JORGE MANCINI FILHO

EFEITOS DAS RADIAÇÕES GAMA SOBRE ALGUMAS
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E NUTRICIONAIS DE
FEIJÕES (PHASEOLUS VULGARIS L.) ARMAZENADOS

TESE APRESENTADA À
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO PARA O
CONCURSO DE LIVRE-DOCÊNCIA, JUNTO AO
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
EXPERIMENTAL.

SÃO PAULO
1990

À minha mãe Martha, por toda
dedicação à família.

Ao meu pai Jorge, eterno ba-
talhador dos ideais Paulis-
tas de 1932.

À minha esposa Dalva que em todos os momentos se faz presente.

Aos nossos filhos, Jorgito, Francisco Eduardo e Carlos Renato, pela alegria de nossas vidas.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Titular Franco M. Lajolo, pelo apoio, amizade e oportunidade que nos deu para estarmos na Universidade.

À Prof. Associada Marilene De Vuono Camargo Penteado, pela paciente revisão deste trabalho e pelo incentivo que nos tem dado.

Às acadêmicas e profissionais Érica Keiko Kuga, Joelma Delco, Mirta Fernandes Ribeiro, Rosangela P. Torres, Maria do Socorro O. M. Melo, Vera Lúcia Braz, Mônica de Lello Fonseca, Adriana Baraldi Alves dos Santos e Renata Rangel Schott, pelo auxílio na execução das determinações analíticas.

Ao Prof. Dr. Dirceu Martins Vizeu e a Empresa Brasileira de Radiação (EMBRARAD), pelas irradiações dos feijões.

Ao Prof. Dr. Luiz Trugo do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pelas análises dos oligossacarídeos.

Ao Instituto de tecnologia de Alimentos (ITAL), na pessoa da Dra. Maria Regina Sartori, pelo auxílio nas determinações do tempo de cocção dos feijões.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelos auxílios financeiros que nos permitiram desenvolver todo trabalho experimental.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento para participarmos de Congressos, Nacional e Internacional, onde apresentamos o desenvolvimento deste trabalho.

Às Secretárias Loanda d'Eurydice, Benedita Espírito Santo de Oliveira e Claudia Regina Rosa Denani, pelo pronto atendimento de nossas solicitações.

À Sra. Adélia Peres Rabelo, por cuidar do nosso laboratório.

A todos que direta e indiretamente nos auxiliaram na execução deste trabalho.

S U M Á R I O

	pág.
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1 - Principais Componentes dos Feijões	2
2.1.1 - Proteínas	2
a) Proteínas com atividade biológica	4
b) Significado nutricional das proteí- nas com atividade biológica ..	7
2.1.2 - Carboidratos	14
2.1.3 - Polifenóis	18
2.1.4 - Fitatos	19
2.1.5 - Lípidos	20
2.2 - Características Estruturais Relacionadas com o Endurecimento dos Feijões	22
2.3 - Emprego das Radiações Ionizantes no Processa- mento de Alimentos	27
3 - OBJETIVOS	31
4 - MATERIAIS	32
4.1 - Feijões	32
4.2 - Enzimas e Substratos	32
4.3 - Drogas e Reagentes	32
4.4 - Animais	33
4.5 - Rações	33

BIBLIOTECA
 Faculdade de Ciências Farmacêuticas
 Universidade de São Paulo

	pág.
5 - MÉTODOS	35
5.1 - Irradiação	35
5.2 - Tempo de Hidratação	35
5.3 - Tempo de Cocção	37
5.4 - Cocção	37
5.5 - Composição Centesimal	37
5.6 - Valor Biológico	39
5.7 - Proteínas	40
5.8 - Eletroforese em Poliacrilamida	40
5.9 - Açúcares Redutores e Substâncias Correlatas..	40
5.10 - Atividade da Amiloglicosidase	41
5.11 - Oligossacarídeos	41
5.12 - Fitohemaglutininas	42
5.13 - Antitripsina	42
5.14 - Antiamilase	42
5.15 - Ácidos Graxos	43
5.16 - Análise Estatística	43
6 - RESULTADOS	45
7 - DISCUSSÃO	62
8 - CONCLUSÕES	78
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
- RESUMO	99
- ABSTRACT	100

1 - INTRODUÇÃO

As leguminosas são importantes fontes nutricionais para diversos contingentes humanos. Entre elas 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.

Do ponto de vista nutricional, os feijões do gênero **Phaseolus** são importantes pelo elevado teor protéico, ao redor de 20%, e por apresentarem lisina, o que permite utilizá-los suplementados com cereais⁽¹⁵⁾. O consumo de feijões associados a determinados vegetais permite que o aporte protéico das populações de menor poder aquisitivo seja alcançado, independente das proteínas de origem animal.

Alguns problemas são inerentes a produção, armazenamento, comercialização e consumo dos feijões. Destes, o armazenamento é o que causa maior preocupação, pois além das perdas causadas pelo ataque de insetos e roedores podem ocorrer, também, alterações das características físico-químicas, por transformações estruturais de seus componentes, resultando feijões que apresentam elevada resistência à cocção, com modificações das propriedades organoléticas e nutricionais.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - Principais Componentes dos Feijões

2.1.1 - Proteínas

Nos feijões, 80% das proteínas são consideradas de reserva⁽¹²³⁾. No desenvolvimento dos cotilédones, há duas fases que podem ser caracterizadas, uma inicial onde ocorre intensa divisão celular, seguida por um período de crescimento das células, durante o qual 95% das proteínas de reserva são sintetizadas⁽⁸⁷⁾.

A identificação e quantificação das proteínas dos feijões teve início com OSBORNE, em 1894⁽⁹⁹⁾, a partir daí muitos trabalhos foram realizados e com o avanço das condições metodológicas, diversas particularidades das frações protéicas foram exploradas^(2,17,22). As proteínas de reserva dos feijões são agrupadas nas frações G1 e G2 das globulinas e na fração albumínica, além das glutelinas e prolaminas em menor quantidade^(66,130).

As frações protéicas dos feijões, apresentam diferenças quanto ao aproveitamento biológico e quanto a digestibilidade quando consumidas pelo organismo animal. LANFER-MARQUEZ⁽⁶⁵⁾,

verificou que as frações albumínicas e glutelínicas, apresentam maior valor biológico e digestibilidade (ao redor de 75%), valores estes diferentes dos da fração globulina G1 que apresentam valor biológico menor contra uma digestibilidade de 92%.

Pela deficiência de metionina, o valor biológico das proteínas dos feijões é menor do que o das proteínas de origem animal. JAFFÉ⁽⁴⁹⁾, relata que a adição de 0,3% de metionina aumenta o PER (Razão da Eficácia Protéica). Este aumento no PER pode ser alcançado, também, pela suplementação dos feijões com cereais ou outras proteínas vegetais ricas em metionina. ANTUNES e MARKAKIS⁽⁶⁾, demonstraram sensível aumento no PER de feijões, quando estes foram associados à castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*), que contém grande quantidade de metionina. Verificaram que dietas preparadas com 10% de proteínas de feijões, autoclavadas por 10' a 120°C, apresentaram um PER de 1,53, quando comparadas com a caseína 2,5. Quando estes feijões foram misturados à castanha do Brasil na proporção de 4:1, eles puderam verificar que o PER aumentava para 2,42, valor muito próximo da caseína.

SGARBIERI e WHITAKER⁽¹²³⁾, relataram que a digestibilidade das proteínas dos feijões é também responsável pelo baixo valor nutritivo. Esta parece diminuir em função da quantidade de pigmentos presentes na casca dos feijões. Estes pigmentos em geral são fenólicos e podem interagir com as proteínas formando complexos, acarretando diminuição da digestibilidade do grão. SEIDL et al.⁽¹²⁰⁾, isolaram uma fração do feijão preto correspondente a 30% do total de proteína. Esta fração era resistente à hidrólise pela pepsina, tripsina, quimotripsina e outras enzimas proteolíticas. O nome de globuli-

na inibidora de proteases, foi proposto para esta fração. Os autores concluíram que esta fração era a responsável pela baixa digestibilidade e pelo baixo valor nutritivo das proteínas dos feijões. Diversos trabalhos tem sido realizados visando caracterizar a baixa digestibilidade com a presença de fenólicos, com os inibidores de proteases e amilases e com as lectinas, substâncias presentes nos feijões, como as responsáveis pelo baixo valor nutritivo desta leguminosa (17,23,25,63).

a) Proteínas com Atividade Biológica

Algumas proteínas dos feijões apresentam particularidades que tem sido muito exploradas em diversos campos da ciência, na bioquímica, na farmacologia, na genética, entre outros. Entre elas, destacam-se as proteínas com atividade biológica.

Os inibidores da tripsina, são proteínas presentes nos feijões com diversas particularidades. PUSZTAI⁽¹⁰²⁾, trabalhando com "Kidney beans", isolou um inibidor com peso molecular entre 10.000 e 15.000, rico em cistina, que inibia tanto a tripsina como a quimotripsina. SGARBIERI e WHITAKER⁽¹²²⁾, isolaram três inibidores, da tripsina da variedade Rosinha G2 de **Phaseolus vulgaris**, com pesos moleculares de 18.000 a 18.500 e que apresentaram a propriedade de inibir duas moléculas de tripsina e uma de quimotripsina. As estruturas desses inibidores apresentavam, um resíduo de metionina, baixos teores de glicina, albumina, leucina, tirosina e níveis elevados de serina, treonina, prolina e meia cistina, identificaram também re-

síduos de carboidratos⁽¹⁴¹⁾.

As lectinas ou fito-hemaglutininas são glicoproteínas associadas à fração G2 dos feijões, apresentam peso molecular variado na faixa de 115.000 a 150.000 e ponto isoelétrico entre 5,0 e 6,0. São formadas por quatro subunidades e apresentam na sua constituição de 4,5% a 8,9% de carboidratos, representados por manose, glicosaminas, fucose e em menores proporções xilose e arabinose⁽⁷²⁾. JUNQUEIRA e SGARBIERI⁽⁵⁴⁾, obtiveram lectinas purificadas por cromatografia de afinidade, da variedade Rosinha G2, separando três bandas protéicas.

As lectinas de feijões, em função da estrutura que apresentam, são sensíveis as radiações ionizantes e ao calor. MANCINI-FILHO et al.⁽⁸¹⁾, verificaram que baixas doses (10 Krads e 70 Krads), eram necessárias para destruir 50% das atividades aglutinante e mitogênica, respectivamente, das lectinas quando em solução. Os resultados obtidos com a irradiação indicam que os efeitos aglutinante e mitogênico eram devidos a diferentes estruturas.

YACHMIN e SVENSON⁽¹⁴⁵⁾, trabalhando com preparações comerciais de lectinas, identificaram cinco proteínas heterogêneas, cada uma formada por quatro subunidades; a fração de cada tetrâmero foi denominada de L ou E, em função da afinidade por leucócitos ou eritrócitos, respectivamente. A partir daí, verificaram que em função da proporção das subunidades, as proteínas eram leuco ou hemaglutinantes.

Recentemente, FIGUEROA et al.⁽³²⁾, estudando o efeito das modificações químicas da estrutura das lectinas sobre sua atividade, observaram que a acetilação e a succinilação dos

grupamentos amino, levavam à diminuição da capacidade aglutinante, obedecendo relação inversa com os grupamentos modificados. No entanto, não observaram, na mesma proporção, alteração na capacidade inibidora das dissacaridases, sugerindo que os sítios de ação envolvidos no processo não eram os mesmos. No entanto, puderam verificar expressiva perda da capacidade das lectinas em diminuir as dissacaridases intestinais, quando submetidas à modificação química do triptofano.

Ainda, nos feijões, foram encontradas outras glicoproteínas que apresentam a capacidade de inibir as amilases. Estas substâncias foram objeto de diversas revisões científicas^(18,112,139), abordando estrutura, propriedades físico-químicas e mecanismos de ação.

BOWMAN⁽¹⁴⁾ em 1945, foi o primeiro a constatar a presença dos inibidores das amilases nos feijões através da observação de que seus extratos aquosos diminuíam a atividade da amilase pancreática sobre o amido. JAFFÉ e LETTE⁽⁵²⁾, estudando diferentes variedades de feijões, detectaram a presença e a resistência destes inibidores ao processo digestivo, pela observação da presença de grãos de amido nas fezes de ratos alimentados com os feijões.

A presença da atividade antiamilásica, foi detectada em quinze variedades brasileiras de feijões, dentre as quais a variedade Carioca, por MANCINI-FILHO e LAJOLO⁽⁷⁹⁾. Estes mesmos autores⁽⁸⁰⁾, procuraram identificar a participação das fitohemaglutininas, obtidas comercialmente, no processo de inibição da alfa-amilase salivar e concluíram que as preparações comerciais das fito-hemaglutininas pesquisadas, estavam contaminadas pelo inibidor da amilase.

Diversos estudos cinéticos tem sido realizados com o o propósito de caracterizar as condições de reação da enzima com o inibidor, destacando-se os trabalhos de WHITAKER et al.⁽¹⁴⁰⁾, que observaram a formação de um complexo estequiométrico entre o inibidor e a alfa-amilase pancreática de porco em pH 5,4. TANIZAKI e LAJOLO⁽¹³²⁾, estudaram a cinética de interação do inibidor com a alfa-amilase pancreática, caracterizando em pH 5,5, uma reação de primeira ordem e em pH 6,9, uma reação de segunda ordem.

b) Significado nutricional das proteínas com atividade biológica

Os fatores antinutricionais com estruturas protéicas existentes nos feijões apresentam suas particularidades. Os inibidores das proteases, como o próprio nome indica, apresentam a propriedade de inibir as proteases (tripsina e quimotripsina) do organismo animal. O significado biológico de pequenas quantidades de inibidores foi estudado por RACKIS e MCGHEE⁽¹⁰⁶⁾, que verificaram que a redução de 79 a 87% dos inibidores, deveria ser obtida para se conseguir o crescimento máximo e, cerca de 55 a 69%, para se evitar a hipertrofia pancreática. Os autores também se referem a destruição total dos inibidores tripticos, que por estarem parcialmente sob a forma "ligada", necessitam de tratamento térmico muito mais enérgico, com resultados indesejáveis no valor nutricional e na solubilidade.

Em termos de efeitos fisiológicos, além de dependerem da espécie animal utilizada nos estudos, parece que os

mecanismos que envolvem a toxicidade não podem ser enquadrados em uma só teoria, tendo sido sugerida uma ação múltipla e segundo LIENER⁽⁷⁰⁾, a proporção do inibidor triptico presente no intestino é que definiria o efeito final. Haveria, de um lado proteína não digerida nas fezes, por impedimento da ação da tripsina, e por outro, solicitação maior do pâncreas para o aumento da produção de enzimas, com consequente hipertrofia. Essa maior produção enzimática associada à conhecida deficiência de sulfurados das leguminosas explicaria o efeito positivo da metionina, na diminuição da toxicidade. LYMAN et al.⁽⁷⁶⁾, estudaram a produção de tripsina e quimotripsina em ratos alimentados com e sem o inibidor triptico e lançaram a possibilidade de que este ligar-se-ia fortemente à tripsina, impedindo-a de transformar o quimotripsinogênio em quimotripsina. Como o quimotripsinogênio não consegue parar a secreção pancreática, haveria aumento de secreção enzimática ao nível de luz intestinal.

As lectinas, da mesma forma que inibidores tripticos dos feijões, tem sido também muito estudadas do ponto de vista fisiológico e são frequentemente abordadas em extensivas revisões^(35,50,103).

JAFFÉ⁽⁴⁸⁾, um dos pioneiros no estudo das lectinas, observou que dietas contendo feijões crus, quando fornecidas a ratos, provocavam intoxicações, mesmo quando as proteínas eram previamente digeridas, eliminando-se, assim, a possibilidade dos inibidores das proteases estarem envolvidos no efeito tóxico. JAFFÉ e GOMES⁽⁵¹⁾ e JAFFÉ e LETTE⁽⁵²⁾, trabalhando com diferentes variedades de feijões, determinaram a DL50 das lectinas. Estabeleceram, também, que a atividade aglutinante

das variedades dos feijões estudadas apresentavam relação inversa com a capacidade de induzir o crescimento de ratos.

Analizando quinze variedades brasileiras de feijões, MANCINI-FILHO e LAJOLO⁽⁷⁹⁾, observaram variações das aglutininas quer do ponto de vista toxicológico como hemaglutinante. A partir destas observações puderam classificar experimentalmente os feijões estudados em quatro categorias, em função de respostas das aglutininas frente aos glóbulos vermelhos de bovinos e de coelhos, correlacionando-as com a toxicidade (Tabela 1). Verificaram, também, que o índice de aglutinação com hemácias tripsinizadas de bovino apresentava relação direta com a toxicidade avaliada por via intraperitoneal em camundongos.

