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

Bioacessibilidade de compostos fenólicos e minerais em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

Rafael Segundo Vela Paredes

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

Piracicaba
2017

Rafael Segundo Vela Paredes
Bacharel em Ciências da Indústria Alimentaria

Bioacessibilidade de compostos fenólicos e minerais no feijão comum
(*Phaseolus vulgaris* L.)

Orientador:
Profa. Dra. **SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA**

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

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Vela Paredes, Rafael Segundo

Bioacessibilidade de compostos fenólicos e minerais em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) / Rafael Segundo Vela Paredes. - - Piracicaba, 2017.

79 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Bioacessibilidade 2. *Phaseolus vulgaris* L. 3. Compostos fenólicos 4. Minerais I. Título

À memória de Sergio e minha mãe que desde o céu
guiam meu caminho.

AGRADECIMENTOS

Agradecer a minha família por me compreender e pensar em mim cada dia e dar-me toda sua confiança por ficar tão longe deles, não cabe palavras para agradecer-lhes toda essa confiança, obrigado.

À Profa. Dra. Solange Guidolin Canniatti Brazaca, pela orientação, motivação, paciência e amizade, estarei grandemente agradecido por aceitar me orientar.

Aos membros da banca pelas contribuições para melhorar o presente trabalho.

À galera do laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição, à técnica Regina, aos doutorandos Paulo, Fernanda e com muito carinho a Nataly que sei que desde Espanha sabe que estarei agradecido. Às novas mestrands Larissa, Talita, Stephanie, Flavia. Não poderia deixar de agradecer à Samara Harada, mais que uma colega e amiga foi uma irmã, sempre lembrarei nossos momentos de sofrência e risadas no laboratório para acertar as metodologias e mais por me ensinar e ajudar no português, eternamente agradecido.

Às meninas do Grupo Sertanejo: Thais Merlo, Renta Cavalaro, Samara Harada e Allana Dos Santos, muito obrigado por me ensinar o ritmo popular do Brasil, me fizeram sentir como em família, muito obrigado gente.

Ao Programa Nacional de Becas y Crédito Educativo – PRONABEC, do Governo Peruano pelo financiamento do mestrado obrigado pela bolsa de estudos e por ser parte nesta importante etapa na minha vida.

À Galera da republica B.A. por me compartilhar muitos momentos de convivência inesquecíveis, estarei agradecido com cada um dos integrantes e também os que estiveram pouco tempo: Fagner, Gleysson, Lucas, Caio, Bruno Cardillo, Tatiana, Adijailton, Bruno Angelini; ajudaram muito em melhorar meu português com suas correções o tempo todo.

Agradecimento especial ao Consulado Peruano por me fazer sentir como em casa, sentir o carinho, amizade e sobre tudo seu apoio nos momentos que mais precisei: Erick, Carmen, Dario, Claudio, Melina, Meliza e Nanci, vocês foram como meus irmãos.

A cada uma das pessoas que ajudaram direta ou indiretamente na realização para que este trabalho pudesse chegar a concluir.

Muito obrigado!!.

EPÍGRAFE

“The mind that opens up to a new idea never returns to its original size”

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
RESUMEN	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
1.1.1. Feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	12
1.1.2. Compostos bioativos no feijão comum	13
1.1.3. Minerais nos grãos de feijão comum.....	16
1.1.4. Cocção ou tratamento térmico em grãos de feijão comum.....	18
1.1.5. Bioacessibilidade e Biodisponibilidade.....	18
REFERÊNCIAS	19
2. VARIAÇÃO DO CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM (<i>Phaseolus vulgaris</i> L) ANTES E DEPOIS DO COZIMENTO ..23	
RESUMO.....	23
ABSTRACT	23
2.1 INTRODUÇÃO	24
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
2.2.1 Amostras	25
2.2.2 Preparo das amostras	26
2.2.3 Reagentes	26
2.2.4 Determinação da Umidade	26
2.2.5 Medida da Cor.....	26
2.2.6 Extração dos compostos fenólicos.....	27
2.2.7 Determinação de compostos fenólicos totais (FT)	27
2.2.8 Determinação de flavonoides totais (FVT)	27
2.2.9 Determinação de ácidos fenólicos e flavonoides por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	28
2.2.10 Determinação da capacidade antioxidante	29
2.2.11 Análise estatística.....	30
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
2.3.1 Hidratação e Cozimento	30
2.3.2 Umidade	30
2.3.3 Cor.....	31
2.3.4 Compostos fenólicos totais e Flavonoides totais.....	34
2.3.5 Ácidos fenólicos e flavonoides por CLAE.....	36
2.3.6 Capacidade antioxidante	40
2.3.7 Análise dos componentes Principais (ACP).....	42
2.4 CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS	43
3. ALTAS CONCENTRAÇÕES DE MINERAIS EM CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM (<i>Phaseolus vulgaris</i> L) ANTES E APÓS DO COZIMENTO	49
RESUMO.....	49
ABSTRACT	49
3.1. INTRODUÇÃO	49
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	52
3.2.1. Reagentes	52
3.2.2. Amostras	52
3.2.3. Determinação de Cinza	52
3.2.4. Determinação de minerais	52
3.2.5. Análise estatística.....	55
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.3.1. Cinzas	55

3.3.2. Determinação de minerais.....	56
3.3.3. Análise dos componentes principais (ACP).....	59
3.4. CONCLUSÕES.....	60
REFERÊNCIAS.....	61
4. DIGESTÃO GASTROINTESTINAL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E MINERAIS EM CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) MEDIANTE DIALISE IN VITRO.	63
RESUMO	63
ABSTRACT.....	63
4.1 INTRODUÇÃO.....	63
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	64
4.2.1. Reagentes	64
4.2.2. Amostras	65
4.2.3. Digestão gastrointestinal (GI) <i>in vitro</i>	65
4.2.4. Determinação de compostos fenólicos e flavonoides.....	66
4.2.5. Determinação de minerais.....	67
4.2.6. Análise estatística.....	68
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	68
REFERÊNCIAS.....	75
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	79

RESUMO

Bioacessibilidade de compostos fenólicos e minerais em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L)

Os grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L) são considerados uma das principais fontes de nutrientes em muitas regiões do mundo. Estes grãos podem conter proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas e minerais indispensáveis para a nutrição humana. Além disso, as variações nas colorações do tegumento indicam a presença de compostos fenólicos com características antioxidantes. Estes grãos são consumidos geralmente cozidos pelo fato deste processo ajudar a melhorar as características sensoriais, a digestibilidade e a redução de possíveis constituintes antinutricionais. Sendo assim, a determinação da absorção de um nutriente na dieta não é feita somente pela quantificação do teor total, é necessário saber quanto realmente é liberado da matriz alimentar, e o que aproximadamente pode ser aproveitado pelo organismo. Atualmente, estudos da bioacessibilidade de nutrientes em distintas matrizes alimentares vem aumentando nos últimos anos, mas estudos sobre essa abordagem em grãos de feijão comum ainda são escassos. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a Bioacessibilidade de compostos fenólicos e minerais em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L). Em primeiro lugar estudou-se a variação do conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante em cultivares de feijão comum, antes e depois do cozimento. Sendo possível alegar que dependendo do cultivar de feijão, o cozimento dos grãos possibilita o aumento do conteúdo de fenólicos totais e flavonoides. Além disso o cozimento permite a liberação de ácidos fenólicos e flavonoides ligados a outros compostos na matriz alimentar. Da mesma forma, foram avaliadas as concentrações de minerais em cultivares de feijão comum, antes e após do cozimento. Os resultados confirmam que os cultivares de feijão apresentam altos conteúdos de Fe, Zn, Cu, K, Mg, Mn e P; como também uma boa fonte de Ca mesmo após do cozimento. Por último, a digestão gastrointestinal de compostos fenólicos e minerais foi realizada em cultivares de feijão comum, cozidos mediante dialise *in vitro*. Observou-se que o processo gastrointestinal produz reduções significativas de compostos fenólicos e minerais nos cultivares de feijão comum cozidos desde o processo da digestão gástrica até a digestão intestinal. Além disso, somente entre o 3,08 - 6,90% do conteúdo dos compostos fenólicos totais e 5,56 - 6,73% dos flavonoides totais foram considerados bioacessíveis. Foi observado que o ácido gálico (ácido fenólico) e a epicatequina (flavonoide) possuem as maiores porcentagens de bioacessibilidade entre todos os compostos fenólicos reportados neste estudo. Por outro lado, as porcentagens de bioacessibilidade dos minerais foram: Cu 3,45–36,66 %; Zn 21,50–24,88%; Fe 0,18–2,84%; Mn 3,79–8,68%, Ca 3,84–8,27 %; Mg 13,57–14,92%; K 18,75–25,63% e P 9,52–13,75%. Desta forma, é evidente que o feijão proporciona uma importante quantidade de compostos fenólicos e minerais à dieta.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.; Compostos fenólicos; Minerais; Bioacessibilidade

ABSTRACT

Bioaccessibility of phenolic compounds and minerals in common bean (*Phaseolus vulgaris* L)

Common bean grains (*Phaseolus vulgaris* L) are considered one of the main sources of nutrients in many regions of the world. These grains may contain essential proteins, lipids, carbohydrates, vitamins and minerals to the human nutrition. In addition, variations in the color of teguments indicate the presence of phenolic compounds with antioxidant characteristics. These grains are usually consumed cooked so this process helps to improve sensory characteristics, digestibility and reduces possible antinutritional constituents. Therefore, to estimate the absorption of some nutrients in the diet the determination of total contents it is not sufficient, for this it is necessary to know how much in reality is released from the food matrix and what approximately can be used by the organism. Currently, studies of bioaccessibility of nutrients in different food matrices have increased, but studies on this approach in common bean grains are still scarce. The objective of this study was to evaluate the bioaccessibility of phenolic compounds and minerals in common bean (*Phaseolus vulgaris* L). Firstly, the variation of phenolic compounds content and antioxidant capacity in common bean cultivars, before and after cooking was studied. It is possible to argue that depending on the bean cultivar, the cooking of the grains makes it possible to increase the content of total phenolics and flavonoids. In addition, cooking allows the release of phenolic acids and flavonoids bound to other compounds in the food matrix. Likewise, the concentrations of minerals in common bean cultivars before and after cooking were evaluated. The results confirm that the bean cultivars present high contents of Fe, Zn, Cu, K, Mg, Mn and P; as well it is a good source of Ca even after cooking. Finally, gastrointestinal digestion of phenolic and mineral compounds in common bean cultivars cooked was done by *in vitro* dialysis. It has been observed that the gastrointestinal process produces significant reductions of phenolics and mineral compounds in common bean cultivars cooked from the gastric digestion process to intestinal digestion. In addition, only between 3.08 - 6.90% of total phenolic compounds content and 5.56 - 6.73% of total flavonoids were considered bioaccessible. It was observed that gallic acid (phenolic acid) and epicatechin (flavonoid) have the highest percentages of bioaccessibility among all the phenolic compounds reported in this study. On the other hand, the percentages of bioaccessibility of minerals were: Cu 3.45-36.66%; Zn 21.50-24.88%; Fe 0.18-2.84%; Mn 3.79-8.68%, Ca 3.84-8.27%; Mg 13.57-14.92%; K 18.75-25.63% and P 9.52-13.75%. In this way, it is evident that the beans provide an important amount of phenolic compounds and minerals to the diet.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L.; Phenolic compounds; Minerals; Bioaccessibility

RESUMEN

Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos y minerales en frejol común (*Phaseolus vulgaris* L)

Los granos de frejol común (*Phaseolus vulgaris* L) se consideran una de las principales fuentes de nutrientes en muchas regiones del mundo. Estos granos pueden contener proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales indispensables en la nutrición humana. Además, las variaciones en las coloraciones del tegumento indican la presencia de compuestos fenólicos con características antioxidantes. Estos granos se consumen generalmente cocidos por lo que este proceso ayuda a mejorar las características sensoriales, la digestibilidad y reduce los posibles constituyentes antinutricionales. Por lo tanto, para estimar la absorción de algún nutriente en la dieta no es suficiente determinar el contenido total, es necesario saber cuanto realmente se libera de la matriz alimentaria y lo que aproximadamente puede ser aprovechado por el organismo. Actualmente, estudios de la bioaccesibilidad de nutrientes en distintas matrices alimentarias han aumentado en los últimos años, pero estudios sobre este enfoque en granos de frejol común todavía son escasos. Ante eso, el presente trabajo tuvo por objetivo evaluar la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos y minerales en frejoles comunes (*Phaseolus vulgaris* L). En primer lugar se estudió la variación del contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en cultivares de frijol común antes y después de la cocción. Es posible argumentar que dependiendo del cultivar de frejol, la cocción de los granos posibilita el aumento del contenido de fenólicos y flavonoides totales. Además la cocción permite la liberación de ácidos fenólicos y flavonoides ligados a otros compuestos en la matriz alimentaria. De la misma forma, se evaluaron las concentraciones de minerales en cultivares de frijol común antes y después de la cocción. Los resultados confirman que los cultivares de frijol presentan altos contenidos de Fe, Zn, Cu, K, Mg, Mn y P; como también una buena fuente de Ca incluso después de la cocción. Por último, se evaluó la digestión gastrointestinal de compuestos fenólicos y minerales en cultivares de frijol común cocidos mediante dialisis *in vitro*. Se observó que el proceso gastrointestinal produce reducciones significativas de compuestos fenólicos y minerales en los cultivares de frejol común cocidos desde el proceso de la digestión gástrica hasta la digestión intestinal. Además, sólo entre el 3,08 - 6,90 % del contenido de los compuestos fenólicos totales (FT) y el 5,56 - 6,73% de los flavonoides totales (FVT) se consideraron bioaccesibles. Se observó que el ácido gálico (ácido fenólico) y la epicatequina (flavonoide) poseen los mayores porcentajes de bioaccesibilidad entre todos los compuestos fenólicos reportados en este estudio. Por otro lado, los porcentajes de bioaccesibilidad de los minerales fueron: Cu 3,45 – 36,66%; Zn 21,50 – 24,88%; Fe 0,18 – 2,84%; Mn 3,79 – 8,68%, Ca 3,84 – 8,27%; Mg 13,57 – 14,92%; K 18,75 – 25,63% e P 9,52 – 13,75%. De esta forma, es evidente que el frejol común proporciona una importante cantidad de compuestos fenólicos y minerales a la dieta.

Palabras claves: *Phaseolus vulgaris* L.; Compuestos fenólicos; Minerales; Bioaccesibilidad

1. INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tem um lugar importante na dieta do ser humano, pois é considerado uma das principais fontes de nutrientes em muitas regiões do mundo. Os grãos de feijão podem conter proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas, minerais, etc. por isso, várias organizações da saúde recomendam seu consumo (Leterme, 2002). Cabe destacar que a FAO proclamou 2016 como o “Ano internacional das leguminosas”, que procura disseminar informações sobre seus benefícios, promover a produção, comércio, e incentivar novos usos ao longo da cadeia alimentar. Apesar disso, os grãos de feijão comum antes de serem consumidos passam por diversas etapas após de sua colheita, que vão desde a limpeza, seleção, classificação, hidratação até a cocção. Sendo a cocção uma das etapas mais importantes, uma vez que o consumo dos grãos não pode ser feito cru além de ajudar na digestibilidade dos nutrientes assim como na redução de possíveis antinutrientes presentes no grão. Após a cocção dos grãos, muitos dos nutrientes sofrem variações das quantidades iniciais e as vezes não corresponde ao que realmente o corpo aproveita que podem ser devido aos processos de cocção, hidratação, lixiviação, decomposição, oxidação, entre outros processos. Do mesmo modo, nem todos os compostos presentes no grão chegam a ser aproveitados pelo organismo, ou pela presença de algum outro composto ou porque muitas vezes esses compostos são dificilmente liberados da matriz alimentar.

