,11\text{ g kg}^{-1}$, sendo que o feijão germinado no tempo de 72 horas e irradiado a 0,05 kGy foram os que apresentaram o valor mais alto do referido mineral, porém quando analisado o coeficiente de correlação entre o teor de ferro com a germinação verificou-se correlação baixa e negativa (-0,18), o mesmo foi apresentado para o processo de irradiação (-

0,27). Quanto as outras amostras analisadas apenas a amostra citada acima e o feijão irradiado a 0,1 kGy apresentaram diferença estatística em relação a amostra controle. Apesar de não ter apresentado diferença estatística significativa entre alguns tratamentos, os feijões que foram germinados no tempo de 72 e 96 horas e irradiado nas doses 0,05; 0,1 e 0,15 kGy foram os que apresentaram os maiores valores de cálcio.

As recomendações nutricionais para Ca variam conforme faixa etária e as condições clínicas dos indivíduos. Em geral, são de 1200 mg dia⁻¹ para indivíduos acima de 51 anos e de 1000 mg dia⁻¹ para indivíduos adultos entre 19 a 50 anos (DRI, 1997). Desta forma, conclui-se que em cada 100 gramas de feijão germinada a 72 e 96 horas são capazes de suprir cerca de 38% e 37% as necessidades diárias na faixa etária acima de 51 anos e cerca de 45,7% e 44% para indivíduos entre 19 – 50 anos, respectivamente.

Zielinski et al. (2006), verificaram que os níveis de cálcio e magnésio em broto de canola não modificaram até o quarto dia de germinação, porém, após este tempo, o aumento de minerais foi gradual ao final do processo, observando aumento de 30% depois de 7 dias de germinação em comparação as sementes cruas. Estes resultados estão de acordo com os dados do presente estudo. Porém em relação ao cobre e manganês, o trabalho citado acima relatou níveis elevados destes minerais no sétimo dia de germinação, de aproximadamente 33% e 22% quando comparado ao grão cru, respectivamente. Já o conteúdo de ferro diminuiu acentuadamente durante os primeiros dias de germinação, mas no final deste processo este mineral apresentou aumento gradual de 18%. Assim, os resultados indicam que os brotos são uma fonte rica destes microelementos.

Em estudo conduzidos com grãos da espécie *L. albus* cv *Multolupa*, observaram aumento no valor de cálcio para os brotos, sendo a de 2,02 mg de cálcio.g⁻¹ no grão e 2,32 mg de cálcio g⁻¹ no broto (DONANGELO et al., 1995). O mesmo autor verificou em soja que os valores no grão foram de 2,50 mg de cálcio g⁻¹ e, no broto, 2,80 mg de cálcio g⁻¹, portanto, também com aumento.

Lee & Karunanithy (1990) também verificaram aumento do teor de cálcio em mungo-verde, sendo no grão, $1.230 \mu\text{g g}^{-1}$; enquanto que, no terceiro dia de germinação, o teor foi de $1.036 \mu\text{g g}^{-1}$ e, no quinto dia $1.613 \mu\text{g g}^{-1}$ de cálcio.

Trugo et al. (2000) relataram aumento no nível de cálcio de 7,1% nos feijões após o processo de germinação. Contradizendo com os resultados citados nos estudos acima, Kumar, Venkataraman, Jaya e Krishnamurthy (1978) observaram diminuição significativa no teor de cálcio, em torno de 36%, em germinação dos grãos de *P. vulgaris*, *V. sinenses* e *C. arietinum*.

Quanto aos teores de sódio a variação foi de $3,32 \text{ g kg}^{-1}$ (controle) a $5,44 \text{ g kg}^{-1}$ (amostra irradiada na dose $0,05 \text{ kGy}$) não apresentando diferença estatística entre elas. Porém apresentou aumento em seu teor quando as amostras foram germinadas no tempo de 72 e 96 horas, mostrando com isso coeficiente de correlação alto e positivo com o processo germinativo (0,99). Já a irradiação apresentou coeficiente de correlação baixo e positivo (0,08). Chen et al. (1975) verificaram teores de sódio, para variedades de ervilha (grão) em torno de $67,9 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ a $145,5 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ e, para variedades de feijões (grãos), teores em torno de $152,5 \text{ mg de sódio } 100\text{g}^{-1}$. Esses valores são bem mais altos em relação ao trabalho especificado.

Entretanto, estudo realizado por Khallil et al. (1995) observaram que os feijões fava apresentaram diminuição perceptível nos conteúdos de sódio, potássio, cobre, manganês e magnésio. Atribuíram este decréscimo a lixiviação dos minerais quando imerso em água. El-Shimi (1980) descobriram que os níveis de sódio e potássio foram diminuindo à medida que a germinação procedeu. Quanto ao conteúdo de zinco e ferro nas amostras de feijão fava germinada, apresentaram valores mais altos em relação ao grão controle. Estes resultados estão de acordo com os relatados por Lee e Karunanithy (1990) que afirmaram que a perda de metais divalentes (cálcio, ferro e zinco) foi baixa durante a germinação, devido à sua ligação a proteínas e, também, a formação de complexo fitato-cátion-proteína.

Os valores de ferro foram aumentando com o processo de germinação, embora, os feijões germinados no tempo de 72 e 96 horas e irradiado na dose $0,15 \text{ kGy}$, apresentarem pequena queda em seus teores. Apesar deste aumento no teor de ferro com o processo de germinação, quando realizado o coeficiente de correlação

verificou-se que os dois processos apresentaram valores baixos e positivos (0,62 e 0,49, respectivamente). Resultados similares foram encontrados no estudo de Machado et al. (2009) os quais também verificaram elevação nos valores de ferro com a germinação para as três espécies estudadas, embora, o mungo-preto e o mungo-verde apresentarem diminuição no teor de ferro no segundo dia de germinação. Nos grãos controle e no quinto dia de germinação, o mungo-verde foi o que apresentou maior teor quando comparado ao guandu. A partir do segundo dia de germinação, até o quarto dia, mungo-verde e guandu não apresentaram diferença significativa. No sexto dia de germinação, o teor de ferro do guandu aumentou, ficando novamente igual ao mungo-verde. Portanto, o mungo-preto foi o que mostrou maior valor de ferro, durante todo processo de germinação.

Assim, de acordo com os resultados obtidos no trabalho de Machado et al. (2009) e no presente estudo podemos verificar que a prática da germinação é desejável para as regiões onde há deficiência de ferro existe.

Sendo as recomendações diárias de ferro de 11 mg dia⁻¹ para homens e 18mg/dia para mulheres (NRC, 2001), os resultados encontrados para os feijões germinados no tempo de 72 e 96 horas mostram que 100 gramas de amostra estudada são capazes de suprir para as mulheres de 59,94% a 98,60%, e para os homens de 98% a 116%, as quantidades necessárias de ferro ao organismo humano.

Lee & Karunanithy (1990), estudando o efeito da germinação sobre a composição química de feijões por 1, 3 e 5 dias de germinação, verificaram que o conteúdo de ferro diminuiu no grão (85 µg g⁻¹ até o terceiro dia 41 µg g⁻¹) e aumentou no quinto dia (52 µg g⁻¹) de germinação.

Em relação aos teores de magnésio, as amostras estudadas não apresentaram diferença estatística significativa, variando de 1,24 g kg⁻¹ (os grãos germinados no tempo de 96 horas e irradiado na dose 0,05 kGy) a 1,76 g kg⁻¹ (germinado a 72 horas e irradiado a 0,05 e 0,1 kGy). Porém, quando realizado o coeficiente de correlação, notou-se que a germinação apresentou correlação alta e negativa (-0,94) e a irradiação, baixa e negativa (-0,82) com o conteúdo de magnésio nos feijões avaliados. Estudo realizado por Kumar et al. (1978) indicou que a germinação de *P. aureus*, *V. sinensis* e *C. arietinum* causaram diminuição significativa

no conteúdo de magnésio, o qual foi atribuído a lixiviação durante a germinação dos grãos.