PUSZTAI et al.⁽¹⁰⁴⁾, estudando treze variedades de feijões puderam avaliar, comparativamente, a utilização da proteína, digestibilidade e teores de lectinas, observaram que apenas duas variedades não eram tóxicas para ratos, e apresentavam menor atividade aglutinante do que as demais. No entanto, FIGUEROA et al.⁽³¹⁾, verificaram, que o baixo conteúdo de lectina em uma variedade de feijão, não excluía a possibilidade dela ser tóxica.

A interação específica das lectinas dos feijões com resíduos de carboidratos existentes na membrana celular das hemácias, dos linfócitos, dos carcinomas e dos enterócitos foi demonstrada por LIS e SHARON⁽⁷²⁾. Com base nesta propriedade, surgiram hipóteses sobre o possível mecanismo antinutricional. As lectinas poderiam interagir com carboidratos ou glicoproteínas da superfície dos enterócitos, desorganizando o sistema e formando uma barreira, alterando assim, a absorção de nutrien-

TABELA 1 - Classificação dos feijões segundo o título de aglutinação e a toxicidade.

Espécies e variedades	Hemácias de coelho*	Hemácias tripsinizadas de bovino**	Toxicidade I/+	Classificação
Phaseolus vulgaris				
Manteigão Fosco	68,8	17,2	6/5	I
Rico Baio	41,4	20,7	6/2	I
Jalo	317,2	9,9	6/3	I
Pintado	106,9	13,4	6/5	I
Paraná	22,7	5,7	6/5	I
Phaseolus vulgaris				
Costa Rica	2,8	5,5	6/2	II
Piratã 1	4,7	18,8	5/1	II
Phaseolus vulgaris				
Venezuela 350	11,2	2,8	6/0	III
Lavras	10,8	2,7	6/0	III
Rosinha G ₂	2,3	4,6	6/1	III
Bico de Ouro	11,6	1,4	6/0	III
Roxinho	2,5	2,5	6/0	III
Vigna unguiculata	0,0	0,0	6/0	III
Phaseolus vulgaris				
Rico 23	39,6	1,1	6/0	IV
Carioca	21,0	0,7	6/0	IV
Mulatinho Paulista	11,1	—	5/2	—

* Porcentagem do padrão maior que 12, considerada positiva.

** Porcentagem do padrão maior que 5, considerada positiva.

tes. Na avaliação desta hipótese, MANCINI-FILHO⁽⁷⁸⁾, utilizando lectinas purificadas até homogeneidade, por cromatografia de atividade e trabalhando com intestinos invertidos de ratos, alimentados 24h antes com ração contendo lectinas, pode demonstrar diminuição do transporte de glicose, possivelmente pelo bloqueio, ao nível das microvilosidades intestinais.

PUSZTAI et al.⁽¹⁰⁵⁾, observaram que a ingestão de lectinas de feijões por ratos, provocava rompimento dos enterócit^os do duodeno e do jejuno, e que estas alterações dariam lugar a absorção anormal de íons, nutrientes e substâncias tóxicas como as próprias lectinas e suas subfrações.

GRANT et al.⁽³⁵⁾, observaram que grandes quantidades de lectinas de feijões, permaneciam intactas e reativas frente ao processo digestivo, e pela passagem pelo intestino delgado reagiam com os enterócitos. Este processo causava desestruturação das células do intestino, observação, também, feita por ROSSI et al.⁽¹¹⁵⁾, acarretando alterações das funções digestivas, secretoras, absorptivas e protetoras dos enterócitos. Através da análise da ultraestrutura, pode-se verificar que as vilosidades dos enterócitos, nos animais que receberam lectinas, apresentavam-se curtas, irregulares e mais espaçadas, algumas bi ou trifurcadas em uma mesma base de implantação, Figura 1. Além destes efeitos, as lectinas podem passar para a corrente sangüínea, provocando alterações no metabolismo de proteínas, lipídeos e carboidratos.

A possibilidade das lectinas de feijões se ligarem a receptores de carboidratos dos enterócitos e impedirem a indução de enzimas de hidrólise, surgiu da observação feita por

Microvilosidades normais de células epiteliais do terço médio da vilosidade jejunal de animal controle (9.600x).

Microvilosidades curtas e acentuadamente diminuídas em número de células epiteliais do terço médio da vilosidade jejunal de animal que recebeu lectinas (9.600x).

FIGURA 1 - Efeito das lectinas de feijão (*P. vulgaris*) sobre os enterócitos de ratos.

FIGUEROA et al.⁽³¹⁾, analisando a expressiva diminuição na atividade das dissacaridases e hipoglicemia acentuada nos animais que recebiam lectinas na ração. A partir destes resultados os autores sugeriram uma possível interação das lectinas com complexos da membrana contendo maltase/invertase que, desorganizados perderiam sua função. Outra possibilidade estaria associada à ligação inespecífica das aglutininas com a membrana, seguida da ruptura dos enterócitos e conseqüentemente o aparecimento de enterócitos jovens com menor conteúdo de dissacaridases. O efeito mitogênico das lectinas poderia, também, pela propriedade de indução de novas células, estar vinculado às características antinutricionais dos feijões⁽⁷¹⁾.

O inibidor de amilase existente nos feijões tem a propriedade de inibir a ação das amilases sobre o amido tanto "in vitro" como "in vivo". Verificou-se que o inibidor isolado comprometia a digestão do amido e diminuía a glicemia pós-prandial em ratos, que o recebia juntamente com amido, por sonda gástrica⁽⁶⁴⁾. LAJOLO⁽⁶²⁾, em ensaios semicrônicos, observou diminuição da taxa de crescimento dos animais pela administração do inibidor na ração. MENEZES e LAJOLO⁽⁸³⁾, verificaram pela administração do inibidor de amilase em animais diabéticos, diminuição da utilização do amido resultando baixo nível de glicose sérica.

As condições de cultivo, o clima, o tipo de adubação, o período de plantio e colheita, as características genéticas das sementes, são alguns dos fatores que influenciam os teores das substâncias antinutricionais nos feijões⁽⁶⁹⁾. Dentro deste prisma, MANCINI-FILHO e LAJOLO⁽⁷⁹⁾, procuraram relacionar a presença quantitativa das antitripsinas, lectinas, an

tiamilases com a toxicidade, estudando quinze variedades de feijões cultivados em solo brasileiro, Tabela 2.

Devido as diferentes propriedades dos "fatores anti-nutricionais" presentes nos feijões, estes tem sido objeto de estudos de fisiologistas, bioquímicos, nutricionistas e tecnólogos, com o propósito de se conhecer as estruturas, mecanismos de ação, aplicação em novas metodologias e, ainda, estimar o alcance da ação destes compostos na alimentação humana e animal.

2.1.2 - Carboidratos

Os feijões (**Phaseolus vulgaris**, L.) apresentam na sua composição cerca de 65% de carboidratos. Esta fração é representada por mono, oligo e polissacarídeos. Somente pequena porção de monossacarídeos se encontra sob a forma livre, a maior parte se apresenta como componente de glicosídeos ou como unidades de oligo e polissacarídeos. Entre os oligossacarídeos, além da maltose e sacarose, ocorrem também a estaquiose, a verbascose e a rafinose, os quais são considerados como responsáveis pela flatulência induzida pelo consumo de feijões. Entre os polissacarídeos, o amido é o elemento presente em maior quantidade, além da celulose, da hemicelulose e da lignina⁽¹²⁹⁾.

O amido presente nos feijões é representado por dois tipos de polímeros de glicose, a amilose, uma estrutura linear consistindo de ligações alfa 1,4 de unidades de glicose e a amilopectina, que apresenta cadeia ramificada com ligações alfa 1,6 a cada 30 ligações de glicose alfa 1,4⁽¹²⁵⁾.

TABELA 2 - Atividade aglutinante, tóxica, antitriptica e antiamilásica de feijões.

Espécies e variedades	Atividade aglutinante segundo a hemácia*				Toxidez ** 1/+	Antitrip- sina ***	Antiami- lase****
	Coelho trypsiniza- da	Coelho	Eqüino	Bovino trypsiniza- da			
Phaseolus vulgaris							
Venezuela 350	11,2	11,2	2,8	2,8	6/0	86,72	5,84
Rico 23	4,3	39,6	4,3	1,1	6/0	57,44	4,28
Manteigão Fosco	68,8	68,8	17,2	17,2	6/5	33,63	4,01
Rico Baio	20,7	41,4	82,7	20,7	6/2	95,72	5,21
Jalo	19,8	317,2	39,6	9,9	6/3	79,37	4,85
Lavras	43,2	10,8	21,6	2,7	6/0	88,30	5,00
Carioca	10,5	21,0	10,5	0,7	6/0	64,23	4,84
Pintado	26,7	106,9	26,7	13,4	6/5	101,85	6,73
Paraná	362,8	22,7	22,7	5,7	6/5	77,85	5,73
Rosinha G ₂	36,6	2,3	9,1	4,6	6/1	49,52	4,93
Costa Rica	44,2	2,8	11,0	5,5	6/2	89,69	5,84
Bico de Ouro	372,6	11,6	2,9	1,4	6/0	87,78	6,46
Piratã 1	18,8	4,7	18,8	18,8	5/1	81,84	4,85
Roxinho	9,9	2,5	0,3	2,5	6/0	47,79	4,62
Mulatinho Paulista	356,2	11,1	44,5	—	5/2	77,48	5,18
Vigna unguiculata	0,0	0,0	0,0	0,0	6/0	—	—

* % da atividade hemaglutinante específica relativa ao padrão.

** medida em camundongos intraperitonealmente; I = inoculado; + = mortos

*** unidades de tripsina inibidas (U.T.I.) sobre a quantidade de proteína em mg.

**** % de inibição da amilase sobre a quantidade de proteína em mg.

A amilose é considerada uma das responsáveis pelas mudanças físico-químicas dos feijões no processo de entumescimento⁽¹²⁷⁾. Há grande variação do conteúdo de amilose da fração amido das leguminosas, existindo grande dificuldade metodológica na quantificação da amilose quando na presença da amilopectina⁽¹²⁸⁾.

Diversas mudanças ocorrem com o amido em sistemas aquosos, desde o entumescimento até aumento da solubilidade e perda anisotrópica ou birrefringência. Estas mudanças são caracterizadas como gelatinização. ELBERT e WITT⁽²⁶⁾, estudaram o curso da gelatinização do amido de feijões, antes e após a cocção em água, observando que o baixo teor de umidade inicial estava associado à baixa tendência do amido em gelatinizar "in situ". SHATE et al.⁽¹²⁶⁾, verificaram que a viscosidade do amido foi afetada pelo pH e pela presença de sais no meio. A adição de cloreto de sódio, diminuiu a viscosidade do amido durante o aquecimento, sendo que esta modificação estava relacionada com a capacidade do "sal" em diminuir a capacidade de hidratação do amido. Observaram, também, que o pH, tanto alcalino como ácido, afetava irreversivelmente a viscosidade do amido. O pH alcalino apresentou efeito mais pronunciado sobre a viscosidade do que o pH ácido, esta diferença pode ser atribuída a peptização do amido em pH alcalino. A redução da viscosidade observada nos dois pHs: ácido [4,5] ou alcalino [10,5], foi provavelmente devida a liberação de açúcares através de hidrólises parciais.

Uma das características do amido dos feijões é a elevada temperatura [60°C - 70°C] para se iniciar a gelatinização. Esta é influenciada pelo tamanho e pela conformação dos

grãos, pela carga iônica, pela presença de lípides e ou proteínas e, também, pelo peso molecular e índice de ramificação da fração⁽¹²⁵⁾. VARRIANO-MARSTON e de ORNANA⁽¹³⁶⁾, observaram que muitos grânulos de amido do feijão apresentam alguma birrefringência, mesmo após longo período de cocção, indicando gelatinização incompleta. A resistência do amido dos grãos de feijões à gelatinização, pode ser atribuída a barreiras de estrutura celular, como as paredes das células, as estruturas protéicas e fatores inerentes ao próprio grão de amido.

Além do amido, entre os carboidratos dos feijões, é dada grande ênfase ao estudo dos oligossacarídeos da família da rafinose (verbascose, estaquiose, rafinose), que apresentam na sua constituição resíduos de alfa-galactosidoglicose e alfa-galactosidogalactose. Duas enzimas (invertase e alfa-galactosidase) seriam necessárias para hidrólise completa destes açúcares, quando estes oligossacarídeos são ingeridos pelo organismo humano. Desde que o trato gastrointestinal não contém alfa-galactosidase, o processo metabólico destes açúcares é incompleto. Estudos tem demonstrado que estes oligossacarídeos estão envolvidos no processo de formação de gases no organismo, produzindo grandes quantidades de hidrogênio, dióxido de carbono e pequena quantidade de gás metano⁽¹³⁸⁾.

Quanto a digestibilidade dos carboidratos de feijões, poucos trabalhos foram realizados. GANESHKUMAR e VENKATARAMAN⁽³³⁾, relatam a digestibilidade "in vitro" antes e após a germinação do grão. O aumento da digestibilidade em função do grau de germinação é atribuído a digestão "in situ" do amido por enzimas amilolíticas durante o processo de germinação.

RAO e RAO⁽¹⁰⁸⁾, verificaram a influência do amido purificado de leguminosas, sobre a utilização das proteínas no crescimento de ratos. Observaram que o amido do feijão, reduziu a utilização da proteína resultando em menor ganho de peso quando comparado com o amido proveniente do trigo.

2.1.3 - Polifenóis

Os principais representantes dos polifenóis nos feijões são os taninos e os flavonóides. O termo tanino é utilizado para caracterizar um grupo de substâncias com propriedades comuns mas com estruturas diferentes. Os taninos são caracterizados como compostos fenólicos, solúveis em água com peso molecular na faixa de 500 a 3000 daltons, apresentam a propriedade de precipitar alcalóides e proteínas⁽¹²⁹⁾.

Os taninos reagem com as proteínas através de ligações de hidrogênio, força iônica ou ligações covalentes, formando um complexo tânico-protéico. Os taninos com peso molecular menor que 2000 formam complexos mais estáveis com as proteínas através de ligações covalentes⁽⁷⁴⁾.

Os taninos em função da estrutura podem ser classificados em dois grupos distintos: hidrolisáveis e condensados. O ácido tânico é um exemplo de tanino hidrolisável, pois libera uma molécula de glicose e sete ou menos de ácido gálico. Um exemplo de tanino não hidrolisável é o elagitanino o qual apresenta diversas moléculas de ácido gálico e seus derivados⁽¹¹⁷⁾.

A resistência dos taninos à hidrólise é o resultado da condensação de duas ou mais moléculas de flavonóides, atra-

vés de um processo desencadeado pela autoxidação⁽⁴⁰⁾ ou por uma via enzimática, por ação da polifenoloxidase⁽⁴¹⁾.

Os taninos dos feijões são formados a partir da polimerização de polifenóis e são caracterizados como não hidrolisáveis, pois não são encontradas moléculas de glicose, após hidrólise. Os taninos dos feijões estão localizados principalmente na casca do grão. BRESSANI e ELIAS⁽¹⁶⁾, verificaram que em função da cor o feijão pode ter maior ou menor quantidade de polifenóis. Observaram também que no feijão branco havia cerca de 0,38% de polifenóis enquanto o feijão preto apresentava cerca de 1,04% de polifenóis expressos como ácido tânico. Estes autores, observaram ainda, que o feijão branco apresentava maior digestibilidade e menor quantidade de ácido tânico do que os feijões coloridos. A presença de polifenóis nos feijões pode diminuir a digestibilidade pela inibição de enzimas digestivas ou através de reações com proteínas diminuindo a disponibilidade de amino-ácidos.

2.1.4 - Fitatos

O mioinositol hexafosfato é encontrado nos feijões e é considerado a principal fonte de fósforo da semente. O ácido fítico é encontrado na faixa de 0,54 a 1,58% do peso seco do grão. LOLAS e MARKAKIS⁽⁷³⁾, também, observaram que 99,6% do ácido fítico se apresentava solúvel em água. Estes autores isolaram um complexo fitato-proteína dos feijões.

As principais implicações fisiológicas do ácido fítico estão relacionadas com a propriedade de complexar minerais

como: cálcio, magnésio, ferro, zinco e molibdênio, diminuindo a disponibilidade destes no trato digestivo⁽⁹⁷⁾.

Os fitatos também podem reagir com proteínas. BOURDILLON⁽¹³⁾, extraiu de feijões (**Phaseolus**) um complexo de ácido fítico com proteínas, contendo 0,48% de fósforo.