Na ingestão dos alimentos podemos destacar dois processos diferenciados, o primeiro que consiste na liberação dos nutrientes da matriz alimentar que é chamado de bioacessibilidade e o segundo que é a absorção dos nutrientes chamado biodisponibilidade. Sendo a bioacessibilidade um campo pouco explorado em muitos alimentos e um passo importante para entender melhor o processo de liberação de compostos antes de ser absorvidos pelo organismo.

Por outro lado, entre todos os compostos encontrados nos grãos de feijão comum podemos destacar aos compostos fenólicos e os minerais que têm qualidades nutricionais e pela importância em nosso organismo. Estes compostos serão os principais objetos de estudo nesta dissertação, que visa determinar as quantidades bioacessíveis de compostos fenólicos e minerais presentes em quatro cultivares de feijão comum produzidos no Brasil. Para isso, a estruturação dessa dissertação foi dividida em capítulos que vão desde a composição inicial (grãos crus), após de seu cozimento (grãos cozidos) até as porcentagens de bioacessibilidade dos compostos fenólicos como dos minerais presentes nos grãos.

Na primeira parte (**capítulo 1**) apresenta-se a introdução juntamente com uma revisão da literatura e os conceitos básicos que serão utilizados em toda a pesquisa para a contextualização do assunto. Em relação os capítulos 2 e 3 estes consistem em avaliar o comportamento dos compostos fenólicos e minerais antes e depois do cozimento. No **capítulo 2** foram avaliadas as variações de umidade, cor instrumental, fenóis e flavonoides totais, assim como os ácidos fenólicos como os flavonoides, também a capacidade antioxidante por três métodos distintos (ABTS, DPPH e ORAC), após o cozimento. No **capítulo 3**, verificou-se a influência do cozimento na concentração de oito minerais (Ca, Fe, Zn, K, Mg, Mn, Cu e P). Por último no **capítulo 4**, foi realizada a determinação a bioacessibilidade, para os minerais e compostos fenólicos através da digestão gastrointestinal por diálise *in vitro*.

1.1. Revisão bibliográfica

1.1.1. Feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

Ao longo da história, o homem adquiriu conhecimento para a domesticação e desenvolvimento de variedades de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) capazes de se adaptar a condições específicas de cultivo, cuja relevância atual chega inclusive a transcender vínculos culturais e tradicionais de produção e consumo (Reyes et al., 2008). O panorama descrito por Jones (1999) não apresentam muitas alterações nos últimos anos, onde a produção dos grãos de feijão comum é feita em regiões tão diversas como América Latina, África, Oriente Médio, China, Europa, Estados Unidos e Canadá. A América Latina é o principal produtor e consumidor de feijão a América Latina, onde o feijão é um alimento tradicional e significativo, especialmente no Brasil, no México, na Zona Andina, na América Central e no Caribe.

O Brasil destaca-se por ser um dos maiores produtores de *Phaseolus vulgaris* L. tendo produção de 2,513 milhões de toneladas.ano⁻¹ segundo a última safra 2015/2016, com aproximadamente 2,837 milhões de hectares cultivados (Conab, 2017), e com estimativas de consumo em mais de 17 kg.hab⁻¹.ano⁻¹ em 2012/2013, com projeções de 22,4 kg.hab⁻¹.ano⁻¹ para 2021/2022 (Da Silva & Wander, 2013). Seu baixo custo e fácil acesso fazem desta leguminosa o alimento mais consumido pela maioria da população brasileira tanto rural como urbana, além de conter nutrientes como proteína vegetal (Hayat, Ahmad, Masud, & Ahmed, 2014), fibras (Bourdon, Olson, Backus, & Richter, 2001), carboidratos (Guillon & Champ, 2002), vitaminas (Afonso, 2010), minerais (Fe, Ca, Zn, K, Mg, Mn, Cu, P, entre outros) (Ribeiro et al., 2012). Na tabela 1.1, elaborou-se um resumo de alguns trabalhos que analisaram os teores dos constituintes da análise centesimal de várias cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tanto em feijões crus como em cozidos.

Tabela 1.1. Faixas da composição centesimal de várias cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

	Teor (%)		Referencia*
	Cru	Cozido	
Umidade	9,10 – 14,9	80,2 – 84,3	1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13
Cinzas	2,80 – 4,79	0,60 – 4,65	1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
Proteína	20,0 – 27,32	21,91 – 26,12	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
Gordura	0,75 - 3,02	0,50 – 2,04	1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
Carboidratos	56,52 – 68,61	11,8 – 68,19	1, 3, 5, 7, 8, 10, 11
Fibra	4,60 – 21,8	4,80 – 11,9	1, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11

*1.- (Shimelis & Rakshit, 2005); 2.- (Faroni, Cordeiro, De Alencar, Rozado, & Alves, 2006); 3.- (Ramírez-Cárdenas, Leonel, & Costa, 2008); 4.- (Chung, Liu, Pauls, Fan, & Yada, 2008); 5.- (De Araújo Delfino & Canniatti-Brazaca, 2010); 6.- (Wang, Hatcher, Tyler, Toews, & Gawalko, 2010); 7.- (Afonso, 2010); 8.- (Boye, Zare, & Pletch, 2010); 9.- (NEPA- Universidad Estadual de Campinas, 2011); 10.- (Ovando-Martínez, Osorio-Díaz, Whitney, Bello-Pérez, & Simsek, 2011); 11.- (Meyer, Rojas, Santanen, & Stoddard, 2013); 12.- (Raschen et al., 2014); 13.- (Dos Santos Sarmento et al., 2015).

Outra consideração que se tem em relação aos grãos de *Phaseolus vulgaris* L. é a coloração do tegumento no feijão, que indica a presença de quantidades consideráveis de compostos bioativos que em sua maioria são compostos fenólicos constituídos por ácidos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e antocianinas. (Gálvez Ranilla, Genovese, & Lajolo, 2007). Além disso, a cor do tegumento influencia no momento da compra, no preparo e consumo destes grãos. A preferência de compra/consumo do feijão comum no Brasil está relacionada com

a região. Em São Paulo por exemplo, a preferência é dada aos feijões de cores, que podem ser desde tonalidades de marrom ao Preto; o Roxinho de Minas Gerais; o Opaquinho; o Rosinha ou Chumbinho do Paraná; o Roxão ou Roxinho de Goiás; o Jalo ou Cavalo do Rio Grande do Sul. Do mesmo modo, na região sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) a preferência é pelos feijões produzidos localmente, preto e de cores. Portanto, destaca-se a preferência nacional por feijões com tegumentos pretos ou de cores (Abastecimento, 2014).

1.1.2. Compostos bioativos no feijão comum

Os compostos bioativos são substâncias químicas que se encontram em pequenas quantidades nas plantas e certos alimentos. Estes compostos exercem funções específicas no corpo que podem promover boa saúde, além disso, tem efeito benéfico, médio e longo prazo, na prevenção de doenças cardiovasculares, tipos de câncer e mudanças hormonais (Drago Serrano, López López, & Saínez Espuñes, 2006). Nos feijões, os compostos bioativos dominantes são os compostos fenólicos (Ranilla, Genovese, & Lajolo, 2007), substâncias que contém em sua estrutura química o anel fenólico, por isso, são divididos em diferentes classes, de acordo com os elementos estruturais ligados ao anel. Diante disso, a Tabela 1.1 elaborada por Araújo (2015) indica as classes e subclasses dos compostos fenólicos.

Figura 1.1. Classes e subclasses dos compostos fenólicos (Araújo, 2015).

Segundo Araújo (2015) (Figura 1.1) os ácidos fenólicos contêm um grupo carboxílico, sendo subdivididos em dois tipos: derivados do ácido benzoico e ácido cinâmico. Esses ácidos são raramente encontrados na forma livre, exceto em alimentos processados (congelados, esterilizados ou fermentados). As formas ligadas são derivadas glicosiladas ou ésteres dos ácidos quinico, shiquimico e tartárico. O principal representante dos ácidos hidroxicinâmicos é o ácido cafeico (Figura 1.2). Ocorre em alimentos principalmente na forma de ésteres com ácido quinico, denominado de ácido clorogénico (ácido 5-cafeoilquinico). É encontrado em diversas frutas e café, em elevada concentração.

Figura 1.2. Ácidos Hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos (Araújo, 2015)

Araújo (2015) menciona também que os flavonoides possuem duas subunidades de fenóis, incluindo seis subclasses, diferindo no estado de oxidação do anel pirano heterocíclico (anel C) e dos dois anéis aromáticos (A e B) (Figura 1.3). A variação no anel C heterocíclico é a base de classificação dos flavonoides em várias subclasses como indica a Figura 1.1. Acima de 5.000 compostos químicos são conhecidos e estão presentes na forma glicosilada com diferentes tipos de açúcares.

Flavonas							Flavonóis					
Nome	5	6	7	8	3'	4'	Nome	5	7	3'	4'	5'
Apigenina	OH	-	OH	-	OH	OH	Quercetina	OH	OH	OH	OH	-
Luteonina	OH	-	OH	-	OH	OH	Kaempferol	OH	OH	-	OH	-
Crisina	OH	-	OH	-	OH	OH	Galangina	OH	OH	-	-	-
Tangeretina	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Fisetina	-	OH	OH	OH	-
Nobiletina	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	Miricetina	OH	OH	OH	OH	OH
							Robinetina	-	OH	OH	OH	OH

Rutina (*quercetina 3-O-ram-gli*)

Flavanóis

Flavanóis						
Nome	5	6	7	8	3'	4'
Catequina	βOH	OH	OH	OH	OH	-
Epigallocatequina	αOH	OH	OH	OH	OH	OH
Galocatequina	OH	OH	OH	OH	OH	

Figura 1.3. Flavanóis (Araújo, 2015)

Ranilla, Genovese, & Lajolo (2007), indicaram que dentro do perfil fenólico das diferentes variedades de feijão, encontram-se os flavonóides, como as antocianidinas (delfinidina, malvidina, petunidina e suas formas glicosiladas) além dos flavonóis (campferol, epicatequina, quercetina, catequina e suas formas glicosiladas). Não menos importante são os ácidos fenólicos (p-cumárico, gálico, ferúlico, cafeico, sinápico, entre outros) e taninos condensados (Luthria & Pastor-Corrales, 2006; Xu & Chang, 2009; Mojica, Meyer, Berhow, & de Mejía, 2015).

1.1.3. Minerais nos grãos de feijão comum

A melhora na composição dos nutrientes nos alimentos, seja através de práticas agrícolas ou processos industriais, tem sido considerada essencial para diminuir a desnutrição em todo o mundo (Meyer et al., 2013). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as deficiências de minerais principalmente do ferro e o iodo assim como a vitamina A, são as formas mais comuns de desnutrição, levando a graves consequências para a saúde pública mundial; a falta destes nutrientes representa grande ameaça para o desenvolvimento das populações em todo o mundo, particularmente crianças e mulheres grávidas (World Health Organization, 2015). Conforme o Nutrition Landscape Information System (NLIS) da Organização Mundial de Saúde (OMS); 3,8 % ou seja mais de 7 milhões e meio da população Brasileira viveu em 2012 com menos de US \$ 1,00 por dia, por outro lado no período 2014-2016 <5% da população viveu abaixo do nível mínimo de consumo de energia alimentar (World Health Organization, 2017). É por isso que o conhecimento e consumo de alimentos que forneçam altas concentrações de nutrientes são importantes para a saúde humana, e a diminuição dessas deficiências é necessário.

Diante dessa necessidade, as leguminosas desempenham papel importante na nutrição humana, sendo um dos principais alimentos na dieta em países em desenvolvimento. Entre as leguminosas mais consumidas pela população encontramos ao feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), que constituem uma mistura complexa de nutrientes, e além de apresentar compostos bioativos, podem ser considerados como boa fonte de minerais (Carvalho et al., 2012; Ribeiro et al., 2012). Na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos publicado em sua 4ª edição pela NEPA- Universidade Estadual de Campinas (2011) é mostrado alguns minerais encontrados em cultivares que são consumidos no Brasil apresentados na Tabela 1.2.

Tabela 1.2. Conteúdo de minerais em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

Mineral	Carioca		Preto		Rosinha		Roxo	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Fe ¹	80,00	13,00	65,00	15,00	53,00	12,00	69,00	14,00
Zn ¹	29,00	7,00	29,00	7,00	40,00	13,00	33,00	10,00
Cu ¹	7,90	1,90	8,30	2,00	6,00	0,90	10,40	2,20
Ca ²	1,23	0,27	1,11	0,29	0,68	0,19	1,20	0,23
K ²	13,52	2,55	14,16	2,56	11,09	2,41	12,21	2,68
Mg ²	2,10	0,42	1,88	0,40	1,84	0,43	1,62	0,34
Mn ¹	10,20	2,80	13,20	3,70	10,80	4,60	13,40	3,20
P ²	3,85	0,87	4,71	0,88	3,94	0,90	3,94	1,06

Fonte: NEPA- Universidad Estadual de Campinas (2011)

¹ valores expressados em µg.g⁻¹ (base úmida)

²valores expressados em mg.g⁻¹ (base úmida)

Os seres humanos precisam quantidades apropriadas de minerais para seu bom funcionamento sendo estes nutrientes essenciais em inúmeras reações enzimáticas, além de exercer funções na síntese de macronutrientes e em processos fisiológicos (Galán, González, & Drago, 2013). Para isso foi elaborado a Tabela 1.3 onde são apresentadas as principais funções de alguns macro e micro minerais que serão alvo de estudo neste trabalho.

Tabela 1.3. Principais funções de alguns macro e micro minerais

Mineral	Siglas	Principais funções
<i>Macro mineral</i>		
Cálcio	Ca	Importante para ossos e dentes saudáveis; ajuda a relaxar e contrair os músculos; importante no funcionamento do nervo, saúde do sistema imunológico, coagulação do sangue e regulação da pressão arterial.
Magnésio	Mg	Encontrado nos ossos; necessário para a formação de proteínas, contração muscular, sistema imunológico, saúde e transmissão nervosa; ajuda a evitar constipação
Potássio	K	Necessário para o equilíbrio adequado do fluido, transmissão nervosa, contração muscular, manutenção adequada da pressão sanguínea e eliminação de resíduos
Fosforo	P	Encontrado em cada célula; necessário para o corpo sintetizar proteínas fornecendo o crescimento celular, manutenção e reparação; ATP e produção de energia; importante para ossos e dentes saudáveis; Parte do sistema que mantém o equilíbrio ácido-base; trabalha com as vitaminas do complexo B para ajudar no desempenho dos rins, músculos, batimentos cardíacos regulares e sinalização nervosa.
<i>Micro mineral</i>		
Ferro	Fe	Necessário para a formação de hemoglobina nos glóbulos vermelhos, que atraem o oxigênio dos pulmões para as células do corpo; necessário para o metabolismo energético; um meio de transporte para elétrons dentro das células; uma parte integrada de sistemas enzimáticos importantes em vários tecidos
Zinco	Zn	Uma parte importante na estrutura de muitas enzimas; necessário para produzir proteína e material genético; tem uma função principal na percepção do gosto, cicatrização de feridas, produção de esperma, desenvolvimento fetal normal, crescimento normativo e maturação sexual e saúde do sistema imunológico; melhorar o cheiro; melhora a digestão
Cobre	Cu	Uma parte estrutural em muitas enzimas; desejável para Fe e metabolismo de proteínas; essencial para o bom funcionamento dos órgãos e processos metabólicos; estimula o sistema imunológico para combater infecções; repara os tecidos lesionados; promove a cura; ajuda a neutralizar radicais livres evitando dano celular intenso
Manganês	Mn	Parte de muitas enzimas; importante para o funcionamento normal do cérebro e atividade adequada do sistema nervoso em todo o corpo; Vital para o crescimento adequado e normal da estrutura óssea humana; útil para mulheres pós-menopáusicas e prevenção da osteoporose

Fonte: Gharibzahedi & Jafari (2017).