Sangronis et al. (2007) ao avaliar o efeito da germinação em alguns nutrientes de feijão branco (*Phaseolus vulgaris* L.), feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) e feijão guandu (*Cajanus cajan* L. Millsp.), observaram que os elementos minerais dos feijões analisados foram significativamente modificados pela germinação. A germinação aumentou o conteúdo de cálcio do feijão branco em 8,4%, 5,0% para o feijão preto e 17,2% para o feijão guandu. O teor de magnésio reduziu significativamente (23,7%) em feijão branco, enquanto no feijão preto e guandu não mostraram diferenças significativas entre as sementes germinadas e não germinadas. Kumar et al. (1978) indicaram que a germinação de leguminosas tais como *P. aureus*, *V. sinensis* e *C. arietinum* causou diminuição no conteúdo de magnésio, o qual foi atribuído à lixiviação durante o processo de germinação.

Outro mineral que também não apresentou diferença estatística entre os doze tratamentos citados foi o enxofre, variando de 1,20 g kg⁻¹ (amostras somente irradiada a 0,1 kGy) a 2,21 g kg⁻¹ (germinada a 72 horas e irradiada na dose 0,05 kGy). Ao verificar separadamente o efeito dos dois processos com o teor de enxofre, nota-se que o conteúdo deste mineral apresentou diminuição com a evolução do tempo de germinação, mostrando coeficiente de correlação alto e negativo (-1) e a irradiação apresentaram coeficiente baixo e também negativo (-0,65). Quanto aos teores de cobre, apenas a amostra irradiada na dose 0,1 kGy e germinada no tempo de 96 horas apresentou diferença significativa em relação a controle, sendo seus valores de 33,09 g kg⁻¹ e 19,36 g kg⁻¹, respectivamente. Apesar de não ter apresentado diferenças entre as amostras, os grãos germinados no tempo de 72 horas e irradiado nas doses 0,05 e 0,1 kGy, apresentaram os valores mais elevados deste mineral (cobre). O teor de manganês variou de 9,81 g kg⁻¹ (feijão germinado no tempo de 96 horas e irradiado na dose 0,05 kGy) a 13,94 g kg⁻¹ (germinado a 96 horas e irradiado a 0,15 kGy), porém não apresentaram diferença estatística em relação a amostra controle. Já o zinco, somente a amostra germinada há 72 horas e irradiada na dose 0,05 kGy apresentou diferença estatística significativa em relação ao feijão controle, sendo seus valores de 42,13 mg kg⁻¹ e 33,18 mg kg⁻¹, respectivamente. Quando analisado o coeficiente de

correlação dos dois processos (germinação e irradiação) com os teores de cobre, manganês e zinco nota-se que os dois primeiros minerais citados apresentaram coeficiente de correlação baixo (cobre: 0,19 e -0,87, respectivamente; manganês: 0,47 e -0,66, respectivamente) e em relação ao mineral zinco, observou correlação alta e negativa com o processo de germinação (-0,96) e baixa e negativa com a irradiação (-0,58).

A ingestão recomendada de zinco na dieta é de 8 mg dia⁻¹ para as mulheres e de 11mg dia⁻¹ para homens (TRUMBO et al., 2001). O conteúdo de zinco nos alimentos é variável sendo abundante em carnes, fígados, ovos, frutos do mar e no germe de alguns cereais (KING e KEEN, 1994; AMAYA et al., 1997) e em menor concentração, em produtos lácteos, tubérculos e leguminosas (AMAYA et al., 1997). Assim, os resultados mostraram que em 100 gramas de broto de feijão (72 e 96 horas) são capazes de suprir 39,5% para as mulheres e 28,72% para os homens.

Donangelo, Trugo e Eggum (1995) observaram que a germinação de *L. albus*, *P. vulgaris* e *G. max* não modificou significativamente a concentração de minerais como zinco, cálcio, fósforo e manganês mas reduziu o teor de ferro e cobre. Estes resultados podem ser consequência da imersão e lixiviação dos grãos durante a germinação.

Um estudo realizado por Osborn (1977) observaram que a soja desengordurada contém 2220μ g⁻¹ de cálcio, 20μg g⁻¹ de cobre, 137 μg g⁻¹ de ferro, 3100 μg g⁻¹ de magnésio, 38 μg g⁻¹ de manganês, 7100 μg g⁻¹ de fósforo e 5000 μg g⁻¹ de enxofre. Segundo Bau (1987) a soja (variedade Kingsoy) continha 47 μg g⁻¹ de zinco, 13 μg g⁻¹ de cobre, 1824 μg g⁻¹ de cálcio, 3890 μg g⁻¹ de magnésio e 8200 μg g⁻¹ de fósforo. O conteúdo de cobre e zinco em sementes germinadas apresentou diferença quando comparado as sojas que não foram germinadas. Após cinco dias de germinação, os níveis de cálcio e magnésio no estudo de Bau (1987) apresentaram aumento de 11,04 e 21,47%, respectivamente. Porém essa elevação nos teores de cálcio e magnésio pode ser devido à água utilizada (água da torneira) para maceração e lavagem das sementes durante a germinação.

Resultados contraditórios foram relatados por Sangronis et al. (2007), os quais observaram aumento significativo no teor de zinco em feijão branco (128,8%),

feijão preto (200%) e feijão guandu (37,7%) após a germinação. A diminuição no teor de ferro também foi observado devido à efeitos da germinação. O feijão branco mostrou uma diminuição de 78,3%, enquanto o feijão preto e feijão guandu foram de 42,6% e 82,6%, respectivamente, em relação ao teor de ferro dos grãos não germinados. O mesmo aconteceu com o estudo de Augustin e Klein (1989) onde verificaram que o teor de zinco, cobre, potássio e fósforo aumentaram significativamente em várias leguminosas após a germinação.

Estudo realizado por El-Adawy (2002) apresentou diminuição perceptível nos conteúdos de potássio, cálcio, magnésio, manganês e cobre em sementes germinadas de grão-de bico. No entanto, a germinação aumentou os teores de ferro, potássio e zinco. Estes resultados estão de acordos com os relatados por Lee e Karunanithy (1990) que declaram que a perda de metais divalentes (Ca, Fe e Zn) foi baixa durante a germinação devido à sua ligação às proteínas e a formação de complexo de proteína-fitado-cátion.

Oloyo et al. (2004) observaram que todos os elementos minerais, exceto, manganês e cobre, foram significativamente afetados pela germinação. A germinação das sementes *Cajanus cajan* L. até o quarto dia resultou em valores significativamente alto de ferro, cálcio, magnésio e fósforo. Também verificaram que todos os elementos minerais foram correlacionados positivamente com o processo de germinação.

Na tabela 18, estão apresentados os valores de disponibilidade *in vitro* de ferro, cálcio, zinco e magnésio.