A estrutura dos fitatos, fornece elevado potencial que permite quelar cátions mono e divalentes, através de ligações iônicas mediadas por proteínas, STANLEY e AGUILERA⁽¹²⁹⁾. Algumas evidências reforçam esta observação; a localização celular dos fitatos é próxima das estruturas protéicas de reserva e os corpos protéicos, também, podem ser um depósito para reservas minerais.

Os fitatos podem ser removidos das sementes através de um processo de difusão, pois apresentam elevada solubilidade em água, ou através de hidrólise enzimática. CHANG et al.⁽¹⁹⁾, observaram que feijões embebidos por 10 horas a 60°C, perdiam quase que totalmente o conteúdo de fitato, através de hidrólise (75%) e por difusão (25%) para água de embebedimento.

A enzima responsável pela catálise hidrolítica do fitato é a fitase (fosfohidrolase) que produz o inositol e ácido fosfórico na razão de 1:6. ESKIN e WIEBE⁽³⁰⁾, demonstraram a presença de fitase principalmente em sementes em germinação.

2.1.5 - Lípidos

Os feijões apresentam ao redor de 1,5% de lípidos na sua constituição. O conteúdo da fração lipídica pode variar

também, em função da variedade, origem, local, clima, condições ambientais e tipo de solo no qual eles foram cultivados. Os lípidos neutros são a classe predominante dos lípidos nos feijões e são representados pelos triglicerídeos, acompanhados de pequenas porções de ácidos graxos livres, esteróis e ésteres de esteróis. Fosfolípidos e glicolípidos, substâncias presentes nas membranas das sementes, também são encontradas na fração lipídica⁽¹²⁵⁾.

A porcentagem de ácidos graxos saturados na fração lipídica dos feijões está ao redor de 12%, sendo o ácido palmítico o principal representante, enquanto os insaturados ocupam 65% dos ácidos graxos, apresentando cerca de 27% de ácido linoléico e 45% de ácido linolênico, como principais representantes dos ácidos graxos insaturados⁽¹³³⁾.

Os lípidos presentes nos feijões podem se decompor, devido ao elevado potencial de oxidação podendo ocorrer, por ação da lipoxidase, oxidação pela via enzimática ou através de fatores ambientais, como luz, calor, radiações ionizantes a autooxidação⁽⁹⁴⁾. Ambas produzem hidroperóxidos que se decompõem em compostos de cadeia menor. Os radicais peroxila e carbonila que se formam pelo processo oxidativo, podem reagir com proteínas formando radicais livres de proteínas, que por sua vez podem reagir entre si levando a formação de polímeros protéicos. ROUBAL e TAPPEL⁽¹¹⁶⁾, observaram que o dano causado pela oxidação é similar àquele produzido pela irradiação, mas menos efetivo. Verificaram, também, que a metionina, a histidina, a lisina eram as estruturas mais lábeis ao processo oxidativo.

2.2 - Características Estruturais Relacionadas com o Endurecimento dos Feijões

Do ponto de vista tecnológico, o endurecimento é caracterizado pelo aumento do tempo de cozimento necessário para que os grãos atinjam as condições de maciez aceitáveis pelo consumidor. No entanto, existem diversos fatores que podem influenciar na velocidade de endurecimento dos feijões. Dentre estes, destacam-se a umidade do grão, a temperatura, a umidade relativa do meio e o tempo de armazenamento. Normalmente, feijões armazenados sob condições de elevada umidade relativa (70%-80%) e temperatura entre 25°C e 35°C, características ambientais dos países da zona tropical, estão sujeitos a um processo acelerado de endurecimento. Estes fatores, podem induzir à diversas alterações estruturais que tem despertado a atenção de vários pesquisadores. Devido a isto, diversos trabalhos tem sido realizados e várias revisões foram publicadas^(4, 7, 82, 123, 129).

Os feijões no estado maduro, logo após a colheita, apresentam cerca de 20% de umidade, são normalmente secos no campo até 10% de umidade e armazenados sob condições ambientais. O preparo dos feijões para atingir as condições de consumo, inclui embeбimento em água e cozimento a pressão atmosférica ou alta pressão. Estas formas de processamento, levam a inativação quase total dos fatores antinutricionais, aumento da digestibilidade, desenvolvimento de características de palatabilidade desejáveis com o amolecimento da casca e dos cotilédones⁽¹²⁹⁾. O não amolecimento do grão, dentro dos padrões organoléticos, durante o processo de cocção, é um dos principais

problemas relacionados com o consumo ou aceitação do feijão pelo consumidor. O alcance de uma textura desejável durante o processamento, pode estar relacionado com as características do grão, que algumas vezes não apresentam as condições necessárias para se atingir o embeбimento adequado. A absorção de água pelo grão é um fator de grande importância, pois a água tem participação nas reações que ocorrem durante o processo de cocção. Alguns fatores interferem na absorção de água, pelo grão, destacando-se a casca. A casca é a primeira barreira do processo de penetração da água no grão. De acordo com estudos realizados por SEFA-DEDEH e STANLEY⁽¹¹⁹⁾, a grossura da casca e o tamanho do hilo são os responsáveis pela maior parte da água absorvida pela semente nas primeiras doze horas do período de embeбimento.

STANLEY e AGUILERA⁽¹²⁹⁾, demonstraram que o aumento da resistência da casca à absorção de água, parece estar relacionado com o processo oxidativo, via enzimática, de monofenóis, os quais produzem complexos de polifenóis que podem interagir com proteínas resultando em "feijões de casca dura". A outra possibilidade é aquela em que a semente embebe água mas não amolece durante o processo de cocção. Este mecanismo difere do endurecimento da casca pela polimerização dos compostos fenólicos, e se caracteriza como resultante de "feijões difíceis para cozinhar".

A fase inicial do processamento dos feijões é a capacidade de hidratação. Esta fase depende principalmente das características físico-químicas e morfológicas do grão, que são as responsáveis pelas mudanças desencadeadas durante o processo de cocção, desde a etapa inicial de absorção de água, como

as condições físicas de tempo "versus" temperatura, necessárias para se atingir a textura desejada. No entanto, no caso do endurecimento do grão, as condições normais de processamento são alteradas, havendo necessidade de maior dispêndio de energia com a obtenção de um produto fora das características de aceitabilidade do consumidor⁽²⁷⁾.

A composição diversificada dos feijões, torna mais difícil a integração dos diversos componentes com o processo de endurecimento. No entanto, existem trabalhos que procuram caracterizar a participação de determinadas substâncias no processo de endurecimento de feijões.

A presença de polifenóis na casca dos feijões tem sido objeto de estudos que procuram avaliar a influência destes compostos sobre a dureza do grão. MEJIA⁽⁸²⁾, observou diminuição significativa do conteúdo de polifenóis durante o armazenamento, sendo que esta diminuição foi acompanhada por um aumento de polifenoloxidase, da dureza e do tempo necessário para cocção do grão. As condições de armazenamento a que o grão foi submetido, à temperatura e a umidade mais elevadas, acarretou maior diminuição da catequina, que está relacionada com a atividade da polifenoloxidase a qual promove a polimerização dos compostos fenólicos.

Inicialmente, fenóis se oxidariam a quinonas, as quais se polimerizariam. Outra possibilidade da influência dos fenóis com o endurecimento, seria a formação de complexos destes com as proteínas⁽⁸⁸⁾. ELIAS⁽²⁷⁾, verificou que a fração da proteína lignificada dos cotilédones de feijões armazenados a 25°C era maior do que dos feijões armazenados a 4°C. Existem diversos trabalhos que procuram caracterizar a participa-

ção dos polifenóis no processo de endurecimento^(43,100). Pelos resultados obtidos até o momento, é possível que os polifenóis possam estar relacionados com a resistência do grão ao processo de cocção, através de dois mecanismos, por sua polimerização na casca ou pela lignificação do cotilédone, ambos afetando a capacidade de hidratação da semente; o primeiro dificultando a penetração da água e o segundo limitando a capacidade de embeбimento.

RIVERA et al.⁽¹¹³⁾, estudaram os efeitos do pré-tratamento e das condições de estocagem sobre a inativação da peroxidase. A peroxidase, também, tem sido caracterizada como participante do processo de lignificação dos feijões, catalizando a polimerização de unidades fenólicas. Feijões armazenados sob condições tropicais, demonstraram expressiva diminuição na atividade da peroxidase, que estaria associada à ligação da enzima a parede celular, catalizando a formação de lignina.

A parede celular é formada principalmente de celulose, hemicelulose e substâncias pecticas. A lamela média, consiste em grande parte de sais de cálcio de polímeros do ácido galacturônico parcialmente esterificado. Estudos realizados por HAHN et al.⁽³⁶⁾, do processo de gelatinização intracelular do amido, em feijões embebidos em água e solução salina e submetidos ao processo de cocção, demonstraram que as paredes celulares permaneceram intactas na temperatura de gelatinização. Não foram observadas dilatação e nem projeção dos grãos de amido, não se observaram mudanças da microestrutura da semente durante todo processo de cocção.

ROCKLAND e JONES⁽¹¹⁴⁾, demonstraram que o processo

de cocção envolve no mínimo quatro mudanças químicas e ou físicas:

- a)- Liberação parcial de cálcio e magnésio, na água de cocção;
- b)- Rápida gelatinização intracelular do amido;
- c)- Solubilização parcial dos componentes da lamela média com separação e ruptura das células do grão;
- e) Denaturação lenta e progressiva das proteínas.

MULLER⁽⁹¹⁾, sugeriu que a maciez da semente era devida a reação de fitatos com pectatos de cálcio e magnésio, presentes na parede celular, transformando-os em pectatos solúveis de sódio e potássio, ocorrendo reações semelhantes com o ácido fítico e fitatos e que estes, também, teriam influência na textura do grão. Outra possibilidade seria a formação de um complexo dos fitatos com as proteínas. JONES e BOULTER⁽⁵³⁾, observaram que feijões armazenados a elevadas temperaturas e umidade, continham 35% menos fitato do que a amostra controle. Da mesma forma KON e SANSHUCK⁽⁵⁸⁾, observaram que a redução dos fitatos promovia aumento no tempo de cocção. Estes resultados sugerem que a diminuição dos teores de fitatos é um bom indicador no aumento da dureza do grão. O embebimento de feijões endurecidos em soluções, contendo fitatos ou agentes quelantes como EDTA, antes do aquecimento, reduz o tempo de cocção.

SEFA-DEDEH e STANLEY⁽¹¹⁹⁾, através de estudos da microestrutura de grãos demonstraram a participação da lamela média, no processo de cocção, e puderam verificar um rompimento incompleto nos grãos com problemas de endurecimento.

O amido, durante a cocção sofre um processo de solu-

bilização e difusão, promovendo um aumento da adesão celular. Esta seria resultante da liberação da amilose através das paredes celulares, promovendo a união das células por ligações de hidrogênio com polissacarídeos da parede celular. Assim, este mecanismo dependeria de algumas propriedades físico-químicas do amido, tais como solubilidade e poder de hidratação⁽⁶¹⁾. HELLENDORF⁽⁴²⁾, procurou relacionar a dureza do grão de feijão com o processo de retrogradação do amido, estabelecendo parâmetros com as alterações do amido do arroz durante o armazenamento.

2.3 - Emprego das Radiações Ionizantes no Processamento de Alimentos

Os termos energia ionizante e radiação ionizante tem sido utilizados para descrever os raios-X, as radiações gama e a aceleração de elétrons. Estas formas de energia podem ser empregadas no processamento de alimentos, apresentando a propriedade de penetrar nos alimentos, promovendo o aparecimento de íons em algumas moléculas. Os íons formados são muito reativos e prontamente reagem com elementos da própria molécula levando à sua decomposição ou reação com outras moléculas para formarem estruturas mais estáveis. As estruturas formadas a partir das radiações ionizantes são denominadas de produtos radiolíticos. Diversas pesquisas tem sido desenvolvidas, há mais de 30 anos, visando os produtos da radiólise, para descobrir a origem, a quantidade formada, a relação com o alimento, a forma de energia absorvida e o efeito das condições de processamento. Estas pesquisas tem sido realizadas em diferen-

tes países e devido ao grande potencial das energias ionizantes no processamento de alimentos, algumas organizações como: FAO, Agência Internacional de Energia Atômica e a OMS, também estão diretamente envolvidas financiando diversos projetos^(37,142,144).

No processamento de alimentos, doses de até 1000 "Krad" ou 10 "Kilograys" são consideradas baixas ou médias. Diversas publicações tem sido apresentadas, visando o estudo da formação de compostos nos alimentos a partir destas doses^(28,84). Alguns princípios importantes tem sido caracterizados, destacando-se:

- De modo amplo, considera-se que uma molécula é transformada quando 100 elétrons volt de energia são transferidos para o alimento.
- A energia ionizante, absorvida pelo alimento, é distribuída entre os vários componentes na proporção em que cada um está presente no alimento.
- Os produtos radiolíticos dos principais componentes dos alimentos, tais como proteínas, carboidratos e gorduras, não são afetados pela presença de outros componentes dos alimentos.
- Todos produtos radiolíticos conhecidos, derivados dos principais componentes dos alimentos, são encontrados em alimentos não processados ou em alimentos submetidos a tipos aceitáveis de processamento, como a cocção.

Uma das grandes preocupações do emprego das radiações ionizantes na tecnologia de alimentos, reside nas implicações toxicológicas dos compostos formados pela radiólise. Diversos trabalhos foram realizados visando a caracterização dos compostos formados em alimentos a partir das radiações ionizantes, destacando-se os trabalhos dos seguintes grupos: NAWAR⁽⁹²⁾, MERRIT⁽⁸⁵⁾, TAUB⁽¹³⁴⁾, entre outros.

BARNA⁽¹¹⁾, fez extensa revisão dos resultados de

1.221 trabalhos feitos até 1979, com 278 tipos de alimentos tratados com radiações ionizantes. Estudos visando avaliar os efeitos agudos de toxicidade, foram conduzidos pelo Departamento Médico do Exército dos Estados Unidos, analisando 48 tipos de alimentos, tratados com doses de 0; 27,9 e 55,8 kilograys e fornecidos para ratos recém-desmamados, durante oito semanas, não sendo observada qualquer alteração do ponto de vista toxicológico nos animais⁽¹⁰⁷⁾. Outro ensaio, mais pormenorizado, foi realizado com vinte e um alimentos irradiados com 27,8 ou 55,6 kilograys. Estes foram fornecidos na proporção de 35% do total de sólidos da dieta, durante dois anos para quatro gerações de ratos, camundongos, cachorros e macacos. A partir dos resultados desta pesquisa se concluiu que alimentos tratados com energia ionizante até 55,6 kilograys a partir de fontes de cobalto 60 ou aceleradores de elétrons com energia até 10 milhões de elétron volt se mostraram seguros e adequados nutricionalmente⁽¹³¹⁾.

Trabalhos mais recentes, relatam o emprego de 58 kilograys, provenientes de fontes de cobalto 60 ou aceleradores de elétrons, na esterilização de carne de frango, com o objetivo de se estudar a qualidade nutricional, mutagenese, teratogenese, toxicidade e toxicidade genética do produto⁽¹⁴³⁾. As dietas contendo carne de frango irradiada apresentaram melhor coeficiente de eficácia protéica; quanto aos aspectos mutagênico, teratogênico e toxicológico, não foram observadas alterações significativas. De acordo com THAYER e WIERBICK⁽¹³⁵⁾, os poucos aspectos negativos encontrados, foram contestados pelo U.S. Department of Agriculture.

Do ponto de vista estrutural, cada componente do alimento responde de forma específica às radiações ionizantes. Os

monossacarídeos podem formar: ácidos glucorônico, glucônio e sacárico; glioxal; arabinose; eritrose e dihidroxicetona. Oligossacarídeos podem formar monossacarídeos; polissacarídeos como amido, celulose ou glicogênio, podem formar unidades menores como glicose, maltose e dextrinas⁽¹⁾. As proteínas podem sofrer radiólise, ocorrendo aumento de amino ácidos livres. Os amino-ácidos sulfurados e aromáticos, são mais sensíveis a irradiação do que os demais. As reações químicas provenientes da irradiação de proteínas, da mesma forma que as que ocorrem com os carboidratos, dependem de diversos parâmetros, como: estrutura e estado da proteína (fibrosa ou globular, nativa ou denaturada, composição, presença de outras substâncias, umidade, se no estado líquido ou congelado) e as próprias condições da irradiação como: dose, temperatura, presença de oxigênio. Modificações permanentes das proteínas irradiadas, incluem: desaminação, descarboxilação, redução das ligações dissulfeto, oxidação dos grupos sulfidrila, modificações das moléculas dos amino ácidos, quebra ou agregação das ligações peptídicas⁽²¹⁾. As reações químicas resultantes da irradiação dos lípides, são também, dependentes de diversos fatores, como composição dos ácidos graxos (saturados ou insaturados), a presença de outras substâncias como antioxidantes, e se a fração lipídica está no estado sólido ou líquido. Especificamente, com os lípides as condições de armazenamento (temperatura e umidade) também são de grande importância⁽⁹³⁾.