1.1.4. Cocção ou tratamento térmico em grãos de feijão comum

Na dieta do ser humano é impossível consumir os grãos de feijão quando estão crus, pois são grãos com baixa umidade e precisam de uma hidratação ou maceração prévia. Assim, após da hidratação realiza-se o tratamento térmico ou cozimento que melhora as características sensoriais, a digestibilidade e reduz os constituintes antinutricionais presentes nos mesmos. No processamento doméstico de feijão comum, normalmente é feita a maceração dos grãos crus, onde são hidratados entre 12 e 16 horas. A água utilizada na maceração pode ser ou não usada no cozimento posterior (Costa de Oliveira et al., 1999).

Rodrigues et al. (2005) mostraram a correlação entre absorção de água e tempo de cozimento de cultivares de feijão, demonstrando que a hidratação dos grãos reduz o tempo de cocção. Por outro lado, Xu & Chang (2009) indicaram que quando os grãos de feijão são submetidos a hidratação, estes podem atingir seu ponto máximo entre 14-16 horas. Mas, tempos superiores a 15 horas pode ser desnecessário já que não possibilita o cozimento mais rápido, neste estudo trabalharemos com 14 horas de hidratação por ser um tempo adequado para os grãos atingirem o grau de hidratação.

O cozimento pode ajudar a melhorar as características sensoriais, a digestibilidade e reduzir os constituintes antinutricionais presentes nos grãos. Este processo pode influenciar de distintas formas os possíveis constituintes presentes no grão. Diversas formas de cozimento doméstico são conhecidas pela população, como a utilização de panelas simples, mas muitos preferem usar panelas de pressão, o que poupa tempo e reduz a utilização de combustível, aumentando o valor nutritivo e a palatabilidade. Por outro lado, Brigide et al. (2014) baseando-se nos resultados do trabalho de Molina, De La Fuente, & Bressani, (1975), indicaram mais uma alternativa para o cozimento dos grãos de feijão. Eles aplicaram um método que utiliza autoclave (15 psi, 121 °C por 10min) reduzindo ainda mais o tempo de espera para a cocção desejada.

1.1.5. Bioacessibilidade e Biodisponibilidade

Termos como biodisponibilidade, bioacessibilidade, e dialisabilidade, são comumente encontrados na literatura científica relacionada a alimentos. Na Figura 1.4 é mostrado alguns dos conceitos encontrados na literatura, mas neste trabalho, a biodisponibilidade foi definida como a quantidade em que uma substância ativa é absorvida no intestino delgado (Holst & Williamson, 2008). A bioacessibilidade foi definida como a quantidade de um componente do alimento que está presente no intestino humano, após sua libertação a partir da matriz do alimento, e pode ser capaz de atravessar a membrana intestinal (Shim, Ferruzzi, Kim, Janle, & Santerre, 2009). Além disso, para que um composto seja potencialmente biodisponível, deve primeiro ser bioacessível no alimento (Tagliazucchi, Verzelloni, Bertolini, & Conte, 2010). Entretanto, a dialisabilidade é uma das técnicas *in vitro* que pode se estimar a bioacessibilidade de um nutriente seja mineral, proteína, ou outro nutriente (Galán et al., 2013). Esta técnica se baseia na utilização de uma membrana semipermeável durante uma simulação gastrointestinal, depois de um período que permite que o alimento chegue ao equilíbrio. Sabendo que nenhum método *in vitro* pode reproduzir as verdadeiras condições fisiológicas (Galán et al., 2013), mas podem dar uma aproximação do que acontece.

Figura 1.4. Biodisponibilidade, bioacessibilidade e Bioatividade (Fernández-garcía, Carvajal-lérida, & Pérez-gálvez, 2009).

Miller et al. (1981) indica que a técnica da dialisabilidade apresentam resultados similares aos obtidos em estudos em humanos para ferro. Galán, González e Drago, (2013) sugerem que o método seja validado também para outros minerais tais como Zn, Ca, Mg entre outros.

Referências

- Abastecimento, S. de E. da A. e do. (2014). Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento(SEAB) Departamento de Economia Rural (DERAL) Feijão - Análise da Conjuntura Agropecuária.
- Afonso, S. M. E. (2010). Caracterização físico-química e actividade antioxidante de novas variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Instituto Politécnico de Bragança, 1–44.
- Araújo, J. M. A. (2015). Química de Alimentos: teoria e prática. (UFV, Ed.). Viçosa.
- Bourdon, I., Olson, B., Backus, R., & Richter, B. (2001). Beans, as a source of dietary fiber, increase cholecystokinin and apolipoprotein B48 response to test meals in men. *The Journal of*. Retrieved from <http://jn.nutrition.org/content/131/5/1485.short>
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2), 414–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>
- Brigide, P., Ataide, T. da R., Caniatti-Brazaca, S. G., Baptista, A. S., Adibe L, A., Nascimento Filho, V. F., ... Sant'Ana, A. E. G. (2014). Iron bioavailability of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) intrinsically labeled with ⁵⁹Fe. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(September 2015), 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.03.001>
- Carvalho, L. M. J., Corrêa, M. M., Pereira, E. J., Nutti, M. R., Carvalho, J. L. V, Ribeiro, E. M. G., & Freitas, S. C. (2012). Iron and zinc retention in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) after home cooking. *Food & Nutrition Research*, 56, 1–6. <https://doi.org/10.3402/fnr.v56i0.15618>
- Chung, H.-J., Liu, Q., Pauls, K. P., Fan, M. Z., & Yada, R. (2008). In vitro starch digestibility, expected glycemic index and some physicochemical properties of starch and flour from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Canada. *Food Research International*, 41, 869–875. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.03.013>

- Conab. (2017). Séries Históricas de Área Plantada, Produtividade e Produção, Relativas às Safras 1976/77 a 2015/16 de Grãos, 2001 a 2016 de Café, 2005/06 a 2016/17 de Feijão 1a, 2a e 3a safra. Retrieved April 10, 2017, from http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&ordem=produto&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcm_sconteudos
- Costa de Oliveira, A., Machado Reis, S. M. P., De carvalho Leite, E., Dias Vilela, E. S., Amaral Pádua, E., Marcondes Tassi, E. Ma., ... Ferreira Zinsly, P. (1999). Uso Doméstico Da Maceração e Seu Efeito no valor nutritivo do feijão-comum (*phaseolus vulgaris* L.). *Revista de Nutrição*, 1(4), 191–195.
- Da silva, O. F., & Wander, A. E. (2013). O Feijão-Comum no Brasil: Passado, Presente e Futuro. *Embrapa Arroz E Feijão*, 63.
- De Araújo Delfino, R., & Canniatti-Brazaca, S. G. (2010). Interação de polifenóis e proteínas e o efeito na digestibilidade proteica de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Pérola. *Ciencia E Tecnologia De Alimentos*, 30 (2), 308–312.
- Dos Santos sarmento, H. G., Santos de souza david, A. M., Gonçalves barbosa, M., Costa Nobre, D. A., & Ribeiro amaro, H. T. (2015). Determinação do teor de água em sementes de milho, feijão e pinhão-manso por métodos alternativos. *Revista Energia Na Agricultura*, 30, 249–256.
- Drago Serrano, M. E., López López, M., & Saínz Espuñes, T. D. R. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 37(4), 58–68.
- Faroni, L. R. A., Cordeiro, I. C., De Alencar, E. R., Rozado, A. F., & Alves, W. M. (2006). Influência do conteúdo de umidade de colheita e temperatura de secagem na qualidade do feijão. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola E Ambiental*, 10(1), 148–154. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-33748653833&partnerID=tZOtx3y1>
- Fernández-garcía, E., Carvajal-lérida, I., & Pérez-gálvez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research*, 29, 751–760. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.09.016>
- Galán, M. G., González, R. J., & Drago, S. R. (2013). Perfil nutricional y dializabilidad de minerales de alimentos de interés social. *Revista Española de Nutrición Humana Y Dietética*, 17(1), 3–9. <https://doi.org/10.14306/renhyd.19.3.152>
- Gálvez Ranilla, L., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2007). Polyphenols and Antioxidant Capacity of Seed Coat and Cotyledon from Brazilian and Peruvian Bean Cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 90–98. <https://doi.org/10.1021/jf062785j>
- Gharibzahedi, S. M. T., & Jafari, S. M. (2017). The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science & Technology Journal*, 62, 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.017>
- Guillon, F., & Champ, M. M.-J. (2002). Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *The British Journal of Nutrition*, 88 Suppl 3, S293–S306. <https://doi.org/10.1079/BJN2002720>
- Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., & Ahmed, A. (2014). Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. *Critical Reviews in Food*. Retrieved from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2011.596639>
- Holst, B., & Williamson, G. (2008). Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current Opinion in Biotechnology*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166908000311>
- Jones, A. L. (1999). *Phaseolus bean: Post-harvest Operations*. (AGSI/FAO: Mejia D. and Lewis B., Ed.). Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-av015e.pdf>
- Luthria, D. L., & Pastor-Corrales, M. A. (2006). Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2), 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.09.003>
- Meyer, M. R. M., Rojas, A., Santanen, A., & Stoddard, F. L. (2013). Content of zinc, iron and their absorption inhibitors in Nicaraguan common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 136, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.105>
- Miller, D. D., Schricker, B. R., Rasmussen, R. R., & Van Campen, D. (1981). An in vitro availability method for estimation from meals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34, 2248–2256.

- Mojica, L., Meyer, A., Berhow, M. A., & de Mejía, E. G. (2015). Bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) have similar high antioxidant capacity, in vitro inhibition of α -amylase and α -glucosidase while diverse phenolic composition and concentration. *Food Research International*, 69, 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.007>
- Molina, M. R., De La Fuente, G., & Bressani, R. (1975). Interrelationship between soaking and cooking time, nutritional value and other characteristics of beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Food Science*, 40(3), 587–591. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1975.tb12534.x>
- NEPA- Universidad Estadual de Campinas. (2011). Tabela Brasileira de Composicao de Alimentos, 161. <https://doi.org/10.1007/s10298-005-0086-x>
- Ovando-Martínez, M., Osorio-Díaz, P., Whitney, K., Bello-Pérez, L. A., & Simsek, S. (2011). Effect of the cooking on physicochemical and starch digestibility properties of two varieties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different water regimes. *Food Chemistry*, 129(2), 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.084>
- Ramírez-Cárdenas, L., Leonel, A. J., & Costa, N. M. B. (2008). Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 28(1), 200–213. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000100029>
- Ranilla, L. G., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2007). Polyphenols and antioxidant capacity of seed coat and cotyledon from Brazilian and Peruvian bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(1), 90–98. <https://doi.org/10.1021/jf062785j>
- Raschen, M. R., Lucion, F. B., Cichoski, A. J., Menezes, C. R. de, Wagner, R., Lopes, E. J., ... Barin, J. S. (2014). Determinação do teor de umidade em grãos empregando radiação micro-ondas. *Ciência Rural*, 44, 925–930. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000500026>
- Reyes, E., Centro De Estudios, R., Luz, P., Padilla, E., Doctorado, B., En, I., ... Veyna, P. (2008). Historia, naturaleza y cualidades alimentarias del frijol History, nature and bean's nutritious quality. *Revista Investigación Científica*, 4(3), 1870–8196.
- Ribeiro, N. D., Maziero, S. M., Prigol, M., Nogueira, C. W., Rosa, D. P., & Possobom, M. T. D. F. (2012). Mineral concentrations in the embryo and seed coat of common bean cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1–2), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.03.003>
- Shim, S., Ferruzzi, M., Kim, Y., Janle, E., & Santerre, C. (2009). Impact of phytochemical-rich foods on bioaccessibility of mercury from fish. *Food Chemistry*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608005906>
- Shimelis, E. A., & Rakshit, S. K. (2005). Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. *LWT - Food Science and Technology*, 38(4), 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.002>
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte, A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>
- Wang, N., Hatcher, D. W., Tyler, R. T., Toews, R., & Gawalko, E. J. (2010). Effect of cooking on the composition of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Food Research International*, 43(2), 589–594. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.012>
- World Health Organization. (2015). Micronutrients. Retrieved June 7, 2017, from <http://www.who.int/nutrition/topics/micronutrients/en/>
- World Health Organization. (2017). Nutrition Landscape Information System (NLIS): NLIS Country Profile: Brazil. Retrieved February 2, 2017, from <http://apps.who.int/nutrition/landscape/report.aspx?iso=BRA&rid=1620&goButton=Go>
- Xu, B., & Chang, S. K. C. (2009). Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4754–4764. <https://doi.org/10.1021/jf900695s>

2. VARIAÇÃO DO CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM (*PHASEOLUS VULGARIS* L) ANTES E DEPOIS DO COZIMENTO

Resumo

Os feijões são considerados uma das principais fontes de nutrientes em muitas regiões do mundo. A variação das colorações do tegumento encontrados nos cultivares de feijão comum indica a presença de compostos fenólicos com características antioxidantes. Os compostos fenólicos presentes nos grãos podem sofrer perdas devido ao cozimento. Sendo a cocção a forma mais habitual de preparar o feijão antes de seu consumo. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi determinar a influência do cozimento sobre os compostos fenólicos e sua capacidade antioxidante em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L) cultivados no Brasil. Foram utilizados 4 cultivares de feijão comum: BRS Esteio (preto), BRS Estilo (marrom), BRS Pitanga (vermelho) e BRS Bolinha Amarelinho (amarelo). As análises realizadas foram umidade, cor, compostos fenólicos totais, flavonoides totais, ácidos fenólicos e flavonoides assim como a capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e ORAC. Os resultados demonstraram que, os conteúdos de umidade nos grãos crus aumentaram significativamente após do cozimento ($P < 0,05$). Além disso, a coloração do tegumento nos grãos também foi afetada pelo cozimento apresentando diferenças significativas ($P < 0,05$) nos valores de L^* , hue e Chroma. Após o cozimento, os teores de fenólicos totais e flavonoides aumentaram significativamente ($P < 0,05$). Entretanto, o comportamento dos ácidos fenólicos e flavonoides determinados por CLAE foi variado, dependendo do cultivar e o tratamento. Em geral os conteúdos diminuíram significativamente ($P < 0,05$) após do cozimento, mas cabe destacar o conteúdo de catequina que apresentou os teores mais altos em relação aos outros compostos. Para o caso da capacidade antioxidante, os teores de ABTS não indicaram diferenças significativas ($P > 0,05$). O contrário aconteceu com os resultados de DPPH, onde se observou aumentos significativos ($P < 0,05$). No entanto, os teores de ORAC nos cultivares de feijão, diminuíram significativamente ($P < 0,05$) a exceção do BRS Bolinha que não foi afetado pelo cozimento. Portanto, é possível concluir que dependendo do cultivar de feijão, o cozimento dos grãos possibilita o aumento do conteúdo de fenólicos totais e flavonoides. Esse aumento devido ao cozimento é devido a liberação de ácidos fenólicos e flavonoides ligados a outros compostos na matriz alimentar. Assim mesmo, os compostos bioativos com capacidade antioxidante encontrados nos grãos de feijão comum tanto crus como cozidos, fornecem benefícios à saúde e na prevenção de doenças. Enfatizando a necessidade de incorporar grãos de feijão comum à nossa dieta.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.; Cozimento; Compostos fenólicos; Capacidade antioxidante