Tabela 18 - Porcentagem de disponibilidade *in vitro* de cálcio, ferro, zinco e magnésio (média $\pm$ desvio padrão) para os grãos de feijão que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	% Ferro	% Cálcio	% Zinco	% Magnésio
0	0	0,12 $\pm$ 0,02 ^c	0,03 $\pm$ 0,00 ^{b,c,d}	0,31 $\pm$ 0,07 ^{b,c}	0,22 $\pm$ 0,08 ^a
0	72	0,17 $\pm$ 0,02 ^c	0,066 $\pm$ 0,05 ^{a,b,c,d}	0,74 $\pm$ 0,28 ^{a,b}	0,20 $\pm$ 0,08 ^a
0	96	0,46 $\pm$ 0,12 ^a	0,076 $\pm$ 0,01 ^{a,b}	0,58 $\pm$ 0,25 ^{a,b,c}	0,14 $\pm$ 0,04 ^a
0,05	0	0,20 $\pm$ 0,02 ^c	0,023 $\pm$ 0,00 ^{c,d}	0,29 $\pm$ 0,08 ^{b,c}	0,22 $\pm$ 0,07 ^a
0,05	72	0,23 $\pm$ 0,02 ^{b,c}	0,056 $\pm$ 0,01 ^{a,b,c,d}	0,54 $\pm$ 0,33 ^{a,b,c}	0,1 $\pm$ 0,01 ^a
0,05	96	0,63 $\pm$ 0,18 ^a	0,08 $\pm$ 0,01 ^a	0,93 $\pm$ 0,25 ^a	0,23 $\pm$ 0,08 ^a
0,1	0	0,14 $\pm$ 0,04 ^c	0,02 $\pm$ 0,00 ^d	0,19 $\pm$ 0,05 ^c	0,15 $\pm$ 0,06 ^a
0,1	72	0,17 $\pm$ 0,02 ^c	0,04 $\pm$ 0,01 ^{a,b,c,d}	0,46 $\pm$ 0,10 ^{a,b,c}	0,09 $\pm$ 0,02 ^a
0,1	96	0,42 $\pm$ 0,08 ^{a,b}	0,066 $\pm$ 0,01 ^{a,b,c,d}	0,72 $\pm$ 0,07 ^{a,b}	0,13 $\pm$ 0,00 ^a
0,15	0	0,13 $\pm$ 0,03 ^c	0,02 $\pm$ 0,01 ^d	0,27 $\pm$ 0,11 ^{b,c}	0,24 $\pm$ 0,09 ^a
0,15	72	0,50 $\pm$ 0,03 ^a	0,07 $\pm$ 0,01 ^{a,b,c}	0,49 $\pm$ 0,05 ^{a,b,c}	0,1 $\pm$ 0,06 ^a
0,15	96	0,47 $\pm$ 0,09 ^a	0,04 $\pm$ 0,01 ^{a,b,c,d}	0,32 $\pm$ 0,07 ^{b,c}	0,09 $\pm$ 0,04 ^a

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

A aferição da ingestão de ferro, cálcio, zinco e magnésio, a partir da presença desses nutrientes na composição dos alimentos, possui valor limitado como informação sobre o valor nutritivo da dieta, pois não indica a disponibilidade desses minerais. O método *in vitro* baseia-se em medir os nutrientes que está disponível para absorção, através da digestão simulada do alimento ou dieta, mediante a determinação de ferro, cálcio, zinco e magnésio dialisável, utilizando membrana de diálise em equilíbrio (MILLER et al., 1981) e mediante a diálise em fluxo contínuo (MINIHANE et al., 1993). Esses métodos não levam em consideração os fatores fisiológicos que afetam a eficiência na absorção dos minerais, tais como o estado nutricional, transporte ativo, interações com a mucosa e flora intestinal, embora sejam importantes para obtenção de dados “*in vivo*” e permitam melhor controle das variáveis experimentais. Têm a vantagem de ser menos onerosos e de requerer menos cuidados que as técnicas *in vivo* (FAIRWEATHER-TAIT et al., 1995). Os fatores promotores e inibidores da absorção desses nutrientes têm mostrado responder *in vitro* do mesmo modo como eles afetam a absorção de ferro *in vivo* (DAVIES & OLPIN, 1979; SNEHALATHA, 1984; HAZELL & JOHNSON, 1987).

Assim, observando a tabela 18, nota-se que na diálise *in vitro* de zinco, os 12 tratamentos analisados não apresentaram diferença estatística significativa com a

amostra controle. Em relação a % de diálise de cálcio e zinco, apenas as amostras germinadas no tempo de 96 horas e irradiada na dose 0,05 kGy apresentaram diferença significativa com o feijão controle, já o ferro, as amostras que apresentaram diferença significativa com o grão controle foram as amostras germinada no tempo de 96 horas, germinada a 96 horas e irradiada nas doses 0,05, 0,1 e 0,15 kGy, e o feijão germinado no tempo de 72 horas e irradiado na dose 0,15 kGy. Ao analisar os processos de germinação e irradiação, verifica-se que tanto o ferro, como o cálcio e zinco, apresentaram aumento em seus valores com a germinação. O magnésio, ao contrário dos outros minerais, apresentou diminuição em seus valores com a evolução do tempo de germinação. Quanto à irradiação, notou-se que este processo não influenciou no conteúdo destes minerais, portanto não proporcionou melhora na qualidade do grão e disponibilidade de elementos minerais.

Ghavidel et al., (2007), o qual avaliou o efeito da germinação na biodisponibilidade de cálcio e ferro em feijão verde (*Phaseolus aureus*), feijão caupi (*Vigna catjang*), lentilha (*Lens culinaris*) e grão de bico (*Cicer arietinum*) observaram que a porcentagem de ferro biodisponível nas amostras analisadas aumentou significativamente com a germinação, apresentando aumento de 64,7%, 67,8%, 75,8% e 81,3% em grão de bico, feijão verde, feijão caupi e lentilha, respectivamente, sobre a amostra controle. Em relação ao cálcio, verificaram reduções em seus teores, porém aumento de 57,32%, 69,00%, 58,70 % e 70,40% na biodisponibilidade do mineral em grão-de-bico, feijão verde, feijão caupi e lentilha, respectivamente quando comparados às amostras controle. A partir da análise de coeficiente de correlação, os autores observaram interação significativa ($p < 0,05$) e negativa entre biodisponibilidade de Ca e ácido fítico, taninos e fibra dietética total.

Hussein e Ghanem (1999) também encontraram melhora apreciável na biodisponibilidade de cálcio em feijão fava germinado. Este aumento após a germinação pode ser considerado devido à reduções nos fatores antinutricionais de leguminosas.

Estudo realizado por Luo et al., (2009) ao investigarem os efeitos dos processamentos (hidratação, germinação e fermentação) sobre a biodisponibilidade de ferro *in vitro* e nos teores de ácido fítico em feijão fava observaram reduções significativas nos conteúdos de fitato após hidratação (tempos: 4, 8, 12 e 24 horas) e

germinação (tempos: 24, 48, 72, 96 e 120 horas) com a evolução dos processos. No entanto, somente foi observado aumento na biodisponibilidade de ferro após 24 horas de hidratação e 120 horas de germinação.

Evidências demonstram que a quantidade de ferro potencialmente disponível nos alimentos depende não somente da quantidade de ferro presente, mas da natureza do ferro e da composição do alimento com a qual ele está sendo consumido (HALLBERG & BJORN-RASMUNSEN, 1972; LAYRISSE et al., 1984; BAYNES & BOTHWELL, 1990). O conteúdo total de ferro na dieta é um indicador falho da eficácia de ferro dietético, estando em estudos os fatores que influenciam a sua biodisponibilidade (HALLBERG, 1981). O ferro encontrado no feijão é o ferro não-heme, e sua absorção pode ser alterada de forma significativa pelos componentes da alimentação.

Considerando que a recomendação da ingestão de ferro possui, em média, 12,5 mg e a absorção para indivíduos saudáveis, corresponda a 15% da quantidade do ferro total presente na dieta, verifica-se a importância do feijão comum na dieta da população brasileira, o qual, além de possuir excelentes propriedades nutricionais, favorece a classe sócio-econômica menos favorecida.

Em relação à biodisponibilidade de zinco, resultados contraditórios ao presente estudo foi encontrado por Hemalatha et al. (2007) os quais verificaram que a germinação durante 24 e 48 horas em grão de bico não afetou a diálise deste mineral, porém apresentou diminuição no caso de *Eleusine coracana* (redução de 30% e 38%, respectivamente) e feijão verde (redução de 38% e 44%, respectivamente). Entretanto, quando avaliado a porcentagem de biodisponibilidade de ferro, observaram que a germinação (24 e 48 horas) dos grãos apresentou aumento de 38 e 62% (feijão verde), 37 e 39% (grão-de-bico), respectivamente. O mesmo estudo reportou que o teor de fitato não foi afetado durante processo de germinação, enquanto taninos reduziram significativamente após os tempos analisados. Esta redução foi de 43 e 74% para feijão verde, 44% e 50% para grãos de capim-pé-de-galinha e 47% e 52% para grão-de-bico, respectivamente, após 24 e 48 horas de germinação. Para os autores, a redução na biodisponibilidade de Zn pode ser atribuída, principalmente ao efeito da hidratação do que da germinação. No estudo, a água utilizada para a hidratação dos grãos não foi

descartada. Assim, os grãos germinados utilizados para análise não foram destituídos dos fitatos solúveis que provavelmente foram lixiviados durante processo de maceração.