3 - OBJETIVOS

Dentro da perspectiva das modificações físico-químicas que ocorrem com os feijões durante o armazenamento sob condições de temperatura e umidade mais elevadas, e somando-se o potencial radiolítico das radiações ionizantes, nos propusemos a "verificar os efeitos das radiações ionizantes sobre aspectos químicos, físicos e nutricionais de feijões (**Phaseolus vulgaris** L.) armazenados, que perderam a possibilidade de comercialização".

4 - MATERIAIS

4.1 - Feijões

Foram utilizados feijões (**Phaseolus vulgaris** L.) das variedades Catu, armazenados por 9 e 12 meses; Rajado, armazenados por 12 meses, provenientes do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas, SP, e da variedade Carioca, provenientes da Estação Experimental de Lavras, MG, e armazenadas por 60 meses.

4.2 - Enzimas e Substratos

Tripsina de pâncreas bovino, duas vezes cristalizada, tipo II da Sigma; tripsina 1:250 da Difco. Amiloglicosidase (**Rhizopus** sp), pancreatina grau VI e pepsina da Sigma. Termamyl 120L (alfa-amilase do **Bacillus licheniformis**) da Novo Industri do Brasil. Amido solúvel da Baker e benzoil DL arginina p-nitroanilida (BAPNA) da Sigma.

4.3 - Drogas e Reagentes

Reativo de Folin-Ciocalteu da Qeel, albumina bovina cristalizada da Merck, glicose p.a. da Mallinckrodt, tris da

Reedel-Hanover, acrilamina da BDH, bis da Sigma; riboflavina da Merck, Coomassie Blue da Sigma; os demais reagentes foram todos p.a., provenientes de laboratórios conceituados.

4.4 - Animais

Foram utilizados ratos (**Rattus norvegicus**) albinos recém-desmamados, machos, provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

4.5 - Rações

As rações foram preparadas para conter 10% de proteíínas provenientes dos feijões controle e irradiados e utilizadas no ensaio biológico. Além das proteínas dos feijões ou da caseína (controle), as rações continham, também, 5% de óleo de soja; 3,5% de mistura salina; 1% de mistura vitamínica ; 1% de celulose na ração das misturas salina e vitamínica e a técnica do preparo das rações foi descrita anteriormente⁽⁷⁸⁾. As rações preparadas com as amostras de feijões da variedade Carrioca foram suplementadas com 0,16% de metionina. Nas Tabelas 3 e 4 estão as determinações das composições centesimais das rações preparadas com os feijões das variedades Rajado e Carrioca, respectivamente.

TABELA 3 - Composição centesimal das rações preparadas com feijão Rajado.

Fração \ Dose Mrads	Dose Mrads				
	0	0,1	0,2	0,5	1,0
Umidade	8,2	8,1	10,2	9,1	8,2
Proteínas	13,2	13,5	11,0	12,3	13,2
Lípides	5,9	5,9	5,8	5,6	5,9
Cinzas	3,5	3,6	3,2	3,5	3,5
Nifext*	69,2	68,9	68,9	69,5	69,2

* Extrato Livre de Nitrogênio, calculado por diferença.

TABELA 4 - Composição centesimal das rações preparadas com feijão Carioca.

Fração \ Dose Mrads	Dose Mrads				
	Controle Caseína	0	2,5	5,0	10,0
Umidade	7,8	10,6	10,2	9,9	7,1
Proteínas	10,0	10,3	11,6	10,2	11,8
Lípides	5,6	5,7	6,0	5,9	5,9
Cinzas	2,4	3,5	3,2	3,9	3,9
Nifext*	74,2	69,9	69,0	70,1	71,3

* Extrato Livre de Nitrogênio, calculado por diferença.

5 - MÉTODOS

5.1 - Irradiação

As amostras de feijões foram irradiadas com raios gama de uma fonte de cobalto 60 da Empresa Brasileira de Radia-ção (EMBRARAD), Cotia, São Paulo, recebendo os seguintes trata-mentos:

Rajado e Catu - doses de radiação de 0 até 1,0 Mrads.

Carioca - doses de radiação de 0 até 20,0 Mrads.

Acrílico vermelho, "red acrylic system", calibrado contra solução de sulfato cérico foi utilizado como dosímetro das irradiações. A temperatura de irradiação ficou entre 40° e 45°C.

5.2 - Tempo de hidratação

A velocidade de hidratação foi determinada segundo a técnica descrita por MORRIS et al.⁽⁹⁰⁾. Aproximadamente 20 gramas das amostras de feijões, foram pesadas e transferidas para um erlenmeyer de 125ml, acoplado a uma proveta com 50ml de água destilada, tendo uma tela de aço inox separando os dois recipientes, Figura 2. Medidas da absorção de água pelos

FIGURA 2 - Sistema utilizado na determinação do tempo da hidraatação.

feijões, foram efetuadas a cada 15 minutos, até se alcançar um volume constante.

5.3 - Tempo de Cocção

O tempo de cocção foi medido no aparelho descrito por JACKSON e VARRIANO-MARSTON⁽⁴⁷⁾, Figura 3. As amostras de feijões foram previamente embebidas, com água destilada, por 17 horas à temperatura ambiente. Um grão de feijão foi colocado embaixo de cada uma das 25 hastes e o sistema foi introduzido em um becker de dois litros com água destilada em ebulição. O tempo de cocção foi determinado, em duplicata, pela queda ou penetração de treze hastes nos respectivos grãos.

5.4 - Cocção

Para o preparo das rações, os feijões foram cozidos pelos tempos obtidos no aparelho apropriado, conforme item 5.3, acrescidos de mais 30 minutos, tempo aproximado para cocção total. Após a cocção os feijões foram secos a uma temperatura de 60°C em estufa ventilada e após, foram determinados os teores protéicos pelo método de Microkjeldahl⁽¹⁰⁾.

5.5 - Composição Centesimal

As determinações da composição centesimal dos feijões e das rações, foram feitas de acordo com os métodos físi

FIGURA 3 - Aparelho utilizado na determinação do tempo de cocção dos feijões (*P. vulgaris*), segundo JACKSON e VARRIANO-MARSTON⁽⁴⁷⁾.

co-químicos padronizados pela AOAC⁽¹⁰⁾, com exceção da determinação da fração fibra. Foram feitas em duplicata as seguintes determinações: umidade, cinzas, extrato etéreo e nitrogênio total.

Na determinação da fração fibra, utilizou-se o método enzimático⁽⁹⁾. A primeira digestão da amostra foi feita com termamyl, sendo em seguida tratada com pepsina e após com pancreatina. O material não digerido foi filtrado e seco até peso constante. Esta metodologia permite identificar tanto a fibra insolúvel como a solúvel.

5.6 - Valor Biológico

Na determinação do coeficiente de eficácia protéica (CEP), foram utilizados grupos de 6 ratos recém-desmamados e constou de dois ensaios. Um de curta duração (sete dias), com o feijão Rajado irradiado nas doses de 0; 0,1; 0,2; 0,5 e 1,0 Mrad e outro mais longo (vinte e dois dias) com o feijão Carioca irradiado nas doses de 0; 2,5; 5,0 e 10,0 Mrads. Este ensaio foi acompanhado de um grupo controle de caseína. No ensaio com o feijão Rajado, as fezes dos ratos foram coletadas para determinação do conteúdo protéico e estimar a digestibilidade aparente⁽²⁹⁾.

5.7 - Proteínas

As proteínas dos feijões, foram determinadas pelo método LOWRY⁽⁷⁵⁾, quando em solução ou pelo método de Microkjeldahl⁽¹⁰⁾, quando sob a forma "seca" ou em solução, determinando-se o conteúdo de nitrogênio.

5.8 - Eletroforese em poliacrilamida

A análise eletroforética dos extratos protéicos dos feijões, foi feita segundo o método de ORNSTEIN e DAVIS⁽⁹⁸⁾. Amostras de 100 µg de proteína foram adicionadas em cada tubo, juntamente com uma solução de sacarose a 40% e azul de bromofenol. Com uma corrente de 3mA por tubo foi realizada a separação eletroforética das proteínas dos extratos em tampão tris/glicina pH 8,3. Após a corrida os géis foram retirados dos tubos e corados com "coomassie blue".

5.9 - Açúcares redutores e substâncias correlatas

Os açúcares redutores e substâncias relacionadas, foram determinados pelo método de DUBOIS⁽²⁴⁾, empregando-se solução de fenol a 5% e ácido sulfúrico concentrado. Após desenvolvimento da cor, leu-se a absorbância em 490nm em espectrofotômetro Bauch & Lomb, Spectronic 20. Estas determinações foram acompanhadas de uma curva padrão de glicose.

5.10 - Atividade da amiloglicosidase

A determinação da atividade da amiloglicosidade sobre os feijões irradiados, foi feita através de uma adaptação dos métodos descritos por ARÊAS e LAJOLO⁽⁸⁾ e GARCIA et al.⁽³⁴⁾. Amostras de 2 gramas dos feijões triturados e tamisados foram tratadas com solução de NaOH 0,5N e centrifugadas a 2.200 rpm por 15 minutos. O resíduo foi lavado com etanol e tratado com 1 ml da solução de amiloglicosidase (14U/ml), durante 2 horas a 40°C sob agitação. Após inibição da reação com ácido perclórico, dosou-se a glicose com ácido 3,5-dinitrosalicílico e leitura da absorbância em 540nm.

5.11 - Oligossacarídeos

A determinação dos oligossacarídeos foi feita em cromatógrafo líquido de alta resolução marca KNAVER, com detector de índice de refração, utilizando-se coluna medindo 250 mm x 5 mm (diâmetro interno), contendo spherisorb-5 amino como fase estacionária. Como fase móvel foi utilizada a mistura de acetonitrila: água (80:20), com um fluxo de 1,5 ml/minuto. Foram determinados os conteúdos de glicose, sacarose, rafinose, estaquiose e alfa-galactosídeos⁽⁷⁷⁾.

5.12 - Fitohemaglutininas

As fitohemaglutininas foram determinadas utilizando-se a medida da aglutinação dos glóbulos vermelhos tripsinizados de coelho, em placas de microtitulação. O sangue total de coelho, foi obtido por punção cardíaca e mantido em solução de Alsever. As hemácias foram separadas e tratadas com tripsina e utilizadas na medida da aglutinação⁽⁷⁸⁾.

5.13 - Antitripsina

A determinação dos inibidores da tripsina seguiu a técnica descrita por KAKADE et al.⁽⁵⁵⁾, utilizando-se como substrato o Benzoil DL. Arginina p-nitroanilida (BAPNA). Os extratos de feijão, após conveniente diluição, foram incubados com tripsina e mais o substrato sintético, após 10 minutos a reação foi interrompida com ácido acético. As leituras das reações foram feitas em espectrofotômetro em 410 nm.

Uma unidade de tripsina é definida, arbitrariamente, como o aumento da absorbância em 0,01 no comprimento de onda de 410 nm. A atividade inibidora da tripsina é expressa como o número de unidades de tripsina inibidas.

5.14 - Antiamilase

A medida da atividade antiamilásica dos feijões seguiu a metodologia descrita por IGUTI⁽⁴⁵⁾, empregando-se alfa-amilase salivar. A alfa-amilase salivar foi diluída para

conter aproximadamente 900 U.I.* e os extratos de feijão foram diluídos até 400 µg/ml. Após incubação dos extratos com a enzima por 45 minutos a 37°C, foi adicionada solução de amido e submetida a nova incubação por 5 minutos a 37°C. Após reação com ácido 3,5-dinitrosalicílico, foi feita leitura da absorbância em 540 nm. Uma curva padrão de maltose acompanhou cada determinação.

5.15 - Ácidos Graxos

A fração lipídica das amostras foi obtida em extrator intermitente, utilizando-se o aparelho de Soxhlet e hexano como solvente. Os ésteres metílicos de ácidos graxos das frações lipídicas, foram preparados segundo o método de HARTMAN e LAGO⁽³⁸⁾. Após metilação, 2 µl, foram injetados em cromatógrafo a gás modelo CG-500, usando coluna capilar medindo 12 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e fase estacionária de polietilenoglicol (Carbowax 20M). Foi utilizada temperatura programada na faixa de 130-190°C. Utilizou-se nitrogênio como gás de arraste a um fluxo de 30 ml/minuto. As áreas dos picos foram integradas em um integrador processador CG-300.

5.16 - Análise Estatística

Foi utilizado o teste "t" de Student na análise do coeficiente de eficácia protéica na determinação dos açúcares redutores e substâncias correlatas dos feijões da variedade

* U.I. = Unidade Internacional

Carioca irradiados nas doses de 0; 2,5; 5,0 e 10,0 Mrads e o teste F (Fischer) na análise dos resultados da atividade antitiamilásica dos mesmos feijões irradiados com as mesmas doses.

6 - RESULTADOS

Nas próximas páginas estão apresentados os resultados dos estudos realizados com os feijões das variedades Catu, Rajado e Carioca. A sequência em que aparecem, obedece, inicialmente as determinações da composição centesimal, sendo seguida de análises físicas, químicas e biológicas. É apresentado maior número de ensaios com os feijões da variedade Carioca, pois estes em função do tempo e das condições de armazenamento, perderam a possibilidade de consumo, se enquadrando, perfeitamente, dentro da nossa proposta inicial.

TABELA 5 - Composição centesimal dos feijões das variedades Catu, Rajado e Carioca em diferentes tempos de armazenamento.

Feijões Variedade Determinações	Catu 9 m	Catu 12 m	Rajado 12 m	Carioca 60 m	Carioca novo
Umidade	10,30	10,02	10,52	9,38	12,60
Proteína	21,22	20,92	21,80	21,18	19,82
Lípides	2,18	1,98	2,02	2,67	2,32
Cinzas	3,25	3,32	3,34	3,46	3,12
"Nifext"	63,05	63,76	62,32	63,31	62,14

* Determinação feita por diferença.

m = meses

TABELA 6 - Tempo de cocção dos feijões* da variedade Catu armazenados por 9 e 12 meses e irradiados.

Feijões Variedade	Armazenamento Meses	Doses Mrads	Tempo de Cocção (min.)
Catu	9	0,0	50
		0,1	40
		0,5	34
		1,0	26
	12	0,0	79
		0,1	60
		0,5	44
		1,0	38

* Macerados por 17 h à temperatura ambiente.

TABELA 7 - Tempo de cocção dos feijões* das variedades Rajado e Carioca armazenados por 12 e 60 meses, respectivamente, e irradiados.

Feijões Variedade	Armazenamento meses	Doses Mrads	Tempo de Cocção (min.)
Rajado	12	0,0	105
		0,1	93
		0,2	75
		0,5	63
		1,0	41
Carioca	60	0,0	521
		0,5	532
		2,0	494
		2,5	462
		5,0	90
		10,0	0
		20,0	0

*Macerados por 17 h à temperatura ambiente.

Catu 9 meses - Controle; 0,1; 0,2; 0,5 e 1,0 Mrads

Catu 12 meses - Controle; 0,1; 0,2; 0,5 e 1,0 Mrads

FIGURA 4 - Perfil eletroforético das proteínas dos feijões (*P. vulgaris*) da variedade Catu armazenados por 9 e 12 meses e irradiados.

Rajado 12 meses - Controle; 0,1; 0,2; 0,5 e 1,0 Mrads

Carioca 60 meses - Controle; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 Mrads

FIGURA 5 - Perfil eletroforético das proteínas dos feijões (*P. vulgaris*) das variedades Rajado e Carioca armazenados por 12 e 60 meses, respectivamente, e irradiados.

TABELA 8 - Tempo de hidratação* dos feijões da variedade Carioca armazenados e irradiados

Intervalos Tempo (min.)	Doses Mrads			
	0	2,5	5,0	10,0
0	0	0	0	0
30	20,4	20,4	15,1	20,0
60	35,7	30,6	35,3	40,8
90	61,3	61,2	55,5	55,2
120	76,6	81,6	75,6	75,0
150	91,9	96,9	85,9	80,1
180	102,1	107,1	100,8	85,2
210	117,5	112,2	105,9	95,3
240	122,6	122,4	116,0	100,0

* Expresso em porcentagem de água absorvida em função do tempo.

TABELA 9 - Coeficiente de eficácia protéica e digestibilidade aparente dos feijões da variedade Rajado armazenados e irradiados.