Abstract

Beans are considered one of the main sources of nutrients in many regions of the world. The variation of the seed coat colorations evidenced in common bean cultivars indicates the presence of phenolic compounds with antioxidant characteristics. The phenolic compounds present in the grains may suffer losses due to cooking. Cooking is the most popular way to prepare the beans before consumption. Thus, the objective of this study was to determine the influence of cooking on phenolic compounds and their antioxidant activity in different cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivated in Brazil. Four common bean cultivars were used: BRS Esteio (black), BRS Estilo (brown), BRS Pitanga (red) and BRS Bolinha Amarelinho (yellow). The analyzes conducted were moisture, color, total phenolic compounds, total flavonoids, phenolic acids and flavonoids as well as antioxidant capacity by ABTS, DPPH and ORAC methods. The results showed that moisture contents in the raw grains increased significantly after cooking ($P < 0.05$). In addition, the color of seed coat on the grains was also affected by cooking, with significant differences ($P < 0.05$) in the values of L^* , hue and Chroma. After cooking, total phenolic and flavonoid contents increased significantly ($P < 0.05$). However, the behavior of phenolic acids and flavonoids determined by HPLC varied, depending on the cultivar and the treatment. In general, the contents decreased significantly ($P < 0.05$) after cooking, but the content of catechin stand out presenting the highest level in relation to the other compounds. In the case of the antioxidant activity, ABTS levels did not indicate significant differences ($P > 0.05$). The opposite occurred with DPPH results, where significant increases were observed ($P < 0.05$). However, the ORAC contents in bean cultivars decreased significantly ($P < 0.05$), except for BRS Bolinha, which was not

affected by cooking. Therefore, it is possible to conclude that depending on the bean cultivar, the cooking of the grains makes it possible to increase the content of total phenolics and flavonoids. In addition, cooking allows the release of phenolic acids and flavonoids bound to other compounds in the food matrix. Also, the bioactive compounds with antioxidant activity found in both raw and cooked common bean grains, provide health benefits and disease prevention. Emphasizing the need to incorporate common bean grains into our diet.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L.; Cooking; Phenolic compounds; Antioxidant capacity

2.1 Introdução

Há uma tendência geral em buscar relações entre alimentos e a saúde, considerando os alimentos não somente como fonte de energia, mas também como um aliado na prevenção de doenças (García-Cañas et al. 2012). Além disso, a população vem despertando interesse em conhecer as propriedades nutricionais dos alimentos, como forma de melhorar a saúde através do consumo dos chamados, alimentos funcionais (Cifuentes, 2012). Os alimentos funcionais além de possuírem uma composição nutricional adequada, promovem benefícios à saúde (Drago Serrano, López López, & Sainz Espuñes, 2006). Dessa forma, os grãos de feijão que são considerados alimentos funcionais são uma das mais importantes fontes de nutrientes do mundo (Wang, Hatcher, Tyler, Toews, & Gawalko, 2010). Existe crescente aumento no consumo de feijões com diferentes cores de tegumento, chamando atenção não só por sua qualidade nutricional, como também pelas características funcionais dos pigmentos presentes no tegumento (Xu & Chang, 2009). Sendo assim, o feijão é uma leguminosa de suma importância e por esse motivo seu consumo é recomendado por várias organizações de saúde (Leterme, 2002).

A estrutura do grão de feijão apresenta três partes bem características (Figura 2.1), a primeira é o tegumento que é o revestimento do grão e onde há maior concentração de compostos fenólicos. Em segundo lugar, o cotilédone, que concentra a maior parte de carboidratos, minerais e proteínas além de apresentar o maior peso em relação às outras partes do grão. E por último o eixo embrionário que origina novas plantas de feijão (Afonso, 2010) e nasce a partir do hilo que é a cicatriz deixada onde as sementes são separadas do caule; sendo a parte ou área principal para o ganho de água (Yousif, Kato, & Deeth, 2006). Por outro lado, cabe mencionar que pode-se encontrar formas distintas de feijão comum, as que se destacam são as arredondadas e elípticas; também dependendo do cultivar pode-se observar tamanhos diferentes e sobretudo grande variedade de cores (preta, vermelhas, marrom, roxa, verdes, amarelas, entre outras).

Figura 2.1. Tegumento, cotilédone e eixo embrionário no *Phaseolus vulgaris* L.

Fonte: adaptado de Wikipedia, (2017)

Estudos sobre o conteúdo de compostos fenólicos em feijões, em sua maioria, são conduzidos no tegumento das sementes, onde a pigmentação indica altas concentrações de compostos fenólicos (Boateng, Verghese, Walker, & Ogutu, 2008). Estes compostos, em geral, são constituídos por ácidos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e antocianinas (Gálvez Ranilla, Genovese, & Lajolo, 2007). Os compostos fenólicos, atualmente, se destacam devido à sua atuação como antioxidantes, os quais apresentam importante função para os seres humanos e animais que frequentemente consomem feijão (Díaz Batalla, Widholm, Fahey, Castaño Tostado, & Paredes López, 2006; Liu, 2013). Diversos tipos de compostos fenólicos têm sido amplamente reportados no feijão comum, e sua presença está intimamente ligada a vários efeitos biológicos, tais como efeitos antioxidantes e antiproliferativos sobre células cancerígenas (Gálvez Ranilla, Genovese, & Lajolo, 2009). Estudos experimentais e epidemiológicos mostraram correlação entre o consumo de feijão e a diminuição da incidência de doenças crônicas, incluindo tipos diferentes de câncer, doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes (Slavin, Jacobs, Marquart, & Wiemer, 2001). Cabe ressaltar o estudo feito por Wu et al. (2004), onde analisaram a capacidade antioxidante de mais de 100 alimentos consumidos nos Estados Unidos. Particularmente, 4 cultivares de feijão comum avaliados estiveram dentro dos 10 primeiros da lista, sendo os feijões: Navy (2º), Pinto (3º), Vermelho pequeno (4º) e Preto (7º) os que mais se destacaram. Portanto, tudo indica que os grãos de feijão possam servir como excelente fonte dietética de antioxidantes naturais para a prevenção de doenças e promoção da saúde (Xu & Chang, 2007).

Por outro lado, o ser humano consome os grãos de feijão na forma cozida. No entanto, longos tempos de cozimento, quando excessivos, reduzem o valor nutritivo dos grãos (Wang et al., 2010). Quando adequadamente empregado, este processo além de melhorar o valor nutricional através da redução de antinutrientes como hemaglutininas, inibidores de enzimas digestivas, ácido fítico e taninos, também melhora a digestibilidade dos nutrientes (Gálvez Ranilla et al., 2009). Sendo assim, existe uma ampla variedade de métodos e/ou processos térmicos que são aplicados aos grãos para alcançar propriedades nutricionais e sensoriais desejáveis (Siah, Wood, Agboola, Konczak, & Blanchard, 2014). Estes processos podem ser aplicados de diversas maneiras, incluindo hidratação, ebulição, cozimento a vapor e o cozimento a pressão, obtendo efeitos significativos nos conteúdos de compostos fenólicos e nos níveis de antioxidantes (Boateng et al., 2008). Contudo, os estudos sobre o conteúdo fenólico e a capacidade antioxidante de feijão afetados por processos térmicos, são limitados, particularmente ao que se refere a cultivares de feijão comum brasileiro. Além disso, a maioria das pesquisas não consideram o líquido de cozimento na hora da análise, mas concentraram-se apenas no feijão processado, pelo que não consideram qualquer lixiviação de compostos fenólicos nos líquidos onde são cozidos os grãos (Siah et al., 2014). Diante o exposto, o objetivo deste estudo é determinar o efeito do cozimento sobre os compostos fenólicos e capacidade antioxidante em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivados no Brasil.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Amostras

As amostras de quatro cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. de diferentes cores de tegumento: BRS Esteio (preto), BRS Estilo (marrom), BRS Pitanga (vermelho) e BRS Bolinha Amarelinho (amarelo) foram fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Arroz e Feijão, tal como é indicado na Tabela 2.1. Após colhidos, foram secos, retirados da casca, e foram colocadas em sacolas de polietileno de 5 kg e transportadas para o Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, ESALQ/USP (Piracicaba, SP, Brasil) e armazenadas a 4°C até o momento das análises.

Tabela 2.1. Cultivar de feijões comum (*Phaseolus vulgaris* L.) obtido por cultivo orgânico utilizados no projeto.

Cultivar do feijão	Peso de 100 grãos (g)	Plantio (mês/ano)	Colheita (mês/ano)	Procedência/ município / Província
BRS Esteio	22	06/15	09/15	Embrapa Arroz e Feijão, St. Antônio de Goiás, GO.
BRS Estilo	26	06/15	09/15	Embrapa Arroz e Feijão, St. Antônio de Goiás, GO.
BRS Pitanga	20	06/15	09/15	Embrapa Arroz e Feijão, St. Antônio de Goiás, GO.
BRS Bolinha Amarelinho	28	06/15	09/15	Fazenda Nossa Sra. Aparecida, Hidrolândia, GO.

2.2.2 Preparo das amostras

Os grãos crus foram triturados em moinho de facas (Marconi, Piracicaba, Brasil) até formar um pó homogêneo, logo após foram colocados em tubos Falcon de 50 mL. No caso dos grãos cozidos, o cozimento foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Brigide et al. (2014) com algumas modificações, onde os grãos foram imersos em água destilada na proporção 1:3 (grãos : água). Depois de 14 horas de imersão, a água foi eliminada e trocada por uma nova quantidade de água destilada numa proporção de 1:2 (grãos : água) com posterior cozimento em autoclave à 121°C, 1 atm. durante 10 minutos. Os grãos cozidos com a água de cocção foram homogeneizados com Mixer vertical (Black & Decker, Brasil) até formar mistura homogênea, depois foram colocados num tubo Falcon de 50 mL. Os procedimentos foram realizados em triplicata.

2.2.3 Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de pureza analítica ou superior. Foi utilizada água ultrapura obtida por um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA), com condutividade de 18 MΩ. Além disso, foram utilizados metanol, etanol, ácido acético glacial (Tedia, Fairfield, EUA); Folin-ciocalteu e ácido fórmico (Dinâmica Química, São Paulo, Brasil); NaCO₃, AlCl₃.6H₂O, persulfato de potássio K₂S₂O₈ e NaOH (Synth, São Paulo, Brasil). Foram adquiridos da Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA: NaNO₂, tampão fosfato, ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)), DPPH (1,1 Diphenyl-2-picrylhydrazyl), AAPH (2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride), fluoresceína, e os padrões de Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), ácido vanílico, ácido clorogénico, ácido sinápico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido p-cumárico e ácido gálico, catequina, quercetina, epicatequina e rutina.

2.2.4 Determinação da Umidade

A determinação de umidade foi realizada de acordo método oficial da AOAC (2005) 945.38 B, tanto para os feijões crus como para os cozidos.

2.2.5 Medida da Cor

A cor instrumental foi realizada nos grãos de feijão crus (sem moer), e nos grãos de feijão cozidos (sem moer), utilizando um colorímetro Minolta (Chroma Meter, CR-400, Mahwah, New Jersey, USA). Com os parâmetros de L* (Luminosidade), valor a* e do valor b*. O aparelho foi previamente calibrado numa placa de porcelana branca de acordo com a Comissão Internacional de Iluminação (CIE 1976 L, a*, b*– CIELAB), com iluminante C, onde Y

= 94,0; X = 0,3132; Y = 0,3194; com uma área de medição de 8 mm de diâmetro. Os resultados foram expressos em valores de L^* , *hue* e *chroma* respectivamente.

$$hue = \left[\frac{\tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right)}{6,2832} \right] \times 360 \quad \dots\dots\dots \text{(Equação 1)}$$

$$chroma = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \dots\dots\dots \text{(Equação 2)}$$

2.2.6 Extração dos compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos foi conduzida segundo a metodologia descrita por Xu & Chang (2009) com modificações. Pesou-se 1 g dos feijões crus e 2 g dos feijões cozidos, foram adicionados 20 mL da mistura água: metanol: ácido acético (54:45:1 v/v/v), estas proporções foram ajustadas de acordo testes preliminares. Em seguida foram agitadas em mesa agitadora por 30 minutos. Os sobrenadantes foram colocados em tubos Falcon de 25 mL e centrifugados por 20 min a 3248 g (5000 RPM). Os sobrenadantes foram colocados em frascos cor âmbar, identificados e armazenados a -26°C até o momento da análise. Os extratos foram usados para as determinações de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, ácidos fenólicos, flavonoides, ABTS, DPPH e ORAC. Foram preparados três extratos independentes para cada tipo de cultivar de feijão e tratamento utilizado. Todas as determinações subsequentes foram realizadas em triplicata.

2.2.7 Determinação de compostos fenólicos totais (FT)

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi conduzido pela metodologia descrita por Vernon L Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós (1999) com algumas modificações, na qual consiste na redução de grupos hidroxilo no anel fenólico contidos no extrato dos feijões com o reagente de Folin-Ciocalteu em meio básico, fornecendo uma coloração azul, que pode ser lido por espectrofotômetro a 765 nm. Para isso, os extratos de feijão cru e cozido (200 µL) foram colocados em tubos de ensaio, 1500 µL de água destilada e 100 µL de reagente Folin-Ciocalteu foram adicionados aos extratos, foram homogeneizados em agitador automático e repousaram durante 5 minutos. Passado o tempo estabelecido, 200 µL de NaCO₃ 20% foram adicionados em cada um dos tubos, a solução foi agitada e permaneceu no escuro por 30 minutos, cumprido o prazo, as leituras das absorbâncias foram medidas a 765 nm no espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Japão). Foi preparado um branco, com o mesmo procedimento dos extratos. O ácido gálico foi utilizado como padrão, e os resultados foram expressos em mg equivalentes a ácido gálico (EAG). g⁻¹ de matéria seca (MS).

2.2.8 Determinação de flavonoides totais (FVT)

A análise dos flavonoides totais foi realizada segundo Xu & Chang (2007). A metodologia consiste na interação do nitrato de alumínio em meio básico com o extrato dos feijões. Para isso, o nitrato de alumínio forma complexos estáveis com os grupos hidroxila no anel fenólico dos flavonoides contidos nos extratos dos feijões sendo determinados por espectrofotometria. O teor de flavonoides totais foi determinado usando 0,25mL dos extratos dos feijões crus e cozidos. Os extratos foram misturados com 1,25 mL de água destilada em um tubo de ensaio, seguido de 75 µL de NaNO₂ 5% e homogeneizado no agitador automático. Após 6 minutos, 150 µL de AlCl₃.6H₂O a 10%

foram adicionados. As misturas permaneceram em repouso durante 5 minutos e 0,5 mL de NaOH 1M foram agregados. A absorbância foi medida imediatamente a 510 nm no espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Japão). O branco seguiu o mesmo procedimento dos extratos. Utilizou-se (+) – Catequina como padrão, os resultados foram expressos em mg equivalentes catequina por g MS.