Estudo realizado por Chopra e Sankhala (2004) os quais analisaram a influência da hidratação e germinação de *Dolichos biflorus* e *Phaseolus aconitifolius* sobre a biodisponibilidade de ferro *in vitro*, verificaram que a hidratação durante 8 e 16 horas, reduziu os níveis de taninos e fitatos. A degradação de fitato e taninos foi acentuada após 24 horas de germinação. Consequentemente, a biodisponibilidade *in vitro* de ferro aumentou significativamente após hidratação bem como após germinação dessas leguminosas.

Pinn (1992) verificou que, em função da dose empregada, ocorre aumento da porcentagem de ferro dialisável; com doses de 2; 4; 6; 8 e 10 kGy observou aumentos de aproximadamente 11%; 13%; 23%; 57% e 70% em relação à porcentagem de ferro dialisável do feijão não irradiado (0,82%). O mesmo foi verificado no estudo de Brigide (2002) o qual foi observado no feijão cru o benefício do efeito da irradiação no alimento tratado, com aumento no teor da diálise do ferro sob efeito da irradiação em relação ao controle. No feijão cozido, apresentou os processos de maceração e cocção como responsáveis pela inativação dos fatores antinutricionais, e conseqüentemente os melhores teores da diálise do ferro, além de assegurar textura, sabor e aroma para consumo.

O teor de tiamina (vitamina B₁), riboflavina (vitamina B₂) e piridoxal (vitamina B₆) no grão controle, irradiado e/ou germinado estão expostos na Tabela 19.

Tabela 19 - Teor de Vitaminas B₁, B₂, B₆ e seus respectivos vitâmeros (Piridoxamina, Piridoxal, Piridoxina) para os grãos de feijão que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Niacina (mg 100g ⁻¹)	Riboflavina (mg 100g ⁻¹)	Piridoxina (mg 100g ⁻¹)	Piridoxal (mg 100g ⁻¹)	Piridoxamina (mg 100g ⁻¹)	Vitamina B ₆ (mg 100g ⁻¹)
0	0	0,15±0,00 ^{a,b,c}	0,23±0,00 ^e	0,15±0,00 ^d	0,03±0,00 ^{c,d}	0,10±0,00 ^d	0,28±0,00 ^d
0	72	0,13±0,00 ^{b,c,d}	0,49±0,01 ^{a,b}	0,26±0,01 ^a	0,07±0,00 ^{a,b}	0,17±0,00 ^b	0,51±0,02 ^a
0	96	0,13±0,00 ^{b,c,d}	0,52±0,00 ^a	0,25±0,01 ^{a,b}	0,09±0,00 ^a	0,2±0,00 ^a	0,53±0,01 ^a
0,05	0	0,18±0,00 ^a	0,24±0,00 ^e	0,15±0,00 ^d	0,03±0,00 ^{b,c,d}	0,10±0,00 ^d	0,27±0,00 ^d
0,05	72	0,12±0,00 ^{c,d}	0,40±0,00 ^d	0,22±0,00 ^c	0,09±0,00 ^a	0,14±0,00 ^c	0,443±0,00 ^{b,c}
0,05	96	0,12±0,00 ^{c,d}	0,47±0,04 ^{a,b,c}	0,22±0,01 ^c	0,06±0,02 ^{a,b,c}	0,17±0,00 ^b	0,46±0,01 ^{b,c}
0,1	0	0,15±0,00 ^{a,b,c}	0,22±0,00 ^e	0,15±0,00 ^d	0,02±0,00 ^d	0,10±0,00 ^d	0,26±0,01 ^d
0,1	72	0,12±0,00 ^{c,d}	0,43±0,01 ^{c,d}	0,23±0,01 ^{b,c}	0,067±0,03 ^{a,b,c}	0,14±0,00 ^c	0,44±0,02 ^c
0,1	96	0,12±0,00 ^{c,d}	0,44±0,02 ^{b,c,d}	0,22±0,01 ^c	0,09±0,00 ^a	0,18±0,00 ^{a,b}	0,49±0,01 ^{a,b}
0,15	0	0,16±0,00 ^{a,b}	0,23±0,00 ^e	0,15±0,00 ^d	0,01±0,00 ^d	0,10±0,00 ^d	0,27±0,00 ^d
0,15	72	0,12±0,00 ^{c,d}	0,39±0,00 ^d	0,22±0,01 ^c	0,09±0,00 ^a	0,14±0,00 ^c	0,45±0,01 ^{b,c}
0,15	96	0,10±0,00 ^d	0,48±0,02 ^{a,b,c}	0,22±0,01 ^c	0,09±0,00 ^a	0,18±0,00 ^{a,b}	0,49±0,01 ^{a,b}

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa (p≤0,05), n=3.

Analisando a tabela 19 observa-se que após o processo de germinação os valores de tiamina são diminuídos, porém quanto às vitaminas riboflavina e vitamina B₆, os grãos germinados foram os que apresentaram maiores valores.

O conteúdo de vitamina B₁, B₂ e B₆ para os grãos controle, germinado no tempo de 72 e 96 horas foram 0,15, 0,13, 0,13 mg 100g⁻¹; 0,23, 0,49, 0,52 mg 100g⁻¹ e 0,28, 0,51, 0,53 mg 100g⁻¹, respectivamente. Realizando o teste de tukey, verificou-se que, para a vitamina B₁ (niacina), as amostras germinadas tanto no tempo de 72 e 96 horas não apresentaram diferença significativa em relação à amostra controle e irradiada nas doses 0,1 e 0,15 kGy, porém a amostra irradiada na dose 0,05 kGy apresentou diferença aos grãos germinados e o feijão controle diferiu da amostra germinada no tempo de 96 horas e irradiada na dose 0,15 kGy. Para a vitamina B₂ (riboflavina), observou-se que as amostras germinadas (72 e 96 horas) apresentaram diferença estatística significativa entre as amostras controle e irradiadas nas doses 0,05; 0,1 e 0,15 kGy e quanto a vitamina B₆, verificou-se diferença estatística significativa entre as amostras germinadas com os grãos controle e irradiado, porém em relação aos tempos de germinação, não diferiram estatisticamente entre eles.

Dentre os feijões analisados, as amostras que apresentaram o maior conteúdo de vitamina B₁, B₂ e B₆ foram os grãos irradiados na dose 0,15 kGy, o feijão germinado no tempo de 96 horas e a amostra germinada há 96 horas, respectivamente,

os quais apresentaram aumento de 37,5%, 57,7% e 51,0% em relação ao grão que apresentou o menor valor, os quais foram as amostras germinadas no tempo de 96 horas e irradiada na dose 0,15 kGy, irradiada na dose 0,1 kGy e irradiada na dose 0,1 kGy, respectivamente. Quanto à germinação (72 e 96 horas), o teor de vitamina B₁ apresentou redução de 13,3% (para os dois tempos), a vitamina B₂ apresentou aumento de 53% (72 horas) e 55% (96 horas) e a vitamina B₆ apresentou-se aumento de 45% (72 horas) e 47% (96 horas), quando comparado a amostra controle.

Observando-se os resultados do conteúdo de tiamina, riboflavina e vitamina B₆ nas amostras analisadas, e comparando-os com os de outros autores, nota-se que os valores obtidos estão de acordo com outros estudos. Vidal-Valverde et al. (2002) também verificaram que a vitamina B₁ em feijão, apresentou diminuição em seus valores após a germinação de 2, 4 e 6 dias. Observaram que a germinação na presença de luz não afeta o conteúdo de vitamina B₁ em leguminosas. Sobre o teor de vitamina B₂, os grãos de feijão apresentaram aumento progressivo durante o processo germinativo e verificaram que a presença ou ausência de luz não afetou o conteúdo desta vitamina. Outro estudo que apresentou valores similares ao presente trabalho foi de Vidal-Valverde, Frias, Lambein e Kuo (2001), os quais relataram redução de 6,8% no conteúdo de tiamina em grãos *P. vulgaris* após germinação e de Khallil et al. (1995) onde verificaram que o processo de germinação reduziu significativamente (em torno de 56%) o conteúdo de tiamina em grão de feijão.