Doses Mrads	Proteína Consumida (g)	Ganho de peso (g)	CEP [*]	Digestibilidade Aparente
0	5,50	5,5	1,00 $\pm$ 0,23	79,05
0,1	5,77	5,2	0,90 $\pm$ 0,14	82,09
0,2	5,15	5,2	1,01 $\pm$ 0,24	78,23
0,5	5,59	6,7	1,20 $\pm$ 0,29	82,77
1,0	5,41	5,0	0,92 $\pm$ 0,24	82,33

* CEP = Coeficiente de eficácia protéica

$\pm$ Desvio Padrão

Ensaio de curta duração (7 dias)

TABELA 10 - Coeficiente de eficácia protéica dos feijões da variedade Carioca armazenados e irradiados.

Doses Mrads	Proteína consumida (g)	Ganho de peso (g)	CEP [*]
0	17,0	39,9	^a 2,35 $\pm$ 0,01
2,5	18,1	41,0	^b 2,27 $\pm$ 0,16
5,0	15,0	36,9	^c 2,46 $\pm$ 0,31
10,0	19,2	35,9	^d 1,87 $\pm$ 0,47
Caseína	16,3	53,4	^e 3,28 $\pm$ 0,23

* CEP = Coeficiente de Eficácia Protéica $\pm$ Desvio Padrão

a $\neq$ b, a $\neq$ c, b $\neq$ c, P = 0,2

a $\neq$ d, c $\neq$ d, 0,01 < P < 0,05

b $\neq$ d, 0,1 < P < 0,2

TABELA 11 - Atividade da amiloglicosidase sobre os extratos de amido dos feijões das variedades Catu e Carioca armazenados e irradiados.

Doses Mrads	Catu 9 m	Catu 12 m	Carioca 60 m
	Glicose $\mu\text{g/ml}$		
0	480	240	350
0,1	920	670	900
0,5	2.590	1.740	1.200
1,0	4.750	4.410	2.740
2,5	—	—	6.170
5,0	—	—	6.007
10,0	—	—	7.030

Tempo de hidrólise, 2 hs a 40°C
m = meses

TABELA 12 - Açúcares redutores e substâncias correlatas e proteínas, nos extratos dos feijões da variedade Carioca armazenados e irradiados.

Doses Mrad	Proteína		Açúcares redutores e substâncias correlatas µg/ml
	Microkjeldahl mg/ml	Lowry mg/ml	
0 (controle)	7,1	6,9	^a 19,74 ± 0,01
2,5	5,8	5,7	^b 26,84 ± 0,02
5,0	5,3	5,0	^c 30,00 ± 0,01
10,0	4,6	4,4	^d 37,24 ± 0,01

a ≠ b, a ≠ c, a ≠ d, b ≠ d, c ≠ d, P < 0,001

b ≠ c, 0,01 < P < 0,05

TABELA 13 - Teores de oligossacarídeos do feijão da variedade Carioca submetido a diferentes doses de irradiação.

Açúcares	Doses Mrads							
	0,0	0,1	0,5	1,0	2,5	5,0	10,0	20,0
	g%							
Glicose	0,36	0,41	0,36	0,32	0,30	0,27	0,19	0,13
Sacarose	4,26	4,28	3,88	4,00	3,90	4,06	3,20	3,19
Rafinose	0,95	1,01	0,82	0,88	0,89	0,94	0,76	0,83
Estaquiase	7,02	7,25	6,46	6,69	6,48	6,95	5,23	4,71
*TOTAL	12,59	12,95	11,52	11,89	11,57	12,22	9,38	8,86
*αGalactosídeos	7,97	8,26	7,28	7,57	7,37	7,89	5,99	5,54

* Calculados somando-se os componentes individuais.

TABELA 14 - Porcentagens da fibra dietética nos feijões da variedade Carioca armazenados e irradiados.

Doses Mrads	Fibra %			
	Insolúvel	Solúvel	Total	Total corrigida*
0,0	18,60	4,49	23,09	26,11
0,1	18,26	5,14	23,40	26,60
2,5	17,05	7,52	24,57	27,79
5,0	13,12	11,08	24,20	27,15
10,0	11,05	11,62	22,63	25,25
20,0	10,36	10,67	21,03	23,77

* Corrigida pelo teor de umidade

TABELA 15 - Atividades aglutinante e inibidora da tripsina dos extratos de feijões da variedade Carioca armazenados e irradiados.

Doses Mrads		Proteína (mg/ml)	Atividade aglutinante específica**	Unidade Inibidora da tripsina***
0	Lectina P DIFCO	0,06	2.992	—
	Novo*	2,50	2.119	3.200
	Controle	3,44	1.689	3.779
2,5		2,88	1.000	3.124
5,0		2,50	888	2.400
10,0		2,19	701	913

* Feijões variedade Carioca novo

** Título aglutinante por mg de proteína

*** Unidade inibidora da tripsina por grama de proteína

TABELA 16 - Atividade anti-amilásica dos extratos dos feijões da variedade Carioca armazenados e irradiados.

Doses Mrad	U.I.A.*	Proteína µg/ml	Atividade Específica** (U.I.A/mg proteína)
0 (controle)	65,95	410	a 0,115 ± 0,048
2,5	67,49	378	b 0,128 ± 0,048
5,0	63,34	413	c 0,148 ± 0,032
10,0	74,91	402	d 0,112 ± 0,043
20,0	63,77	413	e 0,112 ± 0,048

* Unidade de inibição da α -amilase $\approx$ inibição de 10 U.I de α -amilase

** Média $\pm$ desvio padrão; a = b; a = c; a = d e a = e, P < 0,05

FIGURA 6 - Cromatograma capilar dos ácidos graxos da fração 1i
pídica dos feijões da variedade Carioca.

TABELA 17 - Ácidos graxos* dos feijões da variedade Carioca armazenados e irradiados.

Doses Mrad	Ácidos Graxos				
	C ₁₆	C ₁₈	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
0 (controle)	17,05	1,73	7,46	35,23	37,37
2,5	17,08	1,79	7,04	35,02	36,85
5,0	16,40	2,10	7,42	34,16	36,38
10,0	17,58	2,23	7,76	37,16	33,56

* Calculados em porcentagem de área.

7 - DISCUSSÃO

Como pode ser observado, na apresentação dos resultados, em função da quantidade disponível de cada amostra, não foi possível a realização de todas as determinações com as três variedades de feijões estudadas. No entanto, como já comentado, pudemos realizar maior número e diversidade de ensaios, com os feijões da variedade Carioca, pelos quais tínhamos maior interesse.

Na Tabela 5, estão os resultados das determinações da composição centesimal das variedades, Catu, Rajado e Carioca, onde pode-se verificar que não existe grande variação do teor de umidade das quatro amostras submetidas a irradiação (Catu, 9m e 12m; Rajado e Carioca). Somente na amostra de feijão Carioca novo, se observou um teor mais elevado (12,60%) de umidade. Estes valores estão próximos dos descritos na literatura⁽¹²⁹⁾. Da mesma forma, os teores de proteínas, lípidos, cinzas e carboidratos, também, estão dentro das porcentagens descritas por outros autores^(57,118,125).

É importante, caracterizar que as variedades de feijões, Catu, Rajado e Carioca são normalmente comercializadas no mercado brasileiro, principalmente a variedade Carioca, que no Estado de São Paulo, ocupa uma das primeiras colocações a nível de consumo.

As determinações do tempo de cocção das quatro amostras irradiadas, estão apresentadas nas Tabelas 6 e 7. Pode-se observar que em função do tempo de armazenamento ocorreu aumento do tempo de cocção. Se observarmos na Tabela 6, os feijões da variedade Catu, armazenados por 9 e 12 meses, apresentaram tempo de cocção de 50 e 79 minutos, respectivamente. Neste caso, especificamente, ocorreu aumento de 29 minutos no tempo de cocção por um adicional de três meses de armazenamento. Da mesma forma, pode-se observar na Tabela 7, que os feijões da variedade Carioca, armazenados por 60 meses, apresentaram um tempo de cocção de 521 minutos. Feijões com estas características são impróprios ao consumo devido principalmente, ao elevado dispêndio de energia necessária para o processamento. Estes feijões são caracterizados como "difíceis para cozinhar" e diversas hipóteses tem sido apresentadas tentando dar o suporte científico das mudanças bioquímicas dos feijões armazenados sob condições de umidade e temperatura elevadas. Destacando-se as observações de STANLEY e AGUILERA⁽¹²⁹⁾, da esterificação da pectina pela pectina metilesterase, que promoveria o aparecimento de mais sítios carboxila livres para a formação de pontes de cálcio e magnésio na lamela média. Mais recentemente AQUILERA e BALLIVIAN⁽³⁾, procuraram dar a interpretação cinética das mudanças na textura em função do armazenamento. Mas, de um modo geral, não se tem um mecanismo conclusivo das reações responsáveis pelo endurecimento do grão.

Nas Tabelas 6 e 7, pode-se observar também, o efeito das radiações gama sobre o tempo de cocção. Reduções de aproximadamente 50%, no tempo de cocção foram verificadas nas amostras de feijões da variedade Catu armazenados por 9 e 12 meses

que receberam 1Mrad. Já com a variedade de feijão Rajado, se observou com esta dose, diminuição superior a 50% no tempo de cocção. Na variedade Carioca, armazenada por 60 meses, com doses de até 2,5Mrads não foram observadas mudanças significativas no tempo de cocção, já com 5,0Mrads, o tempo de cocção foi de 17% do tempo de cocção do feijão Carioca controle, não irradiado. O tempo de 1,30h é aproximadamente o tempo necessário para se cozinhar os feijões normalmente comercializados. Se observou, também, que as doses de 10,0 e 20,0 Mrads, promoviam um expressivo amolecimento no grão, pois estes passavam a ter características de pré-cozidos após a maceração por 17 h à temperatura ambiente.

RAO e VAKIL⁽¹¹⁰⁾, estudando quatro tipos de leguminosas, feijão verde (**Phaseolus areus**); fava (**Vicia faba**); lentilha (**Lens esculenta**) e grão de bico (**Cicer arietinum**), verificaram que o emprego de doses de 2,5 a 10 KGrays, (0,250 a 1,0 Mrad), provenientes de uma fonte de cobalto 60, promovia expressiva diminuição no tempo de cocção das quatro leguminosas. Os valores obtidos com a irradiação do feijão Catu, isto é diminuição em 50% no tempo de cocção com a dose de 1 Mrad (10 KGrays), foram semelhantes aos descritos pelos dois autores. Radiólise das proteínas e do amido dos feijões, podem ser os mecanismos que levam à diminuição do tempo de cocção.

NENE et al., verificaram o efeito dos raios gama sobre as proteínas⁽⁹⁵⁾ e sobre as características físico-químicas do amido⁽⁹⁶⁾ do **Cajanus cajan**, leguminosa muito utilizada pela população da Índia. Puderam observar, redução de 38% no tempo de cocção, nos grãos que receberam dose de 1 Mrad, juntamente com outras alterações físico-químicas dos grãos que se-

rão discutidas mais adiante.

O monitoramento feito recentemente, por PLHAK et al.⁽¹⁰⁰⁾, de feijões submetidos a diferentes tratamentos prévios, para se estudar o endurecimento dos grãos, apresentou a irradiação, em doses de 1 Mrads como a única forma de reduzir significativamente a velocidade de endurecimento. Os efeitos da irradiação podem estar relacionados com mudanças do amido, tornando-o mais fácil de gelatinizar durante o processo de cocção. A esta observação soma-se a de NENE et al.⁽⁹⁶⁾, que verificaram aumento nos teores de amino ácidos livres no **Cajanus cajan** irradiado com 1 Mrads.

A relação do tempo de cocção, da velocidade de hidratação e do endurecimento de feijões armazenados é complexa, pois em função das características dos componentes presentes, ocorrem diversas reações de ordem molecular. A formação de ligações dos tipos: pontes de hidrogênio, iônica e hidrofóbica entre proteínas e taninos, diminuem a solubilidade das proteínas⁽¹¹⁷⁾. Da mesma forma, a polimerização dos fenóis, também promove aumento na rigidez e na hidrofobicidade da parede celular⁽²⁷⁾. Outra possibilidade seria a ação da fitase, sobre os fitatos impedindo a atuação destes como sequestrantes dos íons Ca^{+2} e Mg^{+2} dos pectatos⁽¹²⁹⁾ além de outras reações com carboidratos, lípides e proteínas^(27,44).

VARRIANO-MARSTON e JACKSON⁽¹³⁷⁾, observaram desintegração das organelas citoplasmáticas e inclusões, nas células de feijões armazenados sob condições adversas. Eles atribuíram a uma série complexa de mudanças bioquímicas como as responsáveis pelas alterações estruturais. Apesar destas modi

ficações, não verificaram alterações no modo de penetração da água no grão. Em outro trabalho, JACKSON e VARRIANO-MARSTON⁽⁴⁷⁾, verificaram que feijões armazenados de 7 a 14 dias a 41°C, com 100% de umidade relativa, apresentaram tempo de cocção semelhante ao dos feijões armazenados por mais de doze meses à temperatura ambiente. Estes autores sugeriram o emprego do processo acelerado de envelhecimento, no estudo da estabilidade de variedades de feijões frente ao armazenamento.

O perfil eletroforético das proteínas dos feijões irradiados estão apresentados nas Figuras 4 e 5, onde pode-se verificar que os feijões das variedades Catu e Rajado irradiados com doses de até 1 Mrads, não apresentaram mudanças perceptíveis nas frações protéicas. No entanto, com os feijões da variedade Carioca, pode-se observar que a partir de 5,0 Mrads, começaram a ocorrer alterações das proteínas. Nas doses de 10,0 e 20 Mrads as alterações são mais evidentes, não sendo possível identificar, as frações normalmente encontradas nos extratos protéicos de feijões (*Phaseolus vulgaris*). Estas observações, também, reforçam o processo radiolítico que ocorre com as proteínas quando irradiadas⁽²¹⁾.

Na Tabela 8, estão os resultados do tempo de hidratação dos feijões Carioca irradiados nas doses de 2,5; 5,0 e 10,0 Mrads. Nela pode-se observar que durante 240 minutos a velocidade de hidratação foi menor para os feijões que receberam 5,0 e 10,0 Mrads do que os controles (não irradiados) e os que receberam 2,5 Mrads. As quatro amostras, após 18 horas, apresentaram aproximadamente o mesmo conteúdo de água absorvida. No entanto, as diferenças na velocidade de hidratação por nós encontradas, não coincidem com os resultados de outros au-

tores. NENE et al.⁽⁹⁶⁾, e RAO e VAKIL⁽¹¹⁰⁾, observaram aumento da água absorvida em leguminosas irradiadas na dose de 1 Mrad. Estes autores atribuem as quebras das moléculas protéicas e de amido, como as principais responsáveis pelo aumento da hidratação nas amostras irradiadas. As doses utilizadas por nós foram superiores as destes autores, sugerindo a possibilidade de índices de fragmentação das proteínas e do amido superiores aos encontrados por eles.

PLHAK et al.⁽¹⁰⁰⁾, tratando feijões com 1 Mrad de raios gama, provenientes de uma fonte de cobalto 60, e armazenados por 360 dias sob diferentes condições, não observaram diferenças significativas nos teores de água absorvida pelos grãos.

A utilização de um processo tecnológico do ponto de vista alimentar, deve ter a preocupação da adequação nutricional. Muitas vezes pode-se chegar a melhorias tecnológicas mas com comprometimento das características nutricionais. LIE-
NER⁽⁶⁸⁾, descreve a inativação de substâncias antinutricionais, pelo processamento térmico, que quando excessivo leva a diminuição do valor biológico das leguminosas. Da mesma forma, as nossas observações iniciais de que a irradiação dos feijões promovia diminuição do tempo de cocção, também, poderiam estar associadas a um comprometimento do valor biológico do grão. Dentro das restrições da quantidade de amostras, determinamos o coeficiente de eficácia protéica (CEP) dos feijões das variedades Rajado e Carioca. Na Tabela 9, estão os resultados do CEP e digestibilidade aparente dos feijões Rajado, podendo-se observar, um valor mais elevado do CEP |1,20| para amostra que recebeu 0,5 Mrads de irradiação. Quanto a di-

gestibilidade, não foi notada qualquer diferença entre as cinco amostras que receberam 0; 0,1; 0,2; 0,5 e 1,0 Mrads de radiação. Cumpre-nos destacar que este ensaio apresentou a limitação do tempo em que foi realizado, apenas sete dias e, portanto, está sujeito a um erro elevado. No entanto, achamos importante apresentá-lo pois foi indicativo para realização do ensaio biológico com os feijões da variedade Carioca.