2.2.9 Determinação de ácidos fenólicos e flavonoides por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Extração e preparação dos ácidos fenólicos e flavonoides. A extração dos ácidos fenólicos e flavonoides foi realizada como o descrito no item 2.2.6. Sendo 6 mL dos extratos dos feijões crus e cozidos foram concentrados com nitrogênio gasoso até um terço de seu volume para ter bom sinal no cromatograma. Os extratos concentrados foram filtrados utilizando filtro de 0,2 μm e o conteúdo de ácidos fenólicos e flavonoides analisado por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência).

Análise dos ácidos fenólicos e flavonoides. A análise de ácidos fenólicos e flavonoides foi realizada segundo Xu & Chang (2009) com algumas modificações, descritas a seguir. Um sistema cromatográfico modelo Shimadzu 20A foi utilizado, equipado com sistema de bombeamento modelo LC-20AT, injetor automático de amostras modelo SIL-20AHT, forno de coluna modelo CTO-20A, comunicador modelo CBM-20A e detector UV modelo SPD-20A. foi usada uma coluna Zorbax Stablebond Analytical ODS-C18 (Agilent Tecnologia, Rising Sun, MD), 4,6 x 250 mm, 5 μm , mantida a 40 ° C e o fluxo igual a 0,7 mL.minuto⁻¹. As fases móveis utilizadas foram: 1% (v/v) ácido fórmico em água (Solvente A) e 100% de metanol (Solvente B), em gradiente sendo o solvente A 100 % – 40 % de 0 a 45 min, 40 % – 0 % em 10 min, e 0 % - 100 % em 5 min, mais 10 min de 100 % do solvente A. Os comprimentos de ondas utilizados foram 280 nm e 370 nm.

Comparação e quantificação dos ácidos fenólicos e flavonoides. Os ácidos fenólicos e flavonoides presentes nos extratos dos grãos de feijão comum crus e cozidos por CLAE, foi preparado uma solução mãe individual de 1mg.mL⁻¹ dos padrões de ácidos fenólicos (ácido vanílico, ácido clorogénico, ácido sinápico, ácido trans-ferúlico, ácido p-cumárico e ácido gálico) e flavonoides (catequina, epicatequina e rutina) e diluídas até 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. As soluções diluídas, assim como, os extratos concentrados foram injetados (20 μL) separadamente e em triplicata, nas condições descritas acima. Para a comparação e quantificação dos ácidos fenólicos e flavonoides presentes nos extratos foi realizada uma comparação dos picos formados pelas áreas dos padrões assim como seus respectivos tempos de retenção. Além disso, para confirmar a identidades dos picos, foi feita uma mistura de todos os padrões juntamente com a amostra para o descarte de possíveis interferentes. Os resultados foram reportados em $\mu\text{g.g}^{-1}$ de MS. A Tabela 2.2 apresenta os padrões, comprimentos de onda (λ), tempos de retenção de cada ácido fenólico e flavonoide utilizado neste estudo.

Tabela 2.2. Padrões, comprimentos de onda (λ), tempos de retenção de ácido fenólicos e flavonoides por CLAE.

Padrão	λ (nm)	Tempo de Retenção (min)
Ácido vanílico	280	26,2
Ácido gálico	280	11,8
Ácido clorogénico	280	26,5
Ácido sinápico	280	35,7
Ácido trans-ferúlico	280	34,4
Ácido p-cumárico	280	31,5
Catequina	280	22,2
Epicatequina	280	27,4
Rutina	370	39,4

2.2.10 Determinação da capacidade antioxidante

ABTS

A capacidade antioxidante pelo método ABTS foi conduzida conforme a metodologia descrita por Re et al., (1999) e modificada por De Camargo, Regitano-d'Arce, Gallo, & Shahidi, (2015). O radical ABTS•+ foi formado pela reação de ABTS 7mM com persulfato de potássio 2,45mM, com abrigo da luz entre 12-16h. No espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Japão) fizeram-se leituras da absorbância a 734nm para a comprovação da formação do radical onde foi diluído com etanol até a obtenção do valor de absorbância de $0,700 \pm 0,02$. Foram colocados 20 μ L dos extratos em tubos de ensaio e após acrescentou-se 2 mL da solução do radical ABTS•+, 6 minutos depois da adição do radical ABTS•+ as absorbâncias foram lidas no espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Japão) a 734nm. Foi utilizado Trolox como padrão de referência, os resultados foram expressos em μ mol equivalente Trolox.g⁻¹ MS.

DPPH

A capacidade antioxidante pelo método DPPH foi feita conforme a metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier, & Berset (1995). Uma solução com o radical DPPH com etanol, foi preparada e as leituras da absorbância a 515 nm no espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Japão) foram conduzidas, comprovando o valor de absorbância de $0,800 \pm 0,02$. Logo após 500 μ L dos extratos foram adicionados a tubos de ensaio, logo após 300 μ L da solução do radical DPPH• e 3 mL de etanol, a solução foi agitada e deixada no escuro por 45 minutos, cumprido o prazo, as leituras das absorbâncias foram feitas a 515 nm. Foi utilizado Trolox como padrão de referência, e os resultados foram expressos em μ mol equivalente Trolox.g⁻¹ MS.

ORAC

A capacidade antioxidante medida pelo método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), foi conduzida conforme o descrito por Chisté et al. (2011). 30 μ L de cada um dos extratos ou padrão foram colocadas numa placa de 96 poços de parede preta. Logo após, foram adicionados 60 μ L de fluoresceína (508,25 mM) e 110 μ L de dicloreto de 2,2'-azobis (2-amidinopropano) (AAPH, 76 mM) ambos diluídos em tampão fosfato (pH 7,4). Utilizou-se um leitor de microplacas (SpectraMax® M3, Molecular Devices, LLC, Sunnyvale, CA, USA) com comprimentos de onda de 528 nm de emissão e 485 nm de excitação para o monitoramento do decaimento fluorescência resultante da oxidação induzida pelo radical peroxila (ROO•), a temperatura do equipamento foi

mantida a 37°C para promover a termodecomposição do AAPH monitorado a cada minuto, durante 2 horas. Foi utilizado Trolox como padrão de referência, os resultados foram expressos em μmol equivalente Trolox.g⁻¹ MS.

2.2.11 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados por delineamento completamente casualizado com arranjo fatorial 4 x 2 onde as variáveis exploratórias foram 4 cultivares de feijão comum: BRS Esteio (preto), BRS Estilo (marrom), BRS Pitanga (vermelho) e BRS Bolinha Amarelinho (amarelo), e 2 etapas (cru, cozido). Foram realizadas 3 repetições totalizando 24 unidades experimentais. As variáveis resposta foram a umidade, cor, compostos fenólicos totais, flavonoides totais, ácidos fenólicos e flavonoides assim como a capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e ORAC e avaliados por análise de variância (ANOVA). Considerando como causas de variação as etapas, cultivares e interação. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey, usando o pacote ExpDes.pt (Alves Nogueira, Batista Ferreira, & Cavalcanti Piscitelli, 2013) no ambiente R versão 3.3.1 (R CORE TEAM, 2016). As diferenças foram consideradas significativas a 5% de significância. Também foi realizado uma Análise de Componentes Principais (ACP) sobre a matriz de correlação de pearson dos dados médios das variáveis dependentes para cada feijão e etapa, utilizando o pacote FactoMineR (Husson, Josse, Le, & Mazet, 2017). A contribuição de cada cultivar nos três primeiros componentes principais foi estudada para definir a pertinência de cada feijão nos diferentes espaços amostrais.

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Hidratação e Cozimento

Após do tempo de hidratação observou-se que, a água de hidratação dos feijões BRS Esteio e BRS Pitanga apresentou ligeiras colorações, isto pode indicar a liberação de alguns compostos solúveis em água. Logo após a hidratação dos grãos, a água de hidratação foi substituída por uma nova quantidade, para seu posterior cozimento. O cozimento dos grãos realizado em autoclave após 10 minutos apresentou grãos amolecidos com graus de cozimento aceitáveis. Os grãos de feijão amolecidos foram avaliados subjetivamente segundo o descrito por Ramírez-Cárdenas, Leonel, & Costa (2008), onde foi utilizada a pressão dos grãos de feijão entre os polegares. O amolecimento citado foi similar entre todos os feijões não sendo necessário aumentar o tempo de cocção por ser considerado similar e adequado a como é consumido normalmente.

2.3.2 Umidade

As porcentagens de umidade dos cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cru e cozido são apresentadas na Tabela 2.3. Pode-se observar que os grãos cozidos mostraram teores de umidade significativamente maiores quando comparado aos feijões crus. Isto pode ter acontecido pelo fato do abrandamento da estrutura do grão no momento da hidratação e na cocção dos feijões (Luthria & Pastor-Corrales, 2006). Do mesmo modo, também foi analisada a porcentagem de umidade por cultivar de feijão em cada tratamento. Observou-se que os grãos crus não mostraram diferenças significativas entre os feijões BRS Pitanga e BRS Esteio. Mas, são distintos quando comparados aos feijões BRS Estilo e BRS Bolinha Amarelinho, respectivamente. Um resultado particular foi observado no cultivar BRS Bolinha Amarelinho cru, onde a porcentagem de umidade é mais alta quando comparado

aos outros feijões, e também acima da média reportado por outros pesquisadores (Tabela 1.1), isto poderia afetar sua comercialização, e influenciar tanto no armazenamento como a vida útil do produto. Cabe mencionar que o BRS Bolinha Amarelinho foi cultivado num local distinto aos outros feijões, o que pode explicar a diferença da umidade em relação a padronização dos outros feijões analisados.

Tabela 2.3. Porcentagem de umidade em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cru e cozido.

Cultivar do feijão	Cru	Cozido
BRS Pitanga	7,91 ± 0,02 ^{bC}	79,47 ± 0,22 ^{aB}
BRS Esteio	8,37 ± 0,11 ^{bC}	76,73 ± 0,20 ^{aD}
BRS Estilo	9,75 ± 0,08 ^{bB}	77,93 ± 0,74 ^{aC}
BRS Bolinha Amarelinho	15,26 ± 0,11 ^{bA}	81,52 ± 0,59 ^{aA}

Média ± Desvio padrão das médias, n= 3 (número de repetições utilizadas). Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre os tratamentos (P<0,05) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Shimelis & Rakshit (2005), em seu estudo com feijões crus, mostraram que os teores de umidade estão entre 9 e 11%. Por outro lado, Raschen et al. (2014) mostrou que os teores de umidade em feijões carioca e preto crus encontram-se entre 12 e 14% respectivamente. Na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos publicado em sua 4ª edição pela NEPA- Universidade Estadual de Campinas (2011) mostra os teores de umidade acima de 10% para feijões carioca, preto e rosinha quando crus e teores acima de 80% quando cozidos. A pesquisa realizada por De Araújo Delfino & Canniatti-Brazaca (2010), encontraram no feijão carioca “BRS Pérola” teores de umidade de 13% quando cru e 80% quando cozido.

Por outro lado, a porcentagem de umidade nos grãos cozidos é alta e é significativamente diferente entre cada um dos feijões estudados. Além disso, observou-se que o feijão BRS Bolinha Amarelinho continua mantendo a maior porcentagem de umidade quando comparados aos outros feijões. Estes resultados estão próximos aos encontrados na literatura (Tabela 1.1).

Os resultados desse presente trabalho estão dentro do esperado, reafirmam valores encontrados por outros pesquisadores. Ao decorrer da pesquisa não foi possível encontrar resultados correspondentes ao feijão BRS Bolinha Amarelinho, mas podemos concluir que os feijões aumentam consideravelmente o teor de umidade pela absorção de água no momento da hidratação e cocção.

2.3.3 Cor

O aspecto visual das leguminosas secas e cozidas é um dos determinantes mais importantes da aceitação pelos consumidores (Güzel & Sayar, 2011). As figuras 2.2 e 2.3 representam as cultivares de feijões crus e cozidos, usadas como base para o desenvolvimento desta pesquisa. A partir dos valores obtidos de L*, a* e b*, foi calculado o teor da Cromaticidade (*Chroma*), e o ângulo de cor Hue (*hue*).

O espaço de cor L*, *Chroma* e *hue* utiliza o mesmo esquema como o espaço de cor L*, a* e b*, embora se utilize coordenadas cilíndricas em vez de coordenadas cartesianas. Neste espaço de cor, quando os valores de L* são mais próximos do zero (0) tendem a serem mais escuras (preto), e os valores de L* mais próximos a cem (100) tendem a serem mais claras (branco). O teor de *Chroma* indica o grau de saturação, sendo 0 no centro e aumenta de

acordo com a distância a partir do centro. O teor de *bue* indica a tonalidade ou o ângulo de inclinação sendo expressos em graus: 0° (vermelho), 90° (amarelo), 180° (verde) e 270° (azul) (Minolta-Corp, 1994).

Tabela 2.4. Valores Luminosidade (L^*), ângulo de cor Hue (*bue*) e Cromaticidade (*Chroma*) para cultivares de feijões comuns.

Cultivar de Feijão	L^*		<i>Hue</i>		<i>Chroma</i>	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
BRS Pitanga	28,05 ± 1,17 ^{bB}	45,87 ± 1,13 ^{aB}	13,29 ± 1,35 ^{bC}	56,65 ± 1,76 ^{aC}	25,79 ± 0,65 ^{aB}	25,90 ± 1,284 ^{aA}
BRS Esteio	16,56 ± 1,65 ^{bC}	26,59 ± 0,20 ^{aC}	65,95 ± 4,84 ^{aB}	46,80 ± 2,41 ^{bC}	1,12 ± 0,10 ^{bC}	14,32 ± 0,88 ^{aB}
BRS Estilo	52,83 ± 1,89 ^{aA}	50,50 ± 1,93 ^{aAB}	69,35 ± 0,47 ^{aB}	64,19 ± 0,47 ^{aB}	23,16 ± 0,55 ^{aB}	25,05 ± 0,564 ^{aA}
BRS Bolinha A	56,89 ± 2,85 ^{aA}	53,91 ± 3,36 ^{aA}	87,49 ± 1,11 ^{aA}	74,93 ± 0,37 ^{bA}	36,19 ± 2,19 ^{aA}	24,92 ± 0,772 ^{bA}

Média ± Desvio padrão das médias, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre os tratamentos (P<0,05) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Os teores de L^* encontrados nos cultivares de feijões crus e cozidos são apresentados na Tabela 2.4. Pode-se observar que os teores de L^* nos grãos crus dos cultivares BRS Pitanga e BRS Esteio, aumentaram significativamente quando foram submetidos ao cozimento. Isto indica que as colorações nos tegumentos de cultivares com baixo teor de L^* tornam-se mais claras após da cocção. Tal efeito, não aconteceu nos cultivares com tegumentos mais claros como no caso do BRS Estilo e BRS Bolinha, onde as variações da L^* não foram significativas. Por outro lado, foi comparamos os teores de L^* por tipo de cultivar em cada um dos tratamentos. Observa-se que os grãos crus, os cultivares BRS Bolinha e BRS Estilo apresentam teores $L^*>50$ na escala de luminosidade sendo significativamente mais claros que os cultivares BRS Pitanga e BRS Esteio ($L^*< 50$). No entanto, quando cozidos, as diferenças de L^* entre os cultivares ainda se mantem. Mas também, cabe destacar que o teor de L^* do BRS Pitanga, aumentou significativamente mostrando uma L^* estatisticamente similar ao cultivar BRS Estilo. Contudo, o cozimento pode afetar o teor de luminosidade dependendo da coloração do tegumento do cultivar avaliado. Na Tabela 2.4 também podem ser observados os teores de *bue* encontrados nos cultivares de feijão crus e cozidos. Observa-se que o cozimento aumentou significativamente o teor de *bue* no cultivar BRS Pitanga. No entanto, para os cultivares BRS Esteio e BRS Bolinha o cozimento diminuiu a tonalidade significativamente. Embora, o cultivar BRS Estilo não tenha sido afetado pelo cozimento. Da mesma forma, os teores do ângulo *bue* por tratamento foram avaliados. Dentre os feijões crus e cozidos, os teores das tonalidades dos cultivares BRS Bolinha Amarelinho destacaram-se com resultados próximos a 90° (amarelo), e BRS Pitanga próximos a 0° (Vermelho).