Zielinski et al. (2006) também observaram redução no teor de tiamina em canola até o sexto dia de germinação, atingindo nível constante de tiamina até o final do processo (sétimo dia). Golda et al. (2004), os quais compararam as características básicas das tiaminas ligadas a proteína e do metabolismo da tiamina em cereais (aveia e milho) e leguminosas (feijão e ervilha) germinadas, verificaram que o conteúdo de tiamina total dos brotos diminuíram durante a germinação, porém o tempo e a magnitude desta perda diferiram entre cereais e leguminosas. Em brotos de cereais, o teor de tiamina total apresentou diminuição durante os 3 primeiros dias de germinação. Esta perda foi de 40% para brotos de milho e 20% para brotos de aveia. Em brotos de leguminosa, o conteúdo total de tiamina não mudaram durante os 3 primeiros dias de germinação, porém, em seguida, o teor deste composto começou a reduzir alcançando

no sexto dia redução de 45% para os feijões e 55% para a ervilha quando comparado ao valor inicial.

Vidal-Valverde et al. (1997) verificaram que a germinação de lentilha durante 6 dias, em temperatura de 20°C, com ausência de luz e lavagem diária levou a redução no conteúdo de tiaminas nas duas variedades estudadas: 14% para a variedade vulgaris e 11% para a variedade variabilis. Em contraste, as mesmas condições promoveram aumento significativo no teor de riboflavina e niacina em ambas as variedades. Porém, a presença ou ausência de luz não afetaram o teor de tiamina e riboflavina em lentilhas germinadas. Também observaram que a hidratação dos grãos não apresentou diferença significativa no conteúdo de tiamina nas lentilhas germinadas. No caso da riboflavina, uma diminuição na hidratação das sementes deu origem a um ligeiro, mas significativo, aumento após 3 dias de germinação e nenhuma alteração significativa ocorreu no tempo de germinação de 6 dias.

Diversos autores citam que a presença ou ausência de luz e umidade durante a germinação afetam a composição nutricional dos brotos (VIDAL-VALVERDE et al., 2002). Abdullah e Baldwin (1984) observaram aumento acentuado de tiamina, riboflavina, niacina e ácido ascórbico após germinação de soja e feijão mungo por três dias em gaze úmida e lavada três vezes ao dia. Prodanov et al. (1997) relataram que o conteúdo de tiamina, riboflavina total e niacina disponíveis em lentilha e feijão dependia da frequência de lavagem, presença de luz e tempo de germinação quando as sementes eram processadas na separação de funil a 20°C. Sierra e Vidal-Valverde (1999) verificaram que o conteúdo de vitamina B₁ apresentou redução (75%) com o processo germinativo de 6 dias, mas a vitamina B₂ teve um aumento entre 2,3 e 2,6 vezes após a germinação de 6 dias no escuro.

Resultados contraditórios no conteúdo de tiamina foram encontrados por Sangronis et al. (2007), os quais verificaram aumento estatisticamente significativo no teor de tiamina em feijão branco, preto e guandu. Este aumento foi de 12,8%, 26,5% e 7,4%, respectivamente. Ahmad e Pathak (2000) também observaram aumento de aproximadamente 22,1% em grãos de soja após a germinação. Augustin e Klein et al. (1989) observaram que a germinação aumentou significativamente o teor de tiamina em variedade de leguminosa em torno de 7,2% e 147,7%. Estes autores também relataram

aumento no conteúdo total de vitamina B₆ em brotos de leguminosas quando comparado com o grão seco.

Urbano et al. (2005) verificaram que o conteúdo total de tiamina em ervilhas não foi modificado depois de prolongado tempo de germinação (6 dias). Já o teor de riboflavina, a germinação causou aumento significativo no conteúdo deste constituinte nas duas farinhas de ervilha germinada (80% e 87% incremento para 3 e 6 dias de germinação, respectivamente). Porém, após 6 dias de germinação não foi observado mais nenhum incremento no conteúdo de riboflavina. Estes resultados estão de acordo com o presente estudo o qual observaram aumento de riboflavina em feijões germinados após a germinação.

A ingestão diária de tiamina recomendada pela RDAs é de 1 mg dia⁻¹. Porém, durante a gravidez e lactação, um adicional de 0,4 mg dia⁻¹ é recomendado durante a gravidez e 0,5 mg dia⁻¹ durante a lactação. Assim, em 100 gramas de broto de feijão germinado no tempo de 96 horas contem cerca de 0,13 mg de tiamina, podendo com isso fornecer menos de 13% do exigido para o consumo de vitamina B₁ na dieta para humanos. Vale ressaltar, que a ingestão de tiamina para um individuo é influenciada pela idade, ingestão de energia e carboidrato e o peso corporal (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1995).

Em relação ao teor de riboflavina, Zielinski et al. (2006) verificaram que o teor deste constituinte em canola aumento gradativamente até o quinto dia de germinação, permanecendo estável até o final do processo. Observaram que quando os dados foram expressos com base na matéria seca, os brotos apresentaram quantidade de riboflavina três vezes maior do que as sementes cruas.

A ingestão diária de riboflavina é essencial, sendo a recomendação para a ingestão diária (RDAs) de 0,4-0,5 mg dia⁻¹ para infantis, 0,8-1,2 mg dia⁻¹ para crianças, 1,5-1,7 mg dia⁻¹ para homens e 1,3 mg dia⁻¹ para as mulheres (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1995). Em adição 1,4-1,2 mg dia⁻¹ é recomendado para pessoas acima de 50 anos, 1,8mg dia⁻¹ durante a lactação e 1,6 mg dia⁻¹ durante a gravidez. Assim, uma vez que 100 gramas de broto de feijão germinado no tempo de 96 horas contém cerca de 0,52 mg de riboflavina, a ingestão de uma porção pode fornecer cerca de 40% da RDA, atualmente fixado para os seres humanos.

Quanto ao conteúdo de vitamina B₆, foi relatado em nossos estudos, que a fração PL foi a menor detectada, seguida da fração PM, e a maior quantidade foi a de PN. E em relação ao conteúdo total de vitamina B₆ foi verificado aumento após a germinação e as doses de irradiação não provocaram alterações em seu conteúdo. Os resultados apresentados estão de acordo com o estudo de Sierra et al. (1999) os quais verificaram que em ervilhas cruas, a piridoxina foi o vitâmero mais predominante, e somente pequena quantidade de piridoxina glicosilada foi encontrado. A germinação realizada por 6 dias, em 20°C, no escuro e com lavagem diária, levou ao aumento significativo no conteúdo total de vitamina B₆ durante o período de 6 dias de germinação, principalmente devido ao aumento elevado de piridoxina glicosilada que foi 14 vezes maior em comparação com a ervilha crua. O conteúdo de piridoxal aumentou cerca de 7,5 vezes nas sementes germinadas. Em relação ao vitâmero piridoxamina, seu conteúdo durante a germinação foram menores do que as alterações ocorridas nos outros vitâmeros. Dentro do período de 2 dias de germinação, foi observado redução de 50% no teor de piridoxamina em relação ao grão cru. Porém, de dois a seis dias, houve aumento estatisticamente significativo, terminando com 74% de PM em ervilhas germinadas. Khallil et al. (1995) também observaram aumento no conteúdo total de vitamina B₆ em feijão após a germinação de 3 dias.

Porém não há muita informação na literatura sobre o efeito do tempo de germinação no conteúdo dos vitâmeros B₆ livres e glicosilados, tiamina e riboflavina em leguminosas.