Na Tabela 10, estão os resultados das determinações dos CEP dos feijões da variedade Carioca irradiados com doses de 2,5; 5,0 e 10,0 Mrads. Estas doses foram escolhidas em função das determinações dos tempos de cocção correspondentes. Como pode ser observado, o CEP [2,46] da amostra que recebeu 5,0 Mrads, com tempo de cocção de 90 minutos apresentou-se equivalente ao da amostra controle [2,35], não irradiada. Já com a dose de 10,0 Mrads, observou-se diminuição do CEP para 1,87, indicando comprometimento das proteínas do ponto de vista biológico.

SGARBIERI et al.⁽¹²¹⁾, estudando quatro variedades de feijões, dentre elas a variedade Carioca, observaram baixa razão de eficácia protéica [0,79] e a menor disponibilidade de metionina nesta variedade, quando comparada com as outras três. Os nossos resultados para esta variedade são superiores, pois no preparo das rações houve suplementação com 0,16% de metionina.

Aumento do aproveitamento biológico de feijões, também foi observado por REDDY et al.⁽¹¹¹⁾, estudando o efeito da irradiação de feijões com doses de 21,0 Mrads sobre o crescimento de frangos. Estes resultados, diferem dos obtidos por nós, pois com a dose de 10,0 Mrads, observamos diminuição do

CEP. No entanto, METTA e JOHNSON⁽⁸⁶⁾, não observaram diferenças no valor biológico de trigo e milho irradiados com doses de 2,8 ou 9,3 Mrads de raios gama, enquanto, MORAN et al.⁽⁸⁹⁾, observaram, também, aumento do CEP do trigo irradiados com raios gama nas doses de 0,5 ou 5 Mrads.

Os mecanismos pelos quais ocorre aumento do valor biológico de grãos irradiados, podem estar relacionados com a quebra da estrutura protéica e liberação de peptídeos⁽⁶⁷⁾, ou com a desestruturação molecular das proteínas, expondo sítios de atuação das enzimas proteolíticas responsáveis pela digestão⁽⁹⁵⁾. REDDY et al.⁽¹¹¹⁾, observaram que a irradiação aumentou a proteólise dos feijões tanto pela pepsina como pelo tratamento com multienzimas (tripsina, quimotripsina e peptidase). Estes autores, também, sugerem, apesar de não terem realizado ensaios específicos, a possibilidade do aumento da inativação ou destruição dos fatores antinutricionais pela irradiação. Estes ensaios nós pudemos efetuar e serão discutidos mais adiante.

Além das mudanças que ocorrem com as proteínas, podemos observar modificações dos carboidratos. Na Tabela 11, pode-se verificar o aumento expressivo da hidrólise do amido dos feijões irradiados. Os feijões da variedade Catu armazenados por 9 meses apresentaram aumento de 480 µg/ml de glicose do controle (não irradiado), para 4.750 µg/ml para a amostra que recebeu 1,0 Mrad. Enquanto, os feijões Catu armazenados por 12 meses, apresentaram menor sensibilidade à ação da amiloglicosidase, quando comparados com os feijões armazenados por 9 meses. Nestes feijões, a irradiação, também, promoveu aumento da hidrólise pela amiloglicosidase. Com os feijões da variedade Carioca, também, pode-se

observar aumento da atividade da amiloglicosidase, proporcional a dose de irradiação. Estes resultados associados ao aumento dos açúcares redutores em função da dose de irradiação (Tabela 12), indicam a ocorrência de uma mudança conformacional e um processo radiolítico do amido dos feijões, que por um lado facilita a atividade enzimática (amiloglicosidase), pela desestruturação molecular do amido, permitindo, possivelmente, o acesso da enzima a sítios de atuação e por outro através da despolimerização do amido as suas unidades originais. ANANTHASWAMY et al.⁽⁵⁾, estudando o efeito das radiações gama sobre o amido do trigo, observaram que doses de 0,2 Mrads promoviam aumento de 40% na atividade da β -amilase sobre o amido. Da mesma forma, observaram também, aumento expressivo nos açúcares redutores do trigo irradiado.

Estudando o efeito da irradiação de amidos, KUME e TAMURA⁽⁵⁹⁾, observaram diminuição da digestibilidade do amido da mandioca, trabalhando com doses de até 5 Mrads. Estes autores atribuíram a diminuição da digestibilidade a um processo de coagulação do amido em função da irradiação. No entanto, este efeito não foi observado em amidos provenientes de outras fontes como trigo, milho e batata.

Na Tabela 12, também, estão os resultados das determinações das proteínas, nos extratos dos feijões da variedade Carioca, pelos métodos do Microkjeldahl e LOWRY⁽⁷⁵⁾, podendo-se observar diminuição da solubilidade protéica em função da irradiação. REDDY et al.⁽¹¹¹⁾, também, obtiveram diminuição expressiva na solubilidade das proteínas de feijões irradiados, que foi atribuída a denaturação protéica provocada por mudanças conformacionais e quebra de ligações moleculares.

Outra preocupação que surgiu durante o desenvolvimento do estudo, foi o que poderia estar ocorrendo com os oligossacarídeos dos feijões irradiados, principalmente pelos efeitos biológicos adversos que podem ser causados pela estaquiose e pela rafinose. HASEGAWA e MOY⁽³⁹⁾, observaram redução dos oligossacarídeos em soja submetida a germinação e irradiada com doses de até 1 Mrad. RAO e VAKIL⁽¹⁰⁹⁾, trabalhando com uma leguminosa (*Phaseolus vulgaris*), observaram que sua irradiação no estado hidratado, causava redução de 50% no conteúdo da estaquiose e da rafinose. Na Tabela 13, estão os resultados obtidos na determinação dos oligossacarídeos. Nela pode-se observar que não houve redução da rafinose em todas as doses estudadas, até em 20,0 Mrads, que é considerada dose muito elevada de radiação. Já com a estaquiose, observa-se diminuição deste oligossacarídeo somente a partir de 5,0 Mrads, ocorrendo redução de aproximadamente 30% na dose de 20,0 Mrads. A sacarose apresentou comportamento semelhante a estaquiose, ocorrendo redução deste açúcar, também a partir de 5,0 Mrads. O teor de glicose começou a diminuir a partir da dose de 2,5 Mrads. Este fato não era esperado por nós, pois observamos aumento dos açúcares redutores e substâncias correlatas, com o aumento da dose de irradiação. Este resultado possivelmente está associado à maltose, que seria um dos produtos da radiólise do amido.

As determinações dos oligossacarídeos pela cromatografia líquida de alta resolução permite, em função da elevada sensibilidade detectar pequenas variações. KUO et al.⁽⁶⁰⁾, também utilizando o mesmo sistema de análise e trabalhando com diferentes sementes, observaram que as espécies leguminosas,

incluindo-se aí os feijões, contém mais estaquiose do que rafinose. Na Tabela 13 pode-se observar que a relação da rafinose para estaquiose é de aproximadamente 1:7.

Na Tabela 14, estão apresentados os resultados da determinação da fração fibra dietética dos feijões da variedade Carioca irradiados. A fibra dietética consiste no resíduo celular vegetal resistente a hidrólise pelas enzimas do trato alimentar humano⁽¹⁰¹⁾. A fibra dietética inclui principalmente, hemiceluloses, celulosas, lignina, oligossacarídeos não digeríveis, pectinas, gomas e cêras. O método de ASP et al.⁽⁹⁾ utilizado, envolve todo um sistema multienzimático e pode, diferentemente da maioria dos outros métodos, caracterizar a fração solúvel da fração insolúvel. Polissacarídeos solúveis como pectinas, gomas e algumas hemiceluloses, são de importância fisiológica e constituem fração apreciável da fibra dietética total. Pelos resultados, observa-se que com o aumento da dose de radiação ocorreu aumento da fibra solúvel até a dose de 5,0 Mrads. Paralelamente, ocorreu diminuição correspondente da fração insolúvel pois a porcentagem de fibra total permaneceu praticamente a mesma em todas as amostras analisadas. A utilização desta metodologia permitiu visualizar as diferenças nas porcentagens da fração fibra solúvel e insolúvel nos feijões irradiados. A diminuição da fração insolúvel de 18,60% do controle não irradiado, passou para 10,36% para os feijões que receberam a dose de 20,0 Mrads, correspondendo a uma diminuição de aproximadamente 55%. A diminuição da porcentagem de fibra total a partir de 10,0 Mrads, deveu-se possivelmente ao nível mais elevado de fragmentação que pode ocorrer com estas doses. A diminuição da fração insolúvel e o aumento da fração solú -

vel em função das doses utilizadas, indica, também, um processo de desestruturação molecular induzida pelas radiações ionizantes.

Na Tabela 15, estão os resultados das atividades aglutinantes e inibidora da tripsina dos extratos dos feijões da variedade Carioca irradiados. Pode-se observar diminuição expressiva da atividade aglutinante em função da dose de irradiação. A atividade específica do controle do feijão Carioca armazenado, não irradiado, passou de 1.689 para 701 na dose de 10,0 Mrads, correspondendo a uma inativação de aproximadamente 59%. É interessante realçar que o processo da irradiação de proteínas, consiste, principalmente, na excitação dos elétrons da estrutura molecular⁽¹²⁾. Estes elétrons, excitados, apresentam a característica de migração de átomo para átomo. Nas proteínas ionizadas, uma ligação covalente pode se romper na região do impacto da radiação ou ao longo da cadeia polipeptídica. A quebra das ligações químicas das proteínas, pode provocar perda da atividade biológica. BEAUREGARD e SALVAYRE⁽¹²⁾, também, apresentam a fórmula $Mr = \frac{6,4 \times 10^5}{D_{37}}$, onde, Mr = Megarads e D_{37} = dose em Mrads necessárias para manter 37% da atividade biológica inicial. MANCINI-FILHO et al.⁽⁸¹⁾, estudando os efeitos das radiações sobre a atividade aglutinante de lectinas de feijões, verificaram que a perda de atividade obedecia uma função exponencial da concentração, segundo a equação $Y = 0,03x + 0,71$, onde Y = logaritmo da concentração de lectina e x = porcentagem da atividade residual das lectinas irradiadas.

KIMURA⁽⁵⁶⁾, trabalhando com fitohemaglutininas purificadas de feijão, verificou que a dose 1 Mrad promovia inati-

vação completa da atividade aglutinante. Com as fitohemaglutininas dos feijões da variedade Carioca irradiados com doses de até 10,0 Mrads, ainda se verificou atividade residual, possivelmente pela estrutura complexa do grão que oferece proteção parcial às proteínas que apresentam atividade biológica.

A atividade inibidora da tripsina, nos extratos dos feijões Carioca, também, teve diminuição proporcional a dose de irradiação. Pode-se observar que a perda de atividade foi superior a das fitohemaglutininas, pois o controle apresentou atividade de 3.779 U.I.T. (Unidades Inibidoras de Tripsina) enquanto que a amostra de feijão Carioca que recebeu 10,0 Mrads, apresentou uma atividade residual de 913 U.I.T., correspondendo a uma diminuição de aproximadamente 75%.

IYER et al.⁽⁴⁶⁾, trabalhando com três variedades de feijões, analisaram o efeito das radiações gama sobre os inibidores de tripsina e quimotripsina e puderam observar nas doses de 0,1; 0,25 e 0,5 Mrads, atividade residual de 60%; 44% e 34%, respectivamente. Os dados destes autores, diferem dos obtidos com o feijão Carioca, possivelmente pela metodologia utilizada, pois os feijões por eles estudados foram hidratados, desidratados e em seguida irradiados. É importante realçar aqui a proporção da inativação do inibidor triptico em função da dose de irradiação. A atividade do inibidor da quimotripsina do mesmo feijão, apresentou-se mais resistente a irradiação, observando-se na dose de 0,5 Mrads atividade residual aproximadamente 90%.

NENE et al.⁽⁹⁵⁾, trabalhando com "*Cajanus cajan*", verificaram que o inibidor triptico desta leguminosa é resistente a irradiação, pois não observaram qualquer perda de ativida

de em doses de até 3,0 Mrads.

Na Tabela 16, estão as determinações da atividade antiamilásica dos extratos dos feijões da variedade Carioca irradiados com as doses de 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 Mrads. Pode-se observar, por esta tabela, que pela medida da atividade específica, estatisticamente, não houve modificação na atividade do inibidor da alfa amilase salivar, nas quatro doses estudadas. É interessante realçar que a resistência deste fator antinutricional dos feijões às radiações ionizantes diferencia-se das fitohemaglutininas e do fator antitriptico que na dose de 10,0 Mrads já demonstraram perda superior a 50% da atividade inicial.

A resistência do inibidor da alfa-amilase às radiações ionizantes pode ser de importância, do ponto de vista bioquímico e tecnológico, principalmente, quando se visa estudar as características estruturais e as possibilidades de empregá-lo no tratamento de alguns estados patológicos.

A resistência do inibidor da alfa-amilase salivar às radiações ionizantes pode estar restrita a variedade estudada. IGUTI⁽⁴⁵⁾, relatou a existência de isoinibidores em algumas variedades de feijões, com diferentes sensibilidades ao aquecimento. Observou que a atividade residual, após aquecimento a 70°C por 80 minutos variava de 48% para a variedade Regente e 0% para a variedade Manteiga 74. A resistência térmica observada por IGUTI⁽⁴⁵⁾, pode estar correlacionada com a resistência do inibidor da alfa-amilase do feijão Carioca a irradiação, portanto seria interessante verificar o comportamento dos inibidores da alfa-amilase de outras variedades, frente as radiações ionizantes.

As análises dos ácidos graxos da fração lipídica dos feijões da variedade Carioca irradiados estão na Figura 6 e na Tabela 17. Pelos resultados, pode-se observar que não houve alteração do perfil dos ácidos graxos, mesmo na dose de 10,0 Mrads. Os ácidos graxos insaturados, principalmente os ácidos linoléico e linolênico que nos feijões apresentam-se em maiores concentrações, são os mais suscetíveis às radiações ionizantes⁽⁹⁴⁾, no entanto, não pudemos observar qualquer alteração nestes ácidos graxos nas doses de 2,5; 5,0 e 10,0 Mrads.

Na presença do oxigênio, a irradiação acelera todo o processo de autooxidação, pela formação de radicais livres, que podem reagir com oxigênio e formar hidroperóxidos instáveis que por outro lado se decompõe, principalmente, em compostos carbonílicos⁽⁹⁴⁾.

A resistência da fração lipídica dos feijões ao processo radiolítico indica a existência de algum mecanismo de proteção, sendo que é importante caracterizar que esta fração representa somente 2,5% da composição total do grão. Portanto, aliada a baixa concentração lipídica devem existir antioxidantes naturais que impedem o desencadeamento do processo oxidativo. DELINCEE⁽²⁰⁾, relata a observação da resistência do ácido linoléico ao processo radiolítico, com redução drástica dos antioxidantes naturais tocoferóis. Possivelmente, alguns dos compostos presentes nos feijões, como fenólicos por exemplo, possam estar participando do mecanismo de proteção da fração lipídica à irradiação.

Como pode ser visto, a irradiação dos feijões pode provocar diversas modificações do ponto de vista estrutural com

implicações tecnológicas e biológicas. A consistência da diminuição do tempo de cocção das três variedades estudadas, foi o ponto inicial do nosso estudo e nos permitiu analisar alguns parâmetros físico-químicos e nutricionais, importantes para se avaliar a aplicação das radiações ionizantes em feijões difíceis para cozinhar. No entanto, outros ensaios deverão ser realizados com feijões armazenados por períodos prolongados, visando, principalmente, diminuir a dose necessária para se alcançar o tempo de cocção adequado, associados às determinações químicas e biológicas.

8 - CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos, podemos concluir que:

- 8.1 - As radiações gama são capazes de reduzir o tempo de cocção de feijões, sem comprometer, até determinadas doses, o seu valor biológico.
- 8.2 - Os efeitos das radiações gama sobre as proteínas e sobre os carboidratos dos feijões, observados no aumento da radiólise protéica e na maior sucetibilidade dos carboidratos à ação enzimática, parecem ser os responsáveis pela diminuição do tempo de cocção.
- 8.3 - Os ácidos graxos saturados e insaturados da fração lipídica dos feijões irradiados, apresentaram-se resistentes à radiólise, apesar das doses elevadas empregadas.
- 8.4 - A rafinose mostrou-se resistente ao processo radiolítico, enquanto que a estaquiose, nas doses mais altas, apresentou alguma sensibilidade.

8.5 - As lectinas e antitripsinas dos feijões apresentaram-se sensíveis às radiações gama, enquanto que os inibidores de amilase mostraram-se resistentes.

8.6 - O emprego das radiações gama em feijões que perderam a possibilidade de comercialização, por se tornarem difíceis para cozinhar, parece, do ponto de vista físico-químico e nutricional, um processo tecnológico viável, desde que seja realizado o monitoramento da dose a ser utilizada.