Figura 2.2. Cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) crus.

No caso dos cultivares BRS Esteio e BRS Estilo ambos cru e cozido, os ângulos de inclinação foram acima de 40°, de modo que junto aos feijões anteriores, teriam que ser analisados conjuntamente aos valores de *chroma* e luminosidade para obter as verdadeiras cores instrumentais. Portanto, pode-se observar que o cozimento dos grãos afetou a tonalidade de cada um dos cultivares deste estudo.

Figura 2.3. Cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cozidos.

Adicionalmente, a Tabela 2.4 apresenta os valores da Cromaticidade ou grau de saturação, nos feijões estudados. Sendo assim, observa-se que no caso dos feijões crus, não houve diferença significativa entre os valores numéricos encontrados nos feijões BRS Pitanga e BRS Estilo. No entanto, são distintos quando comparados aos feijões BRS Esteio e BRS Bolinha Amarelinho. Entre os feijões cozidos, BRS Bolinha Amarelinho, BRS Estilo e BRS Pitanga não apresentaram diferenças significativas quando comparado ao feijão BRS Esteio. Quando a influência do tratamento (cru para cozido) por cultivar de feijão foi analisada, observou-se que no feijão BRS Estilo e BRS Pitanga não houve diferenças significativas entre tratamentos. No caso do feijão BRS Esteio houve variação positiva do *chroma* sendo o valor do feijão cozido significativamente considerável. No entanto, o feijão BRS Bolinha Amarelinho, obteve variação do *chroma* negativa. O cozimento dos grãos afetou a saturação de cada um dos feijões.

Considerando o trabalho de Xu & Chang (2009), onde indicaram que a água de hidratação pode influenciar nos possíveis constituintes que estão presentes no tegumento dos grãos de feijão e podendo ser lixiviados na água de hidratação, o presente trabalho relaciona o cozimento ao mesmo fator, mostrando que a alteração de cor pode afetar os compostos bioativos presentes nos grãos. A diferença nas cores pode ser observada na Figura 1.2 e Figura 1.3. Por sua vez, Mojica, Meyer, Berhow, & de Mejía (2015) indicaram que, por meio da realização de análises espectrofotométrica, os grãos de feijão puderam trazer informações sobre as concentrações dos principais grupos dos compostos de interesse, neste caso, compostos fenólicos. No entanto, para identificar e quantificar compostos específicos seriam necessárias outras técnicas como LC-MS ou CLAE.

Em conclusão, o feijão BRS Pitanga apresentou concentrações em tonalidades do vermelho escuro quando cru e marrom quando cozido. No caso do feijão BRS Esteio observou-se concentrações em tonalidades próximas à saturação do preto quando cru e marrom escuro quando cozido. Diferentemente do feijão BRS Estilo que apresentou concentrações em tonalidades próximos à zona de saturação do marrom claro em ambos tratamentos. Por último, o feijão BRS Bolinha Amarelinho apresentou concentrações em tonalidades próximas à zona do amarelo claro quando cru e ainda mais amarelo quando cozido. Esta variação de cor inicia-se com a lixiviação de alguns pigmentos solúveis na água de hidratação e no cozimento. Tudo isso, pode também influenciar na quantidade de compostos bioativos como os compostos fenólicos que estão presentes no tegumento que dão a coloração aos grãos.

2.3.4 Compostos fenólicos totais e Flavonoides totais

Os resultados do conteúdo de fenólicos totais (FT) e flavonoides totais (FVT) em cultivares de feijão comum estão apresentados na Tabela 2.5. Observou-se que, o cozimento dos grãos influenciou no aumento significativo do conteúdo de FT ($P < 0,05$). Cabe ressaltar que a maior quantidade de FT esteve presente nos cultivares que tem teores de Luminosidade menores a 50 ($L^* < 50$). Sendo representados pelos cultivares com tegumento preto e vermelho. Por sua parte, os resultados do conteúdo de flavonoides totais (FVT) (Tabela 2.5), mostraram semelhança como o encontrado na análise de compostos fenólicos totais. Indicando que houve aumento nos teores de FVT para todos os cultivares de feijão avaliados após o cozimento. Mas esse aumento não foi significativo para todos os cultivares, sendo que, o BRS Estilo não apresentou diferenças significativas entre o cru e cozido. O tratamento térmico pode degradar os compostos bioativos nos alimentos por oxidação, como também tem a capacidade de hidrolisar ligações entre fenólicos ligados a proteínas e/ou carboidratos aumentando assim o conteúdo de fenólicos livres (López et al., 2013).

Na análise do teor de FVT, nos feijões crus, o cultivar BRS Estilo e BRS Pitanga não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$), além disso, apresentaram os teores mais altos, quando comparados aos demais

cultivares. Por outro lado, nos feijões cozidos, o BRS Pitanga se destacou por apresentar o maior teor de FVT em relação aos outros cultivares.

Tabela 2.5.- Teor de compostos fenólicos totais (FT) e flavonoides totais (FVT) em cultivares de *Phaseolus vulgaris* L.

Cultivar de Feijão	FT (mg EAG/g MS)		FVT (mg Eq. Catequina / g MS)	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
BRS Pitanga	1,92 ± 0,02 ^{bA}	2,27 ± 0,08 ^{aA}	0,87 ± 0,05 ^{bA}	1,28 ± 0,03 ^{aA}
BRS Esteio	1,88 ± 0,09 ^{bAB}	2,27 ± 0,11 ^{aA}	0,51 ± 0,02 ^{bB}	1,04 ± 0,02 ^{aB}
BRS Estilo	1,74 ± 0,05 ^{bB}	2,02 ± 0,09 ^{aB}	0,81 ± 0,05 ^{aA}	0,92 ± 0,07 ^{aC}
BRS Bolinha A.	1,20 ± 0,02 ^{bC}	1,45 ± 0,11 ^{aC}	0,25 ± 0,01 ^{bC}	0,72 ± 0,04 ^{aD}

Média ± Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre os tratamentos (P<0,05) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Cabe indicar que a variação do conteúdo de FT e FTV nos grãos crus, pode ser devido a diferenças dos genótipos avaliados e ao tamanho dos grãos (Marathe, Rajalakshmi, Jamdar, & Sharma, 2011). Essas variações estão geralmente ligadas à coloração do tegumento dos grãos de feijão comum. Além disso, outros fatores influenciaram os teores de FT e FVT, como: variações nas condições de cultivo, mudanças climáticas, métodos de semeadura, forma de processamento pós-colheita, tempo e condições de armazenamento, que puderam influenciar a interação entre nutrientes e aumentando ou diminuindo sua biodisponibilidade (Mojica et al., 2015; Valdés, Medeiros Coelho, Michelluti, & Tramonte Cardoso Garcia, 2011).

Resultados contrários aos apresentados neste estudo foram encontrados por Gálvez Ranilla et al. (2009), onde estudaram o efeito de diferentes condições de cozimento em cultivares de feijão comum brasileiros “FT Nobre” e “Jalo precoce” cozidos a temperaturas de 100 e 121 °C. Os autores encontraram diminuição do conteúdo de compostos fenólicos totais em ambos os feijões. Da mesma forma, Jiratanan & Liu (2004), também observaram decréscimo aproximando do 40% no conteúdo de compostos fenólicos em *Phaseolus vulgaris* L. cozidos. Já Valdés et al. (2011) estudaram a associação de genótipos e métodos de preparação em três cultivares de feijões comum de cor escura, onde observaram que os grãos cozidos com ou sem a água de hidratação, não apresentam diferenças significativas. Mas, a água utilizada na hidratação dos grãos arrastou compostos fenólicos. A redução dos compostos fenólicos pode ser explicada por: (i) lixiviação dos compostos fenólicos na água de cozimento, (ii) devido a destruição de compostos fenólicos, (iii) qualquer outros rearranjos químicos dos compostos fenólicos, tais como: a formação de novos componentes insolúveis com outras substâncias orgânicas (Maheshu et al. 2011; Siah et al. 2014).

Por outro lado, as variações observadas entre nosso estudo e os dados da literatura podem ser influenciadas por distintos fatores vinculados a análise. Isto pode ser relacionado às diversas formas de extração, o uso de diferentes solventes (Xu & Chang, 2007) e o uso de distintos padrões para quantificação. Cabe mencionar que os métodos colorimétricos não são totalmente seletivos, pois é possível obter leituras de outros compostos que contenham nitrogênio e açúcares redutores e não se correlacionam com a soma de compostos fenólicos individuais avaliados cromatograficamente (Dueñas, Martínez-Villaluenga, Limón, Peñas, & Frias, 2015). Além disso, Siah et al. (2014) indicaram que a maioria das pesquisas não considera o líquido de cozimento na hora da análise, e concentraram-se apenas no feijão processado, não sendo consideradas qualquer lixiviação de compostos fenólicos nos líquidos com que são cozidos os grãos. Isto pode explicar as diferenças dos resultados encontrados na literatura e os teores encontrados nesta pesquisa.

2.3.5 Ácidos fenólicos e flavonoides por CLAE

Os resultados do conteúdo de ácidos fenólicos e flavonoides nos cultivares de feijão comum estão apresentados na Tabela 2.6. Pode-se observar que os teores de ácidos fenólicos e flavonoides apresentam diminuição significativa após do cozimento ($P < 0,05$), o qual evidencia a influência do cozimento nas concentrações dos ácidos fenólicos e flavonoides dos cultivares avaliados. Nossos resultados indicam que entre os grãos crus, os ácidos fenólicos que apresentaram maiores teores nos cultivares foram os ácidos vanílico, clorogênico e trans-ferúlico, e após da cocção destacaram os ácidos vanílico, gálico e clorogênico. Os flavonoides: catequina, epicatequina e rutina após do cozimento, tiveram comportamento variado dependendo do cultivar. Sendo a catequina quem mais se destacou entre todos os compostos fenólicos encontrados.

O ácido vanílico foi encontrado nos feijões crus como também após da cocção, tendo diminuição significativa ($P < 0,05$) em todos os cultivares. O BRS Esteio e BRS Estilo foram o que apresentaram maior quantidade na etapa crua, mas depois do cozimento todos os cultivares sofreram diminuição acima de 75 % do conteúdo inicial. Segundo Mojica et al. (2015), que mostraram a composição e concentração fenólica do quinze (15) cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. procedentes do México e Brasil, há pequenas quantidades de ácido vanílico nos cultivares brasileiros BRS Horizonte, BRS Pontal e Pérola crus. Mas Xu & Chang (2009) reportaram que o processamento térmico sob pressão diminui significativamente o conteúdo de ácido vanílico em feijão Pinto e Preto. No estudo feito por Díaz Batalla et al. (2006) em catorze (14) cultivares de feijão comum cultivados no México e cozidos em autoclave por 20 min., os autores mostraram teores dos grãos crus e cozidos sendo reportados teores menores de ácido vanílico em grãos crus quando comparados aos reportados neste estudo. Assim mesmo, destacaram a redução de 17,9 – 44,5 % dos teores de ácido vanílico após da cocção. A importância do ácido vanílico está em sua importância anti-helmíntica e anti-polimerização (Itoh et al., 2010), além disso, este ácido fenólico atua como um supressor da fibrose hepática durante doenças crônicas do fígado (Khadem & Marles, 2010).

No caso do ácido gálico, em grãos crus, o cultivar BRS Esteio (preto) foi o único que apresentou quantidades significativas quando comparados aos outros cultivares. Resultados obtidos por Xu & Chang (2009) em feijões Pinto e Preto, mostraram conteúdos de ácido gálico em grãos crus próximos aos reportados neste estudo. Além disso, observaram que após o tratamento térmico sob pressão a diminuição dos teores de ácido gálico foi significativa. Na pesquisa de Giusti et al. (2017) que incluem lentilhas, feijões, grão-de-bico e ervilhas, determinaram catorze (14) polifenóis, e mostraram que somente alguns cultivares de feijão preto apresentavam quantidades significativas de ácido gálico. Caso que não se repetiu com cultivares com tegumentos marrom e vermelhos como o Pinto, Red Kidney e Adzuki respectivamente, tendo estes resultados relação aos encontrados neste estudo. Por outro lado, após do cozimento, os resultados dos cultivares de feijão comum mostraram quantidades significativas de ácido gálico nos cultivares que não foram encontrados inicialmente como o BRS Bolinha, BRS Estilo e BRS Pitanga. Soong & Barlow (2004) atribuíram o aumento de ácido gálico após do tratamento térmico à despolimerização de tanino e liberação de compostos de matriz alimentar.

Os benefícios do ácido gálico na dieta estão relacionados com efeitos antioxidantes bacteriostáticos, antineoplásico e antiangiogênicos (Khadem & Marles, 2010). Pode ser útil no tratamento de tumores cerebrais e câncer de próstata. Também induz apoptose e/ou necrose das células cancerosas (Khadem & Marles, 2010; Rauter et al., 2012).

Todos os cultivares crus apresentaram conteúdos de ácido clorogênico destacando aos cultivares BRS Bolinha e BRS Pitanga. Após da cocção, houve diminuição significativa ($P < 0,05$) de todos os teores encontrados

inicialmente. Aproximadamente o 25% do conteúdo inicial de ácido clorogênico foi possível encontrar somente nos cultivares BRS Bolinha A. e BRS Pitanga. Os resultados de vinte e oito (28) cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. entre Brasileiros e Peruanos reportados por Ranilla, Genovese, & Lajolo (2007), mostram teores de ácido clorogênico principalmente no grupo de feijões pretos. Da mesma forma os resultados também mostraram que houve presença desse ácido fenólico em cultivares como BRS Timbó, IPA-6 e Ouro Branco com colorações de tegumento vermelho, marrom claro e branco respectivamente. Similarmente, Giusti et al. (2017) encontraram teores de ácido clorogênico (24 - 239,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS) em vinte e um (21) cultivares de feijão comum crus avaliados. Por outro lado, Xu & Chang (2009) não encontraram teores de ácido clorogênico nos grãos de feijão cru de feijões Pinto e Preto, mas apenas no feijão preto cozido. Em nosso estudo não foi possível determinar a presença deste ácido fenólico após do cozimento nos feijões BRS Esteio (preto) e BRS Estilo (marrom) a diferenças do conteúdo deste ácido fenólico nos cultivares seja pelos diversos fatores explicados acima. Entre os benefícios do ácido clorogênico podemos encontrar a prevenção de Alzheimer (Kwon et al., 2010; Rauter et al., 2012), também mostra capacidades anti-colinesterase, antiamnéscas, anti-inflamatórias e antioxidantes (Orhan, Kartal, Tosun, & Ener, 2007; Rauter et al., 2012).