Perdas de tiamina são pequenas em grãos processados por radiação (KILCAST, 1994). Alterações estruturais após o tratamento por radiação nos feijões podem reduzir o tempo de cocção e aumentar a retenção de tiamina (SREENIVASAN, 1974).

Em estudo realizado por Villavicencio et al. (2000) foi avaliado o efeito da radiação γ no conteúdo de tiamina, riboflavina e vitamina B₆ em duas variedades de feijão brasileiro cozido (*Carioca* e *Macaça*). Observou-se após seis meses de estocagem em temperatura ambiente, efeito sobre o conteúdo de tiamina em feijão *Carioca*, quando foram utilizadas doses maiores que 2,5 kGy. Já para o feijão *Macaça*, não houve perdas significativas dessa vitamina. O conteúdo de riboflavina não

apresentou variação significativa entre o controle e as amostras irradiadas do feijão *Carioca*. No feijão *Macaça* houve elevação no teor dessa vitamina, com o aumento da dose utilizada. Para a vitamina B₆ total, houve redução desse valor com o aumento da dose, nas duas variedades analisadas (0-6%), quando se utilizou doses na faixa de 0,5-2,5 kGy. Quando submetidos a dose de 5,0 kGy, os feijões apresentaram perdas na faixa de 1-12%, sendo que a dose de 10 kGy induziu às maiores perdas, que variaram de 14 a 19%.

Fonseca et al. (1974) relataram perda de 12% de riboflavina, imediatamente logo após a irradiação em dose de 0,15 kGy em Kidney beans, enquanto que após o período de estocagem de 5 meses, mostraram percentual de perda de 7% em relação aos controle. Os dados apresentados na tabela 3 estão de acordo com a literatura, em que Adrian & Frayssinet (1975) não observaram perdas de riboflavina em feijões *Macaçar* em doses de 0,15 kGy. Também não foram encontradas perdas no conteúdo de riboflavina em estudos com milho, trigo e feijões tratados com doses de 0,5 kGy e 5 kGy (BADSHARH & KLOPFENSTEIN, 1989).

Em geral, os dados da literatura sobre a influência da radiação e a retenção de tiamina, riboflavina e vitamina B₆ em leguminosas, revelam pouca ou nenhuma perda (DELINCÉE et al., 1993).

6.4 Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

As diferenças encontradas na composição mineral não tiveram influência do tratamento de irradiação, e sim do processo de germinação. A germinação, apesar de não ter apresentado diferença estatística com o grão controle, resultou no aumento dos teores de fósforo, cálcio e cobre no tempo de 72 horas e aumento no teor potássio, sódio, ferro e manganês no tempo de 96 horas. Porém apresentou diminuição no conteúdo de magnésio, enxofre e zinco.

Apesar de não ter apresentado diferença significativa na disponibilidade de ferro, cálcio, zinco e magnésio entre a germinação, irradiação e controle, as amostras germinadas apresentaram aumento em seus valores em relação a disponibilidade *in*

vitro de ferro, cálcio e zinco. Já a disponibilidade *in vitro* de magnésio, apresentou redução com o processo germinativo.

Quanto à vitamina B₁, B₂ e B₆, notou-se que a germinação aumentou os teores de riboflavina e vitamina B₆, porém diminui o teor de tiamina. O processo de irradiação não comprometeu o valor nutricional das vitaminas do feijão.

Referências

ABDULLAH, A.; BALDWIM, R. E. Mineral and vitamin contents seeds and sprout of newly available small-seed soybean and smple of mungbeans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, n. 22, p.441-444, 1984.

ADRIAN, J.; FRAYSSINET, C. La désinsectation des cereals et des légumineuses africaines par l'irradiation gamma. **Aliment de la Vie**, Paris, v.63, n.1, p.265-272, 1975.

AHMAD, S.; PATHAK, D. Nutritional changes in soybean during germination. **Journal of Food Science and Technology**, Malden, v.37, n.6, p.665–666, 2000.

AHN, B.; YANG, C.B. Effects of soaking, germination, incubation and autoclaving on phytic acid in seeds. **Korean Journal of Food Science and Technology**, Malden, v.17, n.6, p.516-521, 1985.

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

AUGUSTIN, J.; LEIN, B. Nutrient composition of raw, cooked, canned and sprouted legumes. In **Legumes, chemistry, technology and human nutrition**. New York: Marcel Dekker Inc, 1989. p.187-217.

BADSHAH, K.A.; KLOPFENSTEIN, C.F. Effect of gamma irradiation on the nutritional quality of grain and legumes. I. Stability of niacin, thiamin and riboflavin. **Cereal Chemistry**, St Paul, v.66, n.3, p.169-170, 1989.

BARRUETO-GONZÁLEZ, N.B. **Biodisponibilidade de cálcio, magnésio, cobre e zinco na soja (Glycine max) e em novas variedades de feijão-comum (Phaseolus vulgaris), obtidas por melhoramento genético clássico e sua relação com fatores antinutricionais não protéicos**. 2007. 122p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade de Campinas, Campinas, 2007.

BAU, H.M.; DEBRY, G. Germinated soybean protein products chemical and nutritional evaluation. **Journal of the American Oil Chemists. Society**, Champaign, v.56, n.3, p.160-162, 1979.

BAU, H. M. **Les constituants biochimiques de quelques graines d'oleagineux et de legumineuses. Etude des propriétés physico-chimiques fonctionnelles et nutritionnelles. Traitement d'amélioration par voies chimique, enzymatique et biologique.** 1987. 254p. Tese de Doutor em Ciências, Universidade de Nancy I, France, 1987.

BAU, H-M. ; VILLAUME, C.; NICOLAS, J-P.; MÉJEAN L. Effect of Germination on Chemical Composition, Biochemical Constituents and Antinutritional Factors of Soya Bean (*Glycine max*) Seeds. **Journal of Science and Food Agricultural**, London, v. 73, n.1, p. 1-9, 1997.

BAYNES, R.D.; BOTHWELL, T.H. Iron deficiency. **Annual Review Nutrition**, New York, v.10, n.2, p.133-148, 1990.

BRIGIDE, PRISCILA. **Disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiados.** 2002. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

CHEN, L. H.; WELLS, C. E.; FORDHAM, J. R. Germinated seeds for human consumption. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 40, n.6, p. 1290-1294, 1975.

CHOPRA, S.; SANKHALA, A. Effect of soaking and sprouting on tannin, phytate and in vitro iron in underutilized legumes – horse gram (*Dolichos biflorus*) and moth bean (*Phaseolus aconitifolius*). **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v.41, n.1, p.547–550, 2004.

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

DAVIES, N.; OLPIN, S.E. Studies on the phytate: zinc molar contents in diets as a determinant of zinc availability to young rats. **British Journal Nutrition**, London, v.41, n.3, p.590-596, 1979.

DELINCÉE, H. Control of irradiated food: recent developments in analytical detection methods. **Radiation Physics Chemistry**, Oxford, v.42, n.1/3, p.351-357, 1993.

DONANGELO, C., TRUGO, L., TRUGO, N.; EGGUM, B. Effect of germination of legume seeds on chemical composition and on protein and energy utilization in rats. **Food Chemistry**, Oxford, v.53, n.1, p.23–27, 1995.

DUHAN, A; KHETARPAUL, N; BISHNOI, S. Changes in phytates and HCl extractability of calcium, phosphorus and iron of soaked, dehulled, cooked, and sprouted pigeon pea cultivar (UPAS-120). **Plant Food Human Nutrition**, Dordrecht, v. 57, n.3/4, p.275-284, 2002.

EL-ADAWY, T. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.57, n.1, p.83-97, 2002.

EL-SHIMI, N. M. **Changes in nutritional value and microstructure of faba bean seeds during germination**. 1980. 254p. Tese de Doutorado na Faculdade de Agricultura, Universidade de Alexandria, Egito, 1980.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; FOX T. E.; WHARF S. G. The bioavailability of iron in different weaning foods and the enhancing effects of a fruit drink containing ascorbic acid. **Pediatric Research**, New York, v.37, n.4, p.389-394, 1995.