9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ADAM, S. Recent development in radiation chemistry of carbohydrates p. 149-170. In ELIAS, P.S. & COHEN, A.J. eds. Amsterdam, Recent advances in food irradiation . 1983. 149-170p.
- 2 - ADVANCES IN BEAN RESEARCH, Chemistry Nutrition Technology. LAJOLO, F.M. & LANFER-MARQUEZ. eds. São Paulo. 1988. University of São Paulo, 473p.
- 3 - AQUILERA, J.M. & BALLIVAN, A. A kinetic interpretation of textural changes in black beans during prolonged storage. J. Food Sci., Chicago, 52(3):691-95, 1987.
- 4 - AGUILERA. K:M: & STANLEY, D.W. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes - the influence of storage and processing. J. Food Process. Preserv., Westport, 9:145-169, 1985.
- 5 - ANANTHASWAMY, H.N.; VAKIL, U.K.; SREENIVASAN, A. Effect of gamma radiation on wheat starch and its components. J. Food Sci., Chicago, 35:795-98, 1970.
- 6 - ANTUNES, A.J. & MARKAKIS, P. Protein supplementation of navy beans with Brazil nuts. J. Agric. Food Chem. , Washington, 25:1096-1098, 1977.

- 7 - ANTUNES, P.L. & SGARBIERI, V.C. Influence of time and conditions of storage on technological and nutritional properties of a dry bean (**Phaseolus vulgaris**, L.) variety Rosinha G2. J. Food Sci., Chicago, 44:1703-1706, 1979.

- 8 - ARÊAS, J.A.G. & LAJOLO, F.M. Determinação enzimática específica do amido, frutose e sacarose em bananas pré-climatéricas e climatéricas. An. Farm. Quím. S.Paulo, 20:307-18, 1980.

- 9 - ASP, N.; JOHANSSON, C.G.; HALLMER, H.; SILJESTRÖM, M. - Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. J. Agric. Food Chem., Washington, 31:476-482, 1983.

- 10 - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis 14 ed. Arlington, 1984, 1141 p.

- 11 - BARNA, J. Compilation of bioassay data on the wholesomeness of irradiated food items. Acta Aliment., Budapest , 8(3):205-315, 1979.

- 12 - BEAUREGARD, G. & SALVAYRE, R. The radiation inactivation method as a tool to study structure function relationships in proteins. Methods Biochem. Anal. , New York, 32:313-343, 1987.

- 13 - BOURDILLON, J. A crystalline bean seed in combination with phytic acid. J. Biol. Chem., Baltimore, 189:65-69, 1951.

- 14 - BOWMAN, D.E. Amylase inhibitor of navy beans. Science, Washington, 102:358, 1945.

- 15 - BRESSANI, R. Research needs to up grade the nutritional quality of common beans (**Phaseolus vulgaris**). Qual. Plant Food Hum. Nutr., The Hague, 32:101-110, 1983.

- 16 - BRESSANI, R. & ELIAS, L.G. The nutritional role of polyphenols in beans. Proc. Symp. Polyphenols in Cereal and Legumes I.F.T. St. Louis, Missouri, 1979, 61p.
- 17 - BRESSANI, R. & ELIAS, L.G. Relación entre la digestibilidad y el valor proteínico del frijol común (**Phaseolus vulgaris**). Arch. Latinoamerc. Nutr., Caracas , 34:189-97, 1984.
- 18 - BUONOCORE, V. & SILANO, V. Biochemical, nutritional and toxicological aspects of alpha-amylase inhibitors from plant foods. Adv. Exp. Med. Biol., New York, 199: 483-507, 1986.
- 19 - CHANG, R.; SCHWIMMER, S.; BURR, H.K. Phytate: removed from whole dry beans by enzymatic hydrolysis and diffusion. J. Food Sci., Chicago, 42:1141-43, 1977.
- 20 - DELINCÉE, H. Recent advances in radiation chemistry of lipids. In: ELIAS, P.S. & COHEN, A. eds. Amsterdam, Recent advances in food irradiation, 1983. 89-114p.
- 21 - DELINCÉE, H. Recent advances in radiation chemistry of proteins. In: ELIAS, P.S. & COHEN, A. eds. Amsterdam, Recent advances in food irradiation. 1983. 129-148p.
- 22 - DESHPANDE, S.S. & NIELSEN, S.S. "In vitro" enzymatic hidrolisis of phaseolin, the major storage protein of **Phaseolus vulgaris** L. J. Food Sci., Chicago, 52:1326-9, 1987.
- 23 - DESHPANDE, S.S. & NIELSEN, S.S. "In vitro" digestibility of dry bean (**Phaseolus vulgaris**, L.) proteins: the role of heat-stabile protease inhibitors. J. Food Sci., Chicago, 52:1330-4, 1987.

- 24 - DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, D.A. ; SMITH, F. Colorimetric methods of determination of sugars and related substances. Anal. Chem., Washington, 28:350-6, 1956.
- 25 - DURIGAN, J.F.; SGARBIERI, V.C.; ALMEIDA, L.D. Antinutritional factors and toxicity in raw dry beans (**Phaseolus vulgaris**, L.) of 12 Brazilian cultivars. J. Food Biochem., Westport, 11:185-200, 1987.
- 26 - ELBERT, E.M. & WITT, R.L. Gelatinization of starch in the common dry bean **Phaseolus vulgaris**. J. Home Econ, Washington, 60:186, 1968. APUD, SATHE, S.K. et al. - Dry beans of Phaseolus. A review Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., Boca Raton, 21:41-93, 1982.
- 27 - ELIAS, L.G. Conocimientos actuales sobre el proceso de endurecimiento del frijol. Arch. Latinoam. Nutr., Guatemala, 32(2):233-257, 1982.
- 28 - ELIAS, P.S. & COHEN, A.J. Recent advances in food irradiation. Elsevier, Biomedical Press, Amsterdam, The Netherlands, 1983.
- 29 - ELIAS, L.G.; DE FERNANDEZ, F.G.; BRESSANI, R. Possible effects of seed coat polyphenols on the nutritional quality of bean protein. J. Food Sci., Chicago, 44(2):524-527, 1979.
- 30 - ESKIN, N.A.M. & WIEBE, S. Changes in phytase activity and phytate during germination of two fababean cultivars. J. Food Sci., Chicago, 48:270-271, 1983.
- 31 - FIGUEROA, M.O.R.; MANCINI-FILHO, J.; LAJOLO, F.M. Ação antinutricional das fito-hemaglutininas de **Phaseolus vulgaris**, L. Arch. Latino Am. de Nutr., Caracas, 34:488-499, 1984.

- 32 - FIGUEROA, M.O.R.; MANCINI-FILHO, J.; LAJOLO, F.M. Ação tóxica das fito-hemaglutininas de feijões. An. XII Simp. An. Acad. Ciên. Est. São Paulo, vol. II:132-140, 1988.
- 33 - GANESHKUMAR, K. & VENKATARAMAN, L.V. Studies on the "in vitro" digestibility of starch in some legumes before and after germination. Nutr. Rep. Int., Los Altos, 13:115-22, 1976.
- 34 - GARCIA, E.; CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M. Determinação de amido em embutidos: Comparação entre o método de Fehling e método enzimático. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 5:39-46, 1985.
- 35 - GRANT, G.; OLIVEIRA, J.T.A.; PUSZTAI, A. Toxicity of kidney bean (**Phaseolus vulgaris**) lectins. Advances in bean research: Chemistry, nutrition, technology. LAJOLO, F.M. & LANFER-MARQUEZ, U. eds. São Paulo, 1988. 81-100p.
- 36 - HAHN, D.M.; JONES, F.T.; AKHAVAN, I.; ROCKLAND, L.B. - Light and scanning electron microscope studies on dry beans. Intracellular gelatinization of starch in cotyledons of large lima beans (**Phaseolus vulgaris**). J. Food Sci., Chicago, 42:1208-1212, 1977.
- 37 - HAN, C.; GUO, S.; WANG, M.; LUI, W.; CUI, W.; DAY, Y. - A feeding trial of irradiated diet in human volunteers. FAO/IAEA Seminar for Asia and the Pacific on the practical application of food irradiation, 1986. Apud. WIERBICKI, E. et al. - Ionizing energy in food processing and pest control: I - wholesomeness of food treated with ionizing energy. Rep. n° 109. Council for Agricultural Science & Technology, 1986.
- 38 - HARTMAN, L. & LAGO, B.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Lab. Pract., London, 22:475-7, 1973.

- 39 - HASEGAWA, Y. & MOY, J.H. Reducing oligosaccharides in soybeans by gamma-radiation controlled germination. Radiation Preservation of Foods. Proc. of a Symposium. Bombay, 89-103, 1973.
- 40 - HATHWAY, D.E. Autoxidation of polyphenols. IV - Oxidative degradation of the catechin autoxidative polymer. J. Chem. Soc., London, 520, 1958.
- 41 - HATHWAY, D.E. & SEAKINS, J.W.T. Enzymic oxidation of catechin to a polymer structurally related to some phlobatannins. Biochem. J., London, 67:239-43, 1957.
- 42 - HELLENDORF, E.W. Beneficial physiological activity of leguminous seeds. Qual. Plant. Pl. Food Hum. Nutr., The Hague, 29(1/2):227-244, 1979.
- 43 - HINCKS, M.J. & STANLEY, D.W. Multiple mechanisms of bean hardening. J. Food Technol., Chicago, 21:731-750, 1986.
- 44 - HINCKS, M.J. & STANLEY, D.W. Lignification: evidence for a role in hard-to-cook beans. J. Food Biochem., Westport, 11(1):41-58, 1987.
- 45 - IGUTI, A.M. Isolamento e purificação de isoinibidores de alfa-amilase em diferentes variedades de feijões (**Phaseolus vulgaris**). São Paulo, 1988, 66 p. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo].
- 46 - IYER, Y.; SALUNKHE, D.K.; SATHE, S.K.; ROCKLAND, L.B. - Quick-cooking beans (**Phaseolus vulgaris**, L.): II - Phytates, oligosaccharides, and antienzymes. Qual. Plant. Plant Foods Hum. Nutr., The Hague, 30:45-52, 1980.

- 47 - JACKSON, G.M. & VARRIANO-MARSTON, E. Hard-to-cook phenomenon in beans: effect of accelerated storage on water absorption and cooking. J. Food Sci., Chicago, 46:799-803, 1981.
- 48 - JAFFÉ, W.G. Toxicity of raw kidney-beans. Experientia, Basel, 15:81, 1949.
- 49 - JAFFÉ, W.G. The comparative biological value of some legumes of importance in the Venezuelan diet. Arch. Venez. Nutr., Caracas, 1:107-126, 1950.
- 50 - JAFFÉ, W.G. Hemagglutinins (Lectins). In toxic constituents of plant foodstuffs. Food Science & Technology Series. Academic Press, 1980, 73-102.
- 51 - JAFFÉ, W.G. & GOMES, M.J. Beans of high or low toxicity. Qual. Plant. Food Hum. Nutr., The Hague, 24:359-65, 1975.
- 52 - JAFFÉ, W.G. & LETTE, C.L.V. Heat labile growth-inhibiting factors in beans (**Phaseolus vulgaris**). J. Nutr., Philadelphia, 94:203-210, 1968.
- 53 - JONES, P.M.B. & BOULTER, D. The cause of reduced cooking rate in **Phaseolus vulgaris** following adverse storage conditions. J. Food Sci., Chicago, 48:623-626, 1983.
- 54 - JUNQUEIRA, R.G. & SGARBIERI, V.C. Isolation and general properties of lectins from the bean (**Phaseolus vulgaris**, var. Rosinha G2). J. Food Biochem., Westport, 5:165-179, 1981.
- 55 - KAKADE, M.L.; RACKIS, J.J.; MCGHEE, J.E.; PUSKI, G. - Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. Cereal Chem., Saint Paul, 51:376-382, 1974.

- 56 - KIMURA, T. Influence of heat, radiation and enzymes on phytohemagglutination. Tokio-Joshi Ika Daigaku Sashi, 42:672, 1972.
- 57 - KOEHLER; H.H.; CHANG, C.H.; SCHEIER, G.; BURKE, D.W. - Nutrient composition, protein quality, and sensory properties of thirty-six cultivars of dry beans (**Phaseolus vulgaris**, L.). J. Food Sci., Chicago, 52(5) : 1355-40, 1987.
- 58 - KON, S. & SANSHUCK, D.W. Phytate content and its effect on cooking quality of beans. J. Food Process. Presserv., Westport, 5:169-178, 1981.
- 59 - KUME, T. & TAMURA, N. Change in digestibility of raw starch by gamma-irradiation. Starch/Stärke, Weinheim, 39:71-74, 1987.
- 60 - KUO, T.M.; VANMIDDLESWORTH, J.F.; WOLF, W.J. Content of raffinose oligosaccharides and sucrose in various plant seeds. J. Agric. Food Chem., Washington, 36:32-36 , 1988.
- 61 - LAI, C.C. & VARRIANO-MARSTON, E. Studies on the characteristics of black bean starch. J. Food Sci. , Chicago, 44:528-530, 1979.
- 62 - LAJOLO, F.M. Inibidor de amilase do **Phaseolus vulgaris**: Estudo bromatológico. São Paulo, 1977, 133p. |Tese de Livre-Docência - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo|.
- 63 - LAJOLO, F.M. & MANCINI-FILHO, J. - Glicoproteínas com atividade antinutricional. An. XII Simp. An. Acad. Ciênc. Est. São Paulo, vol. I:62-100, 1988.

- 64 - LAJOLO, F.M.; MANCINI-FILHO, J.; MENEZES, E.W. Effect of a bean (**Phaseolus vulgaris**) α -amylase inhibitor on starch utilization. Nutr. Rep. Int., Los Altos, 30: 45-54, 1984.
- 65 - LANFER-MARQUEZ, U.M. Digestibilidade e características bioquímicas de proteínas do **Phaseolus vulgaris** L. São Paulo, 1979, 108p. |Dissertação Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Pau - 10|.
- 66 - LANFER-MARQUEZ, U.M. & LAJOLO, F.M. Composition and digestibility of albumin, globulin, and glutelins from **Phaseolus vulgaris**. J. Agric. Food Chem., Washington, 29:1068-74, 1981.
- 67 - LEE, C.C. Electron paramagnetic resonance (EPR) and baking studies on gamma irradiated flour. Cereal Chem., Saint Paul, 39:147-150, 1962.
- 68 - LIENER, I.E. The effect of heat processing and storage on the nutritive value of proteins of importance in the cereal industry. Cereal Chem., Saint Paul, 8:162-185, 1950.
- 69 - LIENER, I.E. Toxic constituents of plant foodstuffs . Food Science & Technology Series. Academic Press , 1980, 502p.
- 70 - LIENER, I.E. Trypsin inhibitors: concern for human nutrition or not? J. Nutr., Philadelphia, 116(5): 920-923, 1986.
- 71 - LIMA, A.L.; MANCINI-FILHO, J.; DOMINGUES, J.B.; LAJOLO, F. M. Propriedades hemaglutinantes, mitogênica e tóxica de variedades brasileiras de feijões (**Phaseolus vulgaris**, L.). Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo, 16: 145-154, 1980.

- 72 - LIS, H. & SHARON, N. In the Biochemistry of Plants. Vol. 6. Proteins and Nucleic Acids, New York, Academic Press, 1981, 371-447.
- 73 - LOLAS, M.G. & MARKAKIS, P. Phytic acid and other phosphorus compounds of beans (**Phaseolus vulgaris** L.) J. Agr. Food Chem., Washington, 23(1):13-15, 1975.
- 74 - LOOMIS, W.D. & BATTAILE, J. Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. Phytochemistry, New York, 5:423-28, 1966.
- 75 - LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J.- Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., Baltimore, 193:265-75, 1951.
- 76 - LYMAN, R.L.; OLDS, B.A.; GREEN, G.M. Chymotrypsinogen in the intestine of rats fed soybean trypsin inhibitor and its inability to suppress pancreatic enzyme secretions. J. Nutr., Philadelphia, 104:105-110, 1974.
- 77 - MACRAE, R. & ZAND-MOGHADDAM, A. The determination of the component oligosaccharides of Lupinseeds by high pressure liquid chromatography. J. Sci. Food Agric., Washington, 29:1083-6, 1978.
- 78 - MANCINI-FILHO, J. Efeito das fito-hemaglutininas de feijões (**Phaseolus vulgaris** L.) sobre a mucosa intestinal. São Paulo, 1982, 75p. [Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo].
- 79 - MANCINI-FILHO, J. & LAJOLO, F.M. - Fatores anti-nutricionais em diferentes variedades de feijões (**Phaseolus vulgaris** L.). Ciência e Cultura, S. Paulo, 33:94-7, 1981.