O ácido sinápico por sua vez foi encontrado apenas no cultivar BRS Esteio (preto) tanto cru como cozido. O cozimento mostrou diminuição significativa ($P<0,05$) de mais do 80 % do conteúdo inicial. Do mesmo modo Ranilla, Genovese, & Lajolo (2007) encontraram pequenas quantidades de ácido sinápico em alguns cultivares de feijão cru. Os resultados destes autores dos vinte e oito (28) cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. mostraram a presença deste ácido fenólico em alguns cultivares com tegumento preto, vermelho, marrom e amarelo. Xu & Chang (2009) reportaram teores de ácido sinápico em feijões Pinto e Preto crus e cozidos. Além disso, mostraram que o cozimento causa diminuição significativa dos teores encontrados em grãos crus. Por sua vez o ácido trans-ferúlico foi encontrado nos cultivares BRS Bolinha, BRS Estilo e BRS Esteio sendo novamente o cultivar BRS Esteio (preto) quem destacou-se, mostrando teores significativamente maiores que os outros cultivares ($P<0,05$) na etapa crua. Pode-se observar que o cozimento afetou significativamente os teores de ácido trans-ferúlico de todos os cultivares, mostrando diminuição maiores ao 95% do conteúdo inicial. No estudo realizado por Ranilla, Genovese, & Lajolo (2007) mostraram que o ácido ferúlico é um dos ácidos fenólicos mais importantes nos grãos de feijão, tendo presença na maioria dos cultivares avaliados. Nossos resultados podem indicar que o cozimento pode diminuir o teor deste ácido fenólico. Por outro lado, foi possível encontrar pequenas quantidades de ácido p-cumárico somente no cultivar BRS Estilo cozido.

Tabela 2.6. Conteúdo de ácidos fenólicos e Flavonoides ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS) nos extratos dos cultivares de feijão comum *Phaseolus vulgaris* L. por HPLC.

Cultivar de Feijão	Ácido vanílico		Ácido gálico		Ácido clorogênico	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
BRS Bolinha A.	35,70 $\pm$ 0,95 ^{aD}	8,85 $\pm$ 0,39 ^{bB}	ND	36,72 $\pm$ 0,79 ^{aA}	70,48 $\pm$ 4,10 ^{aA}	19,51 $\pm$ 0,65 ^{bA}
BRS Estilo	88,58 $\pm$ 4,35 ^{aB}	12,66 $\pm$ 0,86 ^{bB}	ND	31,73 $\pm$ 1,72 ^{aB}	57,01 $\pm$ 2,79 ^{aB}	ND
BRS Pitanga	60,90 $\pm$ 0,38 ^{aC}	10,12 $\pm$ 0,56 ^{bB}	ND	33,20 $\pm$ 0,08 ^{aB}	67,09 $\pm$ 0,98 ^{aA}	19,99 $\pm$ 0,69 ^{bA}
BRS Esteio	97,02 $\pm$ 1,92 ^{aA}	24,70 $\pm$ 0,30 ^{bA}	37,81 $\pm$ 0,19 ^{aA}	ND	30,60 $\pm$ 1,90 ^{aC}	ND

Cultivar de Feijão	Ácido sinápico		Ácido trans-ferúlico		Ácido p-cumárico	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
BRS Bolinha A.	ND	ND	24,77 $\pm$ 0,99 ^{aB}	ND	ND	ND
BRS Estilo	ND	ND	4,57 $\pm$ 0,17 ^{aC}	ND	ND	9,69 $\pm$ 0,75 ^{aA}
BRS Pitanga	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BRS Esteio	204,45 $\pm$ 8,36 ^{aA}	35,80 $\pm$ 1,03 ^{bA}	32,06 $\pm$ 1,43 ^{aA}	1,45 $\pm$ 0,06 ^{bA}	ND	ND

Cultivar de Feijão	Catequina		Epicatequina		Rutina	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
BRS Bolinha A.	ND	163,89 $\pm$ 2,87 ^{aD}	28,68 $\pm$ 0,36 ^{aB}	ND	74,95 $\pm$ 1,30 ^{aB}	12,15 $\pm$ 0,23 ^{bB}
BRS Estilo	476,18 $\pm$ 12,73 ^{aA}	398,05 $\pm$ 20,72 ^{bB}	22,77 $\pm$ 0,35 ^{aC}	7,72 $\pm$ 0,17 ^{aB}	ND	ND
BRS Pitanga	326,42 $\pm$ 5,82 ^{aC}	316,91 $\pm$ 3,06 ^{aC}	39,50 $\pm$ 0,72 ^{aA}	6,04 $\pm$ 0,18 ^{bB}	133,11 $\pm$ 2,74 ^{aA}	42,82 $\pm$ 1,79 ^{bA}
BRS Esteio	428,05 $\pm$ 16,12 ^{bB}	475,16 $\pm$ 24,86 ^{aA}	ND	59,16 $\pm$ 1,73 ^{aA}	33,99 $\pm$ 1,37 ^{aC}	6,31 $\pm$ 0,35 ^{bC}

Média $\pm$ Desvio padrão, n= 3.

ND = não detectado.

Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre os tratamentos ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Luthria & Pastor-Corrales (2006) encontraram quantidades significativas de ácido sinápico, trans-ferúlico e p-cumárico em quinze (15) variedades de *Phaseolus vulgaris* L. comercializados nos Estados Unidos. Os autores comprovaram que após do cozimento aproximadamente o 83% dos ácidos sinápico, p-cumárico e trans-ferúlico são retidos no grão cozido e 2% na água de hidratação e os outros 15% possivelmente puderam ser oxidados durante o processo de cozimento ou então convertidos em outros compostos fenólicos que não foram determinados. Em nosso estudo não se observou tal retenção, possivelmente, por causa do tipo de cultivar ou o tipo de cozimento feito aos grãos. Na pesquisa de López et al. (2013) em grãos de feijão comum, foi possível determinar que após do cozimento os grãos continham alguns ácidos hidroxicinâmicos esterificados de ácido ferúlico, p-cumárico e vanílico, assim Campos-Vega, Loarca-Piña, & Oomah (2010) indicam que estes ácidos fenólicos trazem benefícios para a saúde devido a sua capacidade antioxidante.

Teores significativamente altos de catequina foram identificados apenas nos cultivares crus de BRS Estilo, BRS Pitanga e BRS Esteio, mas não no BRS Bolinha encontrando faixas de 326,42 – 476,18 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS. Huber et al. (2014) mencionaram que a catequina é um dos principais flavonoides encontrados nos grãos de feijão comum. Giusti et al. (2017) encontraram conteúdos de catequina entre 10 e 457,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS. Nos grãos cozidos o conteúdo de catequina foi significativamente alto em comparação aos outros analitos sendo o flavonoide de destaque nos grãos. Os resultados obtidos mostraram que após do cozimento o teor de catequina foi relativamente alto 163,89 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS no cultivar BRS Bolinha, o que não ocorreu estando cru. O BRS Estilo por sua vez, mostrou diminuição significativa após do cozimento, diferente do cultivar BRS Pitanga onde a diminuição não foi significativa ($P>0,05$). Cabe destacar que o cultivar BRS Esteio apresentou aumento significativo ($P<0,05$) quando comparado ao grão cru.

Por outro lado, o conteúdo de epicatequina variou entre 22,77 – 39,50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS, apenas nos cultivares BRS Bolinha, BRS Estilo e BRS Pitanga. Giusti et al. (2017) reportaram conteúdos de epicatequina entre 17,7 e 279,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS. Quando cozidos o teor de epicatequina não foi detectável no BRS Bolinha, porém, teores de epicatequina nos cultivares BRS Estilo, BRS Pitanga e BRS esteio foram significativamente diferentes aos encontrados nos feijões crus, apresentando faixas entre 7,72 – 59,16 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS. Os teores de rutina foram encontrados apenas nos cultivares BRS Bolinha, BRS Pitanga e BRS Esteio tanto no cru como no cozido. Os resultados mostram diminuição significativa após do cozimento. Os grãos crus apresentaram faixas de 33,99 – 133,11 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS os grãos cozidos de 6,31 – 42,82 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS respectivamente. Giusti et al. (2017) encontraram conteúdos de rutina em feijões crus entre 5,4 – 41,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS.

O consumo de boas quantidades de flavonoides na dieta tem sido associado à redução risco de contrair doenças como: acidente vascular cerebral (Tang, Li, Zhang, & Hou, 2016), cardiovasculares (McCullough & Peterson, 2012; Mursu et al., 2007), asma (Garcia, Arts, Sterne, Thompson, & Shaheen, 2005; Tanaka & Takahashi, 2013), alguns tipos de câncer (Hui et al., 2013) e redução da obesidade (Vernarelli & Lambert, 2017).

Em suma, o tratamento térmico afetou os perfis dos ácidos fenólicos e flavonoides em diferentes níveis. Assim, podemos sintetizar que o efeito do cozimento sobre os compostos bioativos varia de acordo com o tipo de cultivar. A redução do nível de compostos fenólicos após o cozimento também pode ser atribuída à natureza lábil dos fenólicos (Adebooye & Singh, 2007; Parmar, Singh, Kaur, Virdi, & Thakur, 2016). A variação também pode ser atribuída às diferenças nas distribuições e composições de componentes fenólicos individuais no tegumento e no cotilédone. Dado que o processamento térmico ocasiona perdas de alguns compostos bioativos nos grãos, isto também pode promover a degradação, liberação ou rearranjos de outros compostos fenólicos, e também outros compostos como saponinas e ácido fítico (Moreno-Jiménez et al., 2015; Xu & Chang, 2011), que não foram incluídos neste estudo.

2.3.6 Capacidade antioxidante

Os compostos fenólicos e flavonoides presentes nos alimentos exercem seus efeitos benéficos na saúde principalmente através da sua capacidade antioxidante. Essa capacidade antioxidante é traduzida como a capacidade de diminuir a concentração de radicais livres que causam prejuízo às moléculas (Xu & Chang, 2007). A capacidade antioxidante de um alimento pode apresentar resultados distintos pela diversidade de radicais que existem, por isso deve ser avaliada através de mais de um teste (Soriano Sancho, Pavan, & Pastore, 2015). Foi determinada a capacidade antioxidante pela capacidade de eliminação dos radicais ABTS •+, DPPH• e o método ORAC em extratos de cultivares de feijão crus e cozidos.

Os resultados da capacidade antioxidante (AA) realizada pelo método ABTS está apresentada na Tabela 2.7. Observou-se que apesar do cozimento realizado em todos os grãos, não houve diferença significativa ($P>0,05$) nos teores da AA entre os grãos crus e cozidos. Isto é mostrado nas faixas encontradas, variando de 12,03 – 26,15 μmol equivalente Trolox. g^{-1} MS nos feijões crus e entre 13,75 – 27,62 μmol equivalente Trolox. g^{-1} MS para os feijões cozidos. Resultados similares foram reportados por Huber et al. (2014) que mediram a capacidade antioxidante de grãos de feijão brancos pelo métodos de ABTS, não encontrando diferenças significativa entre os grãos crus e os que foram submetidos a tratamento térmico. Cabe destacar que os cultivares BRS Pitanga e BRS Esteio apresentaram os maiores resultados de AA. Xu & Chang (2008) mostraram que cozinhar os grãos de feijão a alta pressão reduzir o tempo de cozimento e preserva o conteúdo de compostos antioxidantes.

Tabela 2.7.- Capacidade Antioxidante (μmol equivalente Trolox/g MS) pelos métodos ABTS e DPPH em cultivares de *Phaseolus vulgaris* L.

Cultivar de Feijão	ABTS		DPPH	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
BRS Pitanga	26,15 $\pm$ 0,64 ^{aB}	27,62 $\pm$ 2,13 ^{aA}	4,23 $\pm$ 0,23 ^{bA}	9,19 $\pm$ 0,20 ^{aA}
BRS Esteio	28,80 $\pm$ 0,70 ^{aA}	28,72 $\pm$ 1,25 ^{aA}	4,20 $\pm$ 0,07 ^{bA}	8,97 $\pm$ 0,68 ^{aA}
BRS Estilo	22,16 $\pm$ 0,57 ^{aC}	21,10 $\pm$ 1,24 ^{aB}	4,12 $\pm$ 0,10 ^{bA}	7,30 $\pm$ 0,68 ^{aB}
BRS Bolinha A.	12,03 $\pm$ 0,60 ^{aD}	13,75 $\pm$ 1,15 ^{aC}	1,82 $\pm$ 0,07 ^{bB}	4,57 $\pm$ 0,19 ^{aC}

Média $\pm$ Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre os tratamentos ($P<0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P<0,05$) pelo teste de Tukey.

Os resultados da capacidade antioxidante realizada pelo método DPPH está mostrada na Tabela 2.7. Estes resultados apresentaram faixas nos feijões crus entre 1,82–4,23 μmol equivalente Trolox. g^{-1} MS e para os feijões cozidos entre 4,57 – 9,19 μmol equivalente Trolox. g^{-1} MS, portanto, o cozimento realizado, ocasionou aumento significativo nos teores de AA para todos os feijões, quando comparados aos feijões crus. Em relação aos feijões crus, os cultivares BRS Pitanga, BRS Esteio e BRS Estilo não apresentaram diferenças significativas, mas o BRS Bolinha diferenciou-se significativamente, apresentando o menor teor de AA. Por outro lado, nos feijões cozidos, os cultivares BRS Pitanga e BRS Esteio se destacaram por apresentarem as maiores capacidades antioxidantes, não se diferenciando entre si, mas sim das demais cultivares.

Os resultados referentes à capacidade antioxidante, conduzida pelo método ORAC estão apresentadas na Tabela 2.8. As faixas nos feijões crus ficaram entre 28,19 – 47,71 μmol equivalente Trolox. mg^{-1} MS e para os feijões cozidos entre 13,12 – 27,59 μmol equivalente Trolox. mg^{-1} MS. Considerando os feijões crus, a AA do cultivar BRS Pitanga se destacou como a mais alta e significativa quando comparada aos outros feijões e ainda maior quando

comparado ao BRS Bolinha Amarelinho. Por outro lado, nos feijões cozidos, não houve diferenças significativas entre os cultivares BRS Pitanga, BRS Esteio e BRS Bolinha A. É evidente que houve também diminuição do teor de AA em todos os feijões. Outra característica relevante, foi que o cultivar BRS Estilo diminuiu em mais de 30% sua AA quando a cocção foi realizada. O cozimento também provocou diminuição significativa nos teores de AA dos cultivares BRS Pitanga, BRS Esteio e BRS Estilo quando comparado aos feijões crus. O cultivar BRS Bolinha não apresentou diferenças na AA entre cru e cozido. Estudos publicados sobre legumes indicam que as distintas condições de processamento, podem reduzir ou aumentar o conteúdo fenólico de outras substâncias com capacidade antioxidante (Lin & Lai, 2006; Aguilera et al., 2011; Guajardo-Flores et al., 2013).

Tabela 2.8.- Capacidade antioxidante (μmol equivalente Trolox/mg MS) pelo método ORAC em cultivares de *Phaseolus vulgaris* L.

Cultivar de Feijão	ORAC	
	Cru	Cozido
BRS Pitanga	47,71 $\pm$ 4,02 ^{aA}	21,62 $\pm$ 0,78 ^{bA}
BRS Esteio	37,40 $\pm$ 2,31 ^{aB}	27,59 $\pm$ 1,18 ^{bA}
BRS Estilo	42,74 $\pm$ 3,51 ^{aAB}	13,12 $\pm$ 0,77 ^{bB}
BRS Bolinha A.	28,19 $\pm$ 1,77 ^{aC}	25,17 $\pm$ 2,27 ^{aA}

Média $\pm$ Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre os tratamentos ($P<0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P<0,05$) pelo teste de Tukey.