FERNANDEZ, M.; LÓPEZ-JURADO, M.; ARANDA, P.; URBANO, G. Nutritional assessment of raw and processed faba bean (*Vicia faba* L.) cultivar Major in growing rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 44, n.9, p. 2766-2772, 1997.

FONSECA, H.; NOGUEIRA, J.N.; MAFFEI, C.I.; OLIVEIRA, M.G. **Effect of gamma irradiation on the organoleptic and nutritive properties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L. cv. mulatinho)**. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 1974. 85p.

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v.40, n.1, p.1292 – 1299, 2007.

GOLDA, A.; SZYNIAROWSKI, P.; OSTROWSKA, K.; KOZIK, A.; PATA-KOZIC, M.R.T. Thiamine binding and metabolism in germinating seeds of selected cereals and legumes. **Plant Physiology and Biochemistry**, New York, v.42, n.3, p.187–195, 2004.

HALLBERG, L.; BJORN-RASMUNSEN, E. Determination of iron absorption from whole diet. **Scandinavian Journal of Haematology**, Copenhagen, v.9, n.3, p.193-197, 1972.

HALLBERG, L. Bioavailable nutrient density: a new concept applied in the interpretation of food iron absorption data. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.34, n.4, p.2242-2247, 1981.

HAZELL, T.; JOHNSON, I.T. *In vitro* estimation of iron availability from a range of plant foods: influence of phytate, ascorbate and citrate. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.57, n.2, p.223-233, 1987.

HEMALATHA, S.; PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Influence of germination and fermentation on bioaccessibility of zinc and iron from food grains. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v.61, n.3, p.342-348, 2007.

KHADER, V. Nutritional studies on fermented, germinated and baked soya bean (*Glycine max*) preparations. **Journal of Plant Foods**, London, v.5, n.1, p.31-37, 1983.

KHALIL, A.H.; MANSOUR, E.H. The effect of cooking, autoclaving and germination on the nutritional quality of Fafá beans. **Food Chemistry**, Oxford, v.54, n.1, p.177-182, 1995.

KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. **Food Chemistry**, Oxford, v.49, n.2, p.157-164, 1994.

HUSSEIN, L.; GHANEM, K. Z. Calcium bioavailability from selected Egyptian foods with emphasis on the impact of germination and fermentation. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Basingstoke, v.50, n.5, p.351-356, 1999.

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

KUMAR, K., VENKATARAMAN, L., JAYA, T.; KRISHNAMURTHY, K. Cooking of some germinated legumes; changes in phytins, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ and pectins. **Journal of Food Science**, Chicago, v.43, n.1, p.85-88, 1978.

LAYRISSE, M.; MARTINEZ-TORRES, C.; LEETS, I.; TAYLOR, P.; RAMIREZ, J. Effect of histidine, cysteine, glutathione or beef on iron absorption in humans. **Journal of Nutrition**, Beethesda, v.114, n.2, p.217-223, 1984.

LEE, C. K.; KARUNANITHY, R. Effects of germination on the chemical composition of *Glycine* and *Phaseolus* beans. **Journal of Science and Food Agricultural**. London, v.51, n.4, p.437-445, 1990.

LUO, Y.; GU, Z.; HAN, Y.; CHEN, Z. The impact of processing on phytic acid, *in vitro* soluble iron and Phy/Femolar ratio of faba bean (*Vicia faba* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.89, n.5, p. 861-866, 2009.

LYNCH, SR.; BEARD, J.L.; DASSENKO, S.A.; COOK, J.D. Iron absorption from legumes in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, Ann Arbor, v. 40, n.1, p. 42-47, 1984.

MACHADO, A.L.L.; BARCELOS, M.F.P.; TEIXEIRA, A.H.R.; NOGUEIRA, D.A. Avaliação de componentes químicos em brotos de fabaceae para o consumo humano. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1071-1078, jul./ago. 2009.

MESSINA, M. J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **American Journal of Clinical Nutrition**., Ann Arbor, v.70, n.3, p. 439S-450S, 1999.

MILLER, D.; SCHRICKER, B.; RASMUSSEN, R.; VAN CAMPEN, D. An in vitro method for estimation of iron availability from meals. **American Journal of Clinical Nutrition**, Ann Arbor, v.34, n.10, p. 2248-2256, 1981.

MINIHANE, A.M.; FOX, T.E.; FAIRWEATHER-TAIT, S.J. A continuous flow in vitro method to predict bioavailability of Fe from foods. **Proceedings Biology**, Singapore, v.2, n.1, p.175-179, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of laboratory animals**. 4.ed. Washington: National Academy Press, 1995. 597p.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. **Dietary Reference intake, for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and Fluoride**. Washington: National Academic Press; 1997. 454p.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. **Dietary Reference intake, for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate**. Washington: National Academic Press; 2004. 638p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington.: National Academy Press, 2001. 455p.

NESTARES, T.; BARRIONUEVO, M.; LÓPEZ-FRIAS, M.; VIDAL, C.; URBANO, G. Effect of different soaking solution on nutritive utilization of minerals (calcium, phosphorus, and magnesium) from cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in growing rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n.2, p. 515-520, 2003.

NESTARES, T.; BARRIONUEVO, M.; URBANO, G.; LÓPEZ-FRÍAS, M. Effect of processing methods on the calcium, phosphorus, and phytic acid contents and nutritive utilization of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n.7, p. 2807-2812, 1999.

NESTARES, T.; URBANO, G.; LÓPEZ-FRÍAS, M.; BARRIONUEVO, M. Nutritional assessment of magnesium from raw and processed chickpea (*Cicer arietinum* L.) in growing rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, n.8, p. 3138-3142, 1997.

NETO, L. **Germinação de sementes de soja armazenados em bancos de germoplasma**. 2004. 104p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

OLOYO, R.A. Chemical and nutrition quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. **Food Chemistry**, Oxford, v.85, n.4, p.497-502, 2004.

OSBORN, T.W. Elemental composition of soybean meal and interlaboratory performance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.25, n.2, p.229-232, 1977.

PINN, A.B.R.O. **Efeitos das radiações gama sobre a disponibilidade do ferro em feijões (*Phaseolus vulgaris*)**. 1992. 129p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

PORRES, J.M.; ARANDA, P.; LÓPEZ-JURADO, M.; URBANO, G. Effect of natural and controlled fermentation on chemical composition and nutrient dialyzability from beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n.17, p 5144-5149, 2003.

PORRES, J. M.; LÓPEZ-JURADO, M.; ARANDA, P.; URBANO, G. Bioavailability of phytic acid-phosphorus and magnesium from lentils (*Lens culinaris* M.) in growing rats: influence of thermal treatment and vitamin-mineral supplementation. **Nutrition**, Londres, v. 20, n.9, p. 794-799, 2004.

PRESOTO, A. E. F.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; **Abstracts of the 8th International Congresso of Nutrition**, Durban: AOAC Inter., 2005.1012p.

PRODANOV, M.; SIERRA, I.; VIDAL-VALVERDE, C. Effect of germination on the thiamine, riboflavin and niacin contents in legumes. **Z Lebensm Unters Forsch A**, New York, v.205, n.1, p.48-52, 1997.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.; 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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p.200-213, jan./abr. 2008.

SANGRONIS, E.; MACHADO, C.J. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v.40, n.1, p.116-120, 2007.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ-USP, 1974, 56p.

SAUQUILLO, A; BARBERÁ, R; FARRÉ, R. Bioaccessibility of calcium, iron and zinc from three legume samples. **Nahrung**, Stuttgart, v.6, n. 47, p. 438-41, 2003.

SIERRA, I.; VIDAL-VALVERDE, C. Kinetics of free and glycosylated B₆ vitamers, thiamin and riboflavin during germination of pea seeds. **Journal of Science and Food Agricultural**, London, v.79, n.2, p.307-310, 1999.

SNEHALATHA, N. Role of ash no ash components of soy bean, red gram and rag on bioavailability of iron. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v.30, n.4, p.893-897, 1984.