- 80 - MANCINI-FILHO, J.; SERVOS, S.; LAJOLO, F.M. Atividade antiamilásica em preparações de fitohemaglutininas. Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo, 14:43-54, 1976.
- 81 - MANCINI-FILHO, J.; VIZEU, D.M.; LAJOLO, F.M. Lectins from red kidney beans: radiation effect on agglutinating and mitogenic activity. J. Food Sci., Chicago, 44:1194-96, 1979.
- 82 - MEJIA, E.G. Efecto de diferentes condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo de la dureza del frijol. Arch. Latinoam. Nutr., Guatemala, 32(2):258-274, 1982.
- 83 - MENEZES, E.W. & LAJOLO, F.M. Inhibition of starch digestion by a black bean alpha amylase inhibitor, in normal and diabetic rats. Nutr. Rep. Int., Los Altos, 36(6):1185-95, 1987.
- 84 - MERRIT, C. Jr. Symposium on current studies on the chemistry of food irradiation. J. Agric. Food Chem., Washington, 26(1):1-35, 1978.
- 85 - MERRIT, C. Jr.; VAJDI, M.; ANGELINI, P. A quantitative comparison of the yields of radiolysis products in various meats and their relationship to precursor. J. Am. Oil Chem. Soc., Champaign, 62(2):708-713, 1985.
- 86 - METTA, V.C. & JOHNSON, B.C. Biological value of gamma irradiated corn protein and wheat gluten. J. Agric. Food Chem., Washington, 7:131-133, 1959.
- 87 - MILLERD, A. & SPENCER, D. Changes in RNA - synthesizing activity and template activity in nuclei from cotyledones of developing pea seeds. Aust. J. Plant Physiol., Melbourne, 1:331-341, 1974.

- 88 - MOLINA, M.R.; BATEN, M.A.; GOMEZ, R.B.; KING, K.W.; BRESSA NI, R. Heat treatment: a process to control the development of the hard to cook phenomenon in black beans (**Phaseolus vulgaris**). J. Food Sci., Chicago, 41:661-666, 1976.
- 89 - MORAN, E.T.; SUMMERS, J.D.; BAYLEY, H.S. Effect of cobalt 60 gamma irradiation on the utilization of energy, protein and phosphorus from wheat bran by the chicken. Cereal Chem., Saint Paul, 45:469-479; 1968.
- 90 - MORRIS, H.J.; OLSON, R.L.; BEAN, R.C. Processing quality of varieties and strains of dry beans. Food Technol., Chicago, 4:247-251, 1950.
- 91 - MULLER, F. Cooking quality of pulses. J. Sci. Food Agric., Washington, 18:292-94, 1967.
- 92 - NAWAR, W.W. Radiolysis of nonaqueous components of foods. In: Preservation of Food by Ionizing Radiation. Vol. II, Josephson, E.S. & Peterson, M.S. ed., CRC Press. Boca Raton, Florida. 1983. 75-124.
- 93 - NAWAR, W.W. Comparison of chemical consequences of heat and irradiation treatments of lipids. In: ELIAS, P. S. & COHEN, A. eds, Recent advances in food irradiation. 1983. 115-128p.
- 94 - NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. Food Chemistry. 2.ed. New York, Marcel Dekker, 1985. p.139-244.
- 95 - NENE, S.P.; VAKIL, U.K.; SREENIVASAN, A. Effect of gamma-irradiation on red gram (**Cajanus cajan**) proteins. J. Food Sci., Chicago, 40:815-819, 1975.
- 96 - NENE, S.P.; VAKIL, U.K.; SREENIVASAN, A. Effect of gamma radiation on physico-chemical characteristics of red gram (**Cajanus cajan**) starch. J. Food Sci., Chicago, 40:943-47, 1975.

- 97 - O'DELL, B.L. & BOLAND, A. Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oilseed meals. J. Agric. Food Chem., Washington, 24:4-8, 1976.
- 98 - ORNSTEIN, L. & DAVIS, B.T. Disc Electrophoresis. Ann. N.Y. Acad. Sci., New York, 121:305-20, 1964.
- 99 - OSBORNE, T.B. The proteins of the kidney beans (**Phaseolus vulgaris**). J. Am. Chem. Soc., Washington, 16: 633-643, 1894.
- 100 - PLHAK, L.C.; STANLEY, D.W.; HOHLBERG, A.I.; AGUILERA, J. M. Hard-to-cook in black beans. Effect of pre-treatment and storage condition on extractable phenols and peroxidase activity. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., Ottawa, 20(5):378-382, 1987.
- 101 - PROSKY, L.; ASP, N.G.; FURDA, I.; DEVRIES, J.W.; SCHWEIZER, T.F.; HARLAND, B.F. Determination of total fiber in foods, food products, and total diets: interlaboratory study. J. Assoc. off Anal. Chem., Washington, 67(6):1044-1052, 1984.
- 102 - PUSZTAI, A. General properties of a protein inhibitor from the seeds of kidney bean. Eur. J. Biochem., Berlin, 5:252-58, 1968.
- 103 - PUSZTAI, A. The biological effects of lectins in the diet of animals and man. In: Lectins - Bog-Hansen, T.C. & Van Driessche, E., ed., New York, 1986. v.5, p. 317-327.
- 104 - PUSZTAI, A.; CLARKE, E.M.; KING, T.P.; STEWART, J.C. - Nutritional evaluation of kidney beans (**Phaseolus vulgaris**): Chemical composition, lectin content and nutritional value of selected cultivars. J. Sci. Food Agric., Washington, 30:843-848, 1979.

- 105 - PUSZTAI, A.; OLIVEIRA, J.T.A.; GRANT, G. Local (gut) and systemic responses to dietary lectins. IRCS Med. Sci., Lancaster, 14:205-208, 1986.
- 106 - RACKIS, J.J. & MCGHEE, J.E. Biological threshold levels of soybean trypsin inhibitors by rat bioassay. Cereal Chem., St. Paul, 52:85-92, 1975.
- 107 - RAICA, N. Jr. & HOWIE, D.L. Review of the United States Army. Wholesomeness of Irradiated Food Program . (1955-1966). Pub. 1273. Apud. WIERBICKI, E. et al. - Ionizing energy and food processing and pest control: I - Wholesomeness of food treated with ionizing energy. Rep n° 109. Council for agricultural Science & Technology, 1986.
- 108 - RAO, C.N. & RAO, B.S.N. Influence of starches from different sources on protein utilization in rats. Br. J. Nutr., London, 40:1-19, 1978.
- 109 - RAO, V.S. & VAKIL, U.K. Effects of gamma-irradiation on flatulence-causing oligosaccharides in green gram (**Phaseolus aureus**). J. Food Sci., Chicago, 48:1791-1795, 1983.
- 110 - RAO, V.S. & VAKIL, U.K. Effects of gamma-radiation on cooking quality and sensory attributes of four legumes. J. Food Sci., Chicago, 50:372-375, 1985.
- 111 - REDDY, S.J.; PUBOLS, M.H.; MCGINNIS, J. Effect of gamma irradiation on nutritional value of dry field beans (**Phaseolus vulgaris**) for chicks. J. Nutr. , Philadelphia, 109:1307-12, 1979.
- 112 - RICHARDSON, M. Plant protein inhibitors of enzymes : their role in animal and plant defence. J. Biol. Educ., London, 15:178-182, 1981.

- 113 - RIVERA, J.A.; HOHLBERG, A.I.; AGUILERA, J.M.; PLHAK, L. C.; STANLEY, D.W. Hard-to-cook defect in black beans - Peroxidase characterization and effect of heat treatment and storage conditions on enzyme inactivation. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. , Ottawa, 22(3):270-275, 1989.
- 114 - ROCKLAND, L.B. & JONES, F.T. Scanning electron microscope studies on dry beans. Effects of cooking on the cellular structure of cotyledons in rehydrated large lima beans. J. Food Sci., Chicago, 39:342-346, 1974.
- 115 - ROSSI, M.A.; MANCINI-FILHO, J.; LAJOLO, F.M. Jejunal ultrastructural changes induced by kidney bean (**Phaseolus vulgaris**) lectins in rats. Br. J. Exp. Pathol., London, 65:117-123, 1984.
- 116 - ROUBAL, W.T. & TAPPEL, A.L. Polymerization of proteins induced by free radical lipid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys., New York, 113:150-159, 1966.
- 117 - SALUNKHE, D.K.; JADHAV, S.J.; KADAM, S.S.; CHAVAN, J.K.- Chemical, biochemical and biological significance of polyphenols in cereals and legumes. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., Florida, 17(3):277-305, 1982.
- 118 - SATHE, S.K.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. Dry beans of **Phaseolus**. A review. Part. 1. Chemical Composition: Proteins. CRC. Crit. Rev. Food Sci. & Nutr., Florida, 20(1):1-46, 1984.
- 119 - SEFA-DEDEH, S. & STANLEY, D.W. Textural implications of the microstructure of legumes. Food Technol. , Chicago, 33:77-83, 1979.

- 120 - SEIDL, D.; JAFFÉ, M.; JAFFÉ, W.G. Digestibility and proteinase inhibitory action of a kidney bean globulin. J. Agric. Food Chem., Washington, 25:1096-1098, 1977.
- 121 - SGARBIERI, V.C.; ANTUNES, P.L.; ALMEIDA, L.D. - Nutritional evaluation of four varieties of dry beans (**Phaseolus vulgaris** L.). J. Food Sci., Chicago, 44:1306-1308, 1979.
- 122 - SGARBIERI, V.C. & WHITAKER, J.R. Partial characterization of trypsin-chymotrypsin inhibitors from bean (**Phaseolus vulgaris** L., var. Rosinha G2): chemical and physical properties. J. Food Biochem., Westport, 5: 215-232, 1981.
- 123 - SGARBIERI, V.C. & WHITAKER, J.R. Physical, chemical, and nutritional properties of common bean (**Phaseolus**) proteins. Adv. Food Res., Orlando, 28:93-166, 1982.
- 124 - SHARON, N. & LIS, H. Lectins: cell agglutinating and sugar specific proteins. Science, Washington, 177: 949-959, 1972.
- 125 - SHATE, K.S.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. Dry beans of Phaseolus. A review. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. Crit. Rev. Food Sci. & Nutr., Florida, 21:41-93, 1984.
- 126 - SHATE, K.S.; RANGNEKAR, P.D.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. Isolation and partial characterization of black gram (**Phaseolus mungo**) starch. J. Food Sci., Chicago, 47(5):1524-28, 1982.

- 127 - SINGH, S.; NATH, N.; NATH, H.P. Iodine binding capacity of native starches of Indian food grains. Biochem. J., London, 63:718-723, 1956.
- 128 - SMIRNOVA-IKONNIKOVA, M.I.; PETROVA, T.M.; MOKHNACH, V.O. - Amylose content in starch of grains and legumes. Doklady Akad. Nauk. SSSR, 140:485, 1961. Apud Chem. Abstr., 56:712i.
- 129 - STANLEY, D.W. & AGUILERA, J.M. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes. The influence of structure and composition. J. Food Biochem., Westport, 9:277-324, 1985.
- 130 - SUN, S.M. & HALL, T.C. Solubility characteristics of globulins from **Phaseolus** seeds in regard to their isolation and characterization. J. Agric. Food Chem., Washington, 23:184-9, 1975.
- 131 - SURGEON GENERAL. Department of the army statement on the wholesomeness of irradiated foods: Government Printing Office, Washington, D.C., 1965. Apud. WIERBICKI, E. et al. - Ionizing energy in food processing and pest control: I - Wholesomeness of food treated with ionizing energy. Rep. n° 109. Council for Agricultural Science & Technology, 1986.
- 132 - TANIZAKI, M.M. & LAJOLO, F.M. - Kinetics of the interaction of pancreatic alpha-amylase with a kidney bean (**Phaseolus vulgaris**) - amylase inhibitor. J. Food Biochem., Westport, 9:71-84, 1985.
- 133 - TAKAYAMA, K.H.; MUNETA, P.; WIESE, A.C. Lipid composition of dry beans and its correlation with cooking time. J. Agr. Food Chem., Washington, 13:269-272, 1965.

- 134 - TAUB, I.A. Free radical reactions in food. J. Chem. Educ., Washington, 61:313-324, 1984.
- 135 - THAYER, D.W. & WIERBICKI, W. Toxicology studies of gamma and electron irradiated chicken. Activities Report, 31:99-105, 1985. Apud WIERBICKI, E. et al. - Ionizing energy in food processing and pest control: I - Wholesomeness of food treated with ionizing energy. Rep. n° 109, Council for Agricultural Science & Technology, 1986.
- 136 - VARRIANO-MARSTON, E. & ORNANA, E. Effects of sodium salt solution on the chemistry and morphology of black beans (***Phaseolus vulgaris***). J. Food Sci., Chicago, 44:531-33, 1979.
- 137 - VARRIANO-MARSTON, E. & JACKSON, J.M. Hard-to-cook phenomenon in beans: structural changes during storage and inhibition. J. Food Sci., Chicago, 46:1379-85, 1981.
- 138 - WAGNER, J.R.; CARSON, J.F.; BECKER, R.; GUMBMANN, M.R. ; DANHOF, I.E. Comparative flatulence activity of bean and bean fractions for man and the rat. J. Nutr., Philadelphia, 107:680-86, 1977.
- 139 - WHITAKER, J.R. Protease and amylase inhibitors in biological materials. In "Xenobiotics in food and feeds". ACS. Symposium Series. N° 234:15-46, 1983.
- 140 - WHITAKER, J.R.; FINARDI-FILHO, F.; LAJOLO, F.M. Parameters involved in binding of porcine pancreatic alpha-amylase with Black Bean inhibitor. Role of sulphhydryl groups, chloride, calcium, solvent composition and temperature. Biochimie, Paris, 70:1153-61, 1988.

- 141 - WHITAKER, J.R. & SGARBIERI, V.C. Purification and composition of the trypsin-chymotrypsin inhibitors of **Phaseolus vulgaris** L. var. Rosinha G2. J. Food Biochem., Westport, 5:197-213, 1981.
- 142 - W.H.O. - Wholesomeness of Irradiated Food. Report of a joint FAO/IAEA/WHO. Expert Committee. Geneva, Switzerland, 1981. 40p. [Technical Report n° 659].
- 143 - WIERBICKI, E. Technological and irradiation conditions for radappertization of chicken products used in United States Army. Raltech Toxicology Study, pp. 79-99, 1985. Apud - WIERBICKI, E. et al. - Ionizing energy in food processing and pest control: I - Wholesomeness of food treated with ionizing energy. Rep. n° 109. Council for Agricultural Science & Technology, 1 986.
- 144 - WIERBICKI, E. et al. Ionizing energy in food processing and pest control: I - Wholesomeness of food treated with ionizing energy. Rep. n° 109. Council for Agricultural Science & Technology, 1986.
- 145 - YACHNIN, S. & SVENSON, R.H. The immunological and physicochemical properties of mitogenic proteins derived from **Phaseolus vulgaris**. Immunology, Oxford, 22:871-883, 1972.

RESUMO

Estudou-se os efeitos das radiações ionizantes, sobre as seguintes variedades brasileiras de feijões (***Phaseolus vulgaris***, L.): Catu, Rajado e Carioca, armazenadas por diferentes períodos. Foram tomadas como parâmetros analíticos as seguintes determinações: os tempos de hidratação e cocção; o valor biológico; o perfil eletroforético das proteínas; os teores de açúcares redutores, de fibras e de oligossacarídeos; as atividades da amiloglicosidase e das fitohemaglutininas; os conteúdos da antitripsina, do inibidor da α -amilase e dos ácidos graxos, dos feijões que receberam diferentes doses de raios gama provenientes de uma fonte de cobalto 60.

Verificou-se que as irradiações gama promovem diversas modificações físico-químicas nos grãos, diminuindo significativamente o tempo de cocção dos feijões "difíceis para cozinhar", sem comprometer, até determinadas doses o valor biológico das suas proteínas.

ABSTRACT

12101
The radiation effects on physico-chemical and nutritional characteristics of three Brazilian varieties of beans (**Phaseolus vulgaris**, L.) - Catu, Rajado and Carioca - , were studied. The analytical parameters were obtained by the determination of soaking and cooking times, biological value in rats, protein electrophoretic profile, reductors sugars, oligosaccharides, fiber and fatty acids content. Also , amyloglucosidase, phytohemagglutinins, α -amylase and tryptic inhibitors activities were analysed.

It was observed the gamma radiation until determined doses promotes changes on those parameters subsequently reducing substantially the cooking time without modification of the biological value of the proteins. This alteration was particularly noticed in the hard-to-cook beans.