SREENIVASAN, A. Compositional and quality in some irradiated foods. In: **Improvement of Food Quality by Irradiation**, Vienna, p.129-155, 1974.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc software**: usage and reference (version 6). 2 ed. Cary, 1996. 1CD-ROM.

TRUGO, L.C.; DONANGELO, C.M.; TRUGO, N.M.F.; KNUDSEN, E.B. Effect of heat treatment on nutritional quality of germinated legume seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.6, p.2082-2086, 2000.

TRUMBO, P.; YATES, A.A.; SCHLICKER, A.; POOS, M. Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. **Journal of the American Dietetics Association**, Chicago, v. 101, n.1, p. 294-301, 2001.

URBANO, G.; LOPEZ-JURADO, M.; FERNANDEZ, M.; MOREU, M.C.; PORRES-FOULQUIE, J.; FRIAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C. Ca and P bioavailability of processed lentils as affected by dietary fiber and phytic acid content. **Nutrition Research**, New York, v. 19, n.1, p. 49-64, 1999.

URBANO, G.; LÓPEZ-JURADO, M.; FREJNAGEL, S.; GÓMEZ-VILLALVA, E.; PORRES, J.M.; FRÍAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C.; ARANDA, P. Nutritional assessment of raw and germinated pea (*Pisum sativum* L.) protein and carbohydrate by in vitro and in vivo techniques. **Nutrition**, New York, v.21, n.2, p.230-239, 2005.

VAN DOKKUM, W. The concept of mineral bioavailability. In: **Bioavailability of micronutrients and minor dietary compounds. Metabolic and technological aspects**. India: Research Signpost. 2003. p. 1-18.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J.; DIAZ-POLLAN, C.; FERNANDEZ, M.; LOPEZ-JURADO, M.; URBANO, G. Influence of processing on trypsin inhibitor activity of faba beans and its physiological effect. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.45, n.9, p.3559-3564, 1997.

VIDAL-VALVERDE, C., FRIAS, J., LAMBEIN, F.; UO, Y. Increasing the functionality of legumes by germination. In: FOURTH EUROPEAN CONFERENCE ON GRAIN LEGUMES, 2001, Cracow, **Anais em congresso**, Cracow: AOAC IONter, 2001. 422p.

VIDAL-VALVERDE, C., FRIAS, J., SIERRA, I., BLÁZQUEZ, I., LAMBEIN, F.; KUO, Y. New functional legume foods by germination: Effect on the nutritive value of beans, lentils and peas. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v.215, n.6, p.472-477, 2002.

VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCEÉ, H.; BOGNÁR, A. Effect of gamma irradiation on the thiamine, riboflavin and vitamin B6 content in two varieties of Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v.57, n.3/6, p.299-303, 2000.

ZIELINSKI, H.; FRIAS, J.; PISKULA, M.K.; HOZLOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C. The effect of germination process on the superoxide dismutase-like activity and thiamine, riboflavin and mineral contents of rapeseeds. **Food Chemistry**, Oxford, v.99, n.3, p.516–520, 2006.

WEAVER, C.M.; HEANEY, R.P.; PROULX, W.R.; HINDERS, S.M.; PACKARD, P.T. Absorbability of calcium from common beans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n.6, p. 1401-1403, 1993.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n.8. p. 3576- 3580, 2000.

WHITTAKER, P.; SPIVEY FOX, M.R; FORBES, A.L. *In vitro* prediction of iron bioavailability for food fortification. **Nutrition Report International**, New York, v.39, n.6, p.1205-1215, 1969.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesta pesquisa leva a concluir que o broto de feijão germinado no tempo de 96 horas e irradiada na dose 0,15 kGy foram os que obtiveram os melhores valores em relação aos aspectos nutricionais, tornando-se a sua inclusão nos hábitos alimentares da população brasileira relevante. Porém, estudos em longo prazo e em modelos animais podem ser recomendados para avaliar *in vivo* a potencialidade deste alimento na dieta brasileira.

Outra questão importante a ser discutida é sobre as doses de irradiação. No presente estudo foram proposto doses de irradiação baixa (0,05; 0,1 e 0,15 kGy) a fim de estimular o processo de germinação, porém sabe-se que a utilização de baixas doses são extremamente difíceis de serem obtidas em um irradiador com alta taxa de dose radioativa. Com isso, uma das sugestões para novos estudos são a utilização de doses mais elevadas, de fácil obtenção e principalmente que estimule o processo germinativo.

ANEXOS

ANEXO A
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: “Efeitos das radiações gama e do processo de germinação sobre algumas características nutricionais de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).”

Pesquisador Responsável: Patrícia Cristina Corazza Martinez

Orientador (a): Solange Guidolin Canniatti Brazaca

e-mail: pcmartinez@usp.br

Endereço: Rua Dr Alvim, 1523 Ap. 42

Bairro: São Judas Tadeu

CEP: 13416-259

Cidade: Piracicaba, SP

Telefone para contato (inclusive ligações a cobrar): (19)3301-1475

O Sr (a) está sendo convidado (a) como voluntário a participar da pesquisa “Efeitos das radiações gama e do processo de germinação sobre algumas características nutricionais do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), com a justificativa de se obter mais informações relativas à associação dos métodos de radiação e germinação e seus impactos na qualidade nutricional do feijão. A análise será desenvolvida no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP.

Serão selecionados 40 provadores adultos não treinados dentre uma população de adultos saudáveis, de 18 a 50 anos, de ambos os sexos, sem vínculo de subordinação com os pesquisadores. Para o recrutamento dos mesmos serão colocados cartazes espalhados por diversos pontos da ESALQ/USP e também serão abordados pelos pesquisadores para o convite em forma oral. Os provadores avaliarão sensorialmente os grãos de feijões germinados, os grãos irradiados e os grãos irradiados e germinados. Cada provador receberá 10 g de feijão de cada tratamento, que serão servidos em pratos brancos, logo após cozimento, a temperatura de 40°C, sendo cada amostra codificada com números de três dígitos escolhidos de forma aleatória pelo programa Compusense Five (1998).

O Sr. (a) será esclarecido (a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Sempre que quiser poderá pedir mais informações através do telefone da pesquisadora do projeto e, se necessário através do Comitê de Ética em Pesquisa. O Sr. (a) é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. O(s) pesquisador (es) irá (ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa serão enviados para o Sr. (a) e permanecerá confidenciais. Seu nome ou material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão.

A participação nesta pesquisa não traz complicações legais. Os procedimentos adotados obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua saúde. Caso ocorra algum imprevisto associado à participação na pesquisa, os pesquisadores devem ser comunicados para que possam solucionar os eventuais problemas.

Ao participar da pesquisa o Sr. (a) não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo traga informações importantes que deve acrescentar elementos importantes à literatura, onde o pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos. O Sr. (a) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confiro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____, RG _____,
abaixo assinado, concordo em participar do estudo

_____, como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data _____/_____/_____/_____

Nome: _____

Assinatura do sujeito ou responsável: _____

ANEXO B

Análise Sensorial – BROTO DE FEIJÃO

Nome: _____ Idade: _____

Você está recebendo amostras de broto de soja para avaliar quanto aos atributos sensoriais. Indique, usando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou da amostra.

9. Gostei Muitíssimo

4. Desgostei Ligeiramente

8. Gostei Muito

3. Desgostei Moderadamente

7. Gostei Moderadamente

2. Desgostei Muito

6. Gostei Ligeiramente

1. Desgostei Muitíssimo

5. Nem gostei, nem desgostei

CÓDIGO DA AMOSTRA:

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CÓDIGO DA AMOSTRA:

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CÓDIGO DA AMOSTRA:

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CÓDIGO DA AMOSTRA:

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CÓDIGO DA AMOSTRA:

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CÓDIGO DA AMOSTRA:

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

○ Intenção de compra

Qual desses produtos você compraria. Marque com um X.

Código:

☐

Código:

☐

Código:

☐

Código:

☐

Código:

☐

Código:

☐