Xu & Chang (2009) indicaram que o processamento térmico produz mudanças nos teores dos compostos fenólicos individuais e as capacidades antioxidantes nos grãos de feijão; assim mesmo as mudanças dependem do tipo de feijão e das condições de processamento. Também se destaca a influência do solvente utilizado para a extração (Xu & Chang, 2007). Pode-se observar que os métodos de determinação de capacidade antioxidante utilizados neste estudo não apresentam teores iguais, sendo a capacidade antioxidante relacionada aos mecanismos de reação de cada método. Os métodos de ABTS e DPPH atuam pela neutralização dos radicais pela transferência de elétrons. Por sua vez o método ORAC neutraliza o radical peroxila pela transferência de átomos de hidrogênio (Prior, 2015), isto pode explicar as diferenças entre os teores em cada método utilizado. Thaipong et al. (2006) indicaram que o potencial antioxidante de um extrato vegetal está relacionado à presença de substâncias oriundas da matriz alimentar, pois a AA está relacionada principalmente as vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides. Em geral, os resultados indicaram que os feijões mesmo após o cozimento são importante fonte de compostos fenólicos com capacidade antioxidante, capazes de contribuir ao benefício da saúde na prevenção de doenças.

2.3.7 Análise dos componentes Principais (ACP)

Figura 2.6.- Análise de componentes principais na matriz de correlação das variáveis químicas nos cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) crus e cozidos. Análise no 1º e 2º componente. Dim 1= 34,2%; Dim 2= 28,6%. Variância total explicada = 62,8 %. Pitanga-Cru = BRS Pitanga cru, Esteio-Cru = BRS Esteio cru, Estilo-Cru = BRS Estilo cru, Bolinha-Cru = BRS Bolinha Amarelinho cru; Pitanga-Coz = BRS Pitanga cozido, Esteio-Coz = BRS Esteio cozido, Estilo-Coz = BRS Estilo cozido, Bolinha-Coz = BRS Bolinha Amarelinho cozido. FT = Fenoles Totais, FVT = Flavonoides Totais, Capacidade antioxidante: ABTS, DPPH, ORAC, Ácidos fenólicos: AVAN = ácido vanílico, ACLO = ácido clorogênico, ASIN = ácido Sinápico, ATRFE = ácido transferúlico, APCU = ácido p-Cumárico, AGAL = ácido gálico. Flavonoides: CATE = catequina, EPICAT = epicatequina, RUT = rutina.

Foi realizada uma Análise de Componentes Principais onde os cultivares de feijão nas duas etapas foram colocadas nas filas (indivíduos) e os resultados médios das variáveis químicas foram colocados nas colunas (variáveis). Com base nas duas primeiras componentes principais, que representam 62,8% da informação original dos dados (PC1: 34,2% e PC2: 28,6), foi criado um mapa perceptual mostrando na parte superior da Figura 2.6, os indivíduos e na parte inferior as variáveis. É importante ressaltar que ambos os gráficos apresentam a contribuição dos indivíduos e variáveis nas duas primeiras componentes principais, mostrando assim a importância de cada indivíduo e variável. Na Figura 2.6A pode-se observar que o processo de cozimento causou uma variação tanto na primeira quanto na segunda componente principal. As variações nas duas componentes principais foram explicadas pelas variações individuais de cada variável mostradas na Figura 2.6B.

Sendo que o Axis 1 representa o CP1, o qual separa especialmente os grãos de feijão cozidos. Os grãos de feijão cru estão distribuídos em todo o CP2. Para o CP1, encontrou-se correlação positiva com os teores de FT, FVT, capacidade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH, teores de catequina e da umidade. Por outro lado, obteve-se correlação negativa com os teores de ácidos fenólicos como ácido vanílico, ácido trans-ferúlico, ácido clorogênico, flavonoide como rutina, capacidade antioxidante pelo método ORAC. Houve correlação positiva do CP2 com os teores de obtidos nas análises dos ácidos fenólicos como ácido vanílico e ácido sinápico, assim como a catequina e a capacidade antioxidante pelos métodos ABTS e ORAC respectivamente. Em contrapartida, foi estimada correlação negativa nos teores da umidade e parâmetros de cor (L^* , *Hue*, *Chroma*).

Em síntese, os resultados corroboram a influência do cozimento sobre os compostos bioativos presentes nos distintos cultivares de feijão comum. Podendo observar que, os grãos crus com teores de Luminosidade e graus de saturação baixos; destacados principalmente pelos cultivares BRS Esteio, BRS Pitanga e BRS Estilo respectivamente, apresentam os maiores teores de capacidade antioxidante pelo método ORAC. Essa capacidade antioxidante pode ser influenciada pela presença de ácidos fenólicos, como ácido vanílico, ácido sinápico e ácido clorogênico, assim como os flavonoides rutina e epicatequina encontrados neste estudo. A tonalidade (*hue*) dos grãos pode ser influenciada pela presença de ácidos fenólicos como ácido trans-ferúlico, ácido sinápico, ácido gálico e em menor quantidade por ácido vanílico. Por outro lado, os cultivares crus apresentaram teores baixos de compostos fenólicos e flavonoides totais, assim como baixa capacidade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH.

No entanto, teores similares de luminosidade e graus de saturação encontrados nos cultivares BRS Esteio, BRS Pitanga e BRS Estilo quando cozidos, destacam-se não somente por apresentarem os teores de umidade mais altos, como também por apresentarem os teores de compostos fenólicos, flavonoides totais e capacidade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH superiores aos dos grãos crus. Podemos concluir que a capacidade antioxidante pelos métodos de ABTS e DPPH foram influenciadas na presença de FT, FVT, catequina e em menor proporção pelos ácidos gálico e p-cumárico. Cabe ressaltar a importância da umidade como mediador de possível liberação de compostos bioativos que demonstram o aumento dos teores.

2.4 Conclusões

Os resultados mostraram que dependendo do cultivar de feijão, os compostos fenólicos e flavonoides totais aumentaram após do cozimento. Isto pode ser relacionado a que o cozimento possibilita a liberação de ácidos fenólicos e flavonoides ligados a outros compostos na matriz alimentar. Da mesma forma, foram identificados 6 ácidos fenólicos e 3 flavonoides, que a pesar da diminuição após da cocção os mais destacados na maioria dos cultivares foram: ácido vanílico, ácido gálico e ácido clorogênico assim como a catequina, epicatequina e rutina respectivamente. Os resultados da capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e ORAC mostraram teores distintos, mas indicaram que os feijões mesmo após o cozimento são uma fonte importante de compostos com capacidade antioxidante.

Referências

- Adebooye, O. C., & Singh, V. (2007). Tannins , Phytate , Amino Acid , Fatty Acid and Mineral Nutrients of Whole-Grain and Decorticated. *Journal of Food Quality*, 30, 1101–1120.
- Afonso, S. M. E. (2010). Caracterização físico-química e actividade antioxidante de novas variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Instituto Politécnico de Bragança*, 1–44.

- Aguilera, Y., Estrella, I., Benitez, V., Esteban, R. M., & Martín-Cabrejas, M. A. (2011). Bioactive phenolic compounds and functional properties of dehydrated bean flours. *Food Research International*, 44, 774–780. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.004>
- Alves Nogueira, D., Batista Ferreira, E., & Cavalcanti Piscitelli, P. (2013). ExpDes. pt: Experimental Designs package. R package (Português).
- AOAC. (2005). Association of Official Agricultural Chemists. In AOAC (Ed.), *Official methods of Analysis* (17th ed., p. 1094). Washington.
- Boateng, J., Verghese, M., Walker, L. T., & Ogotu, S. (2008). Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus* spp. L.). *LWT - Food Science and Technology*, 41(9), 1541–1547. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.11.025>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brigide, P., Ataíde, T. da R., Canniatti-Brazaca, S. G., Baptista, A. S., Adibe L, A., Nascimento Filho, V. F., ... Sant'Ana, A. E. G. (2014). Iron bioavailability of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) intrinsically labeled with ⁵⁹Fe. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(September 2015), 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.03.001>
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., & Oomah, B. D. (2010). Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43, 461–482. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.004>
- Chisté, R. C., Mercadante, A. Z., Gomes, A., Fernandes, E., Lima, J. L. F. D. C., & Bragagnolo, N. (2011). In vitro scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chemistry*, 127(2), 419–426. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.139>
- Cifuentes, A. (2012). Food Analysis: Present, Future, and Foodomics. *ISRN Analytical Chemistry*, 2012, 1–16. <https://doi.org/10.5402/2012/801607>
- De Araújo Delfino, R., & Canniatti-Brazaca, S. G. (2010). Interação de polifenóis e proteínas e o efeito na digestibilidade proteica de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Pérola. *Ciencia E Tecnologia De Alimentos*, 30 (2), 308–312.
- De Camargo, A. C., Regitano-d'Arce, M. A. B., Gallo, C. R., & Shahidi, F. (2015). Gamma-irradiation induced changes in microbiological status, phenolic profile and antioxidant activity of peanut skin. *Journal of Functional Foods*, 12, 129–143. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.034>
- Díaz Batalla, L., Widholm, J. M., Fahey, G. C., Castaño Tostado, E., & Paredes López, O. (2006). Chemical components with health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), 2045–2052. <https://doi.org/10.1021/jf051706l>
- Drago Serrano, M. E., López López, M., & Sáinz Espuñes, T. D. R. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 37(4), 58–68.
- Dueñas, M., Martínez-Villaluenga, C., Limón, R. I., Peñas, E., & Frias, J. (2015). Effect of germination and elicitation on phenolic composition and bioactivity of kidney beans. *Food Research International*, 70, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.018>
- Gálvez Ranilla, L., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2007). Polyphenols and Antioxidant Capacity of Seed Coat and Cotyledon from Brazilian and Peruvian Bean Cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 90–98. <https://doi.org/10.1021/jf062785j>
- Gálvez Ranilla, L., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2009). Effect of Different Cooking Conditions on Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Some Selected Brazilian Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5734–5742. <https://doi.org/10.1021/jf900527v>
- García-Cañas, V., Simó, C., Herrero, M., Ibáñez, E., & Cifuentes, A. (2012). Present and future challenges in food analysis: Foodomics. *Analytical Chemistry*, 84(23), 10150–10159. <https://doi.org/10.1021/ac301680q>
- Garcia, V., Arts, I. C. W., Sterne, J. A. C., Thompson, R. L., & Shaheen, S. O. (2005). Dietary intake of flavonoids and asthma in adults. *European Respiratory Journal*, 26, 449–452. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00142104>

- Giusti, F., Caprioli, G., Ricciutelli, M., Vittori, S., & Sagratini, G. (2017). Determination of fourteen polyphenols in pulses by high performance liquid chromatography-diode array detection (HPLC-DAD) and correlation study with antioxidant activity and colour. *Food Chemistry*, 221, 689–697. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.118>
- Guajardo-Flores, D., Serna-Saldívar, S. O., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2013). Evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities of extracted saponins and flavonols from germinated black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 141(2), 1497–1503. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.010>
- Güzel, D., & Sayar, S. (2011). Effect of cooking methods on selected physicochemical and nutritional properties of barlotto bean, chickpea, faba bean, and white kidney bean. *Journal of Food Science and Technology*, 49(1), 89–95. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0260-0>
- Huber, K., Brigide, P., Bretas, E. B., & Canniatti-Brazaca, S. G. (2014). Effect of Thermal Processing and Maceration on the Antioxidant Activity of White Beans. *PLoS ONE*, 9(7), e99325. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099325>
- Hui, C., Qi, X., Qianrong, Z., Xiaoli, P., Jundong, Z., & Mantian, M. (2013). Flavonoids, Flavonoid Subclasses and Breast Cancer Risk: A Meta-Analysis of Epidemiologic Studies. *PLoS ONE*, 8(1), e54318. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054318>
- Husson, F., Josse, J., Le, S., & Mazet, J. (2017). FactoMineR: Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining. Retrieved from <http://factominer.free.fr>
- Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Watari, A., Kobayashi, M., ... Yagi, K. (2010). Hepatoprotective Effect of Syringic Acid and Vanillic Acid on CCl₄-Induced Liver Injury. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(6), 983–987. Retrieved from https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/33/6/33_983/_pdf
- Jiratanan, T., & Liu, R. H. (2004). Antioxidant Activity of Processed Table Beets (*Beta vulgaris* var. *conditiva*) and Green Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2659–2670. <https://doi.org/10.1021/jf034861d>
- Khadem, S., & Marles, R. J. (2010). Monocyclic phenolic acids; hydroxy- and polyhydroxybenzoic acids: Occurrence and recent bioactivity studies. *Molecules*, 15(11), 7985–8005. <https://doi.org/10.3390/molecules15117985>
- Kwon, S.-H., Lee, H.-K., Kim, J.-A., Hong, S.-I., Kim, H.-C., Jo, T.-H., ... Jang, C.-G. (2010). Neuroprotective effects of chlorogenic acid on scopolamine-induced amnesia via anti-acetylcholinesterase and anti-oxidative activities in mice. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.09.001>
- Leterme, P. (2002). Recommendations by health organizations for pulse consumption. *The British Journal of Nutrition*, 88 Suppl 3, S239–42. <https://doi.org/10.1079/BJN2002712>
- Lin, P.-Y., & Lai, H.-M. (2006). Bioactive Compounds in Legumes and Their Germinated Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 3807–3814. <https://doi.org/10.1021/jf060002o>
- Liu, R. H. (2013). Dietary bioactive compounds and their health implications. *Journal of Food Science*, 78(SUPPL.1). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12101>
- López, A., El-Naggar, T., Dueñas, M., Ortega, T., Estrella, I., Hernández, T., ... Carretero, M. E. (2013). Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 138(1), 547–555. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.107>
- Luthria, D. L., & Pastor-Corrales, M. A. (2006). Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2), 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.09.003>
- Maheshu, V., Teepica Priyadarsini, D., & Mahalingam Sasikumar, J. (2011). Effects of processing conditions on the stability of polyphenolic contents and antioxidant capacity of *Dolichos lablab* L. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0387-z>
- Marathe, S. A., Rajalakshmi, V., Jamdar, S. N., & Sharma, A. (2011). Comparative study on antioxidant activity of different varieties of commonly consumed legumes in India. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2005–2012. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.04.039>
- McCullough, M., & Peterson, J. (2012). Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality in a prospective cohort of US adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(2), 454–464. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.016634>

- Minolta-Corp. (1994). Precise color communication: color control from feeling to instrumentation. In *Ramsey: Minolta Corporation Instrument Systems Division* (p. 49). Japão.
- Mojica, L., Meyer, A., Berhow, M. A., & de Mejía, E. G. (2015). Bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) have similar high antioxidant capacity, in vitro inhibition of α -amylase and α -glucosidase while diverse phenolic composition and concentration. *Food Research International*, 69, 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.007>
- Moreno-Jiménez, M. R., Cervantes-Cardoza, V., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Estrella, I., De, T., ... Rocha-Guzmán, N. E. (2015). Phenolic composition changes of processed common beans: their antioxidant and anti-inflammatory effects in intestinal cancer cells. *Food Research International*, 76, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.003>
- Mursu, J., Nurmi, T., Tuomainen, T.-P., Ruusunen, A., Salonen, J. T., & Voutilainen, S. (2007). The intake of flavonoids and carotid atherosclerosis: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *British Journal of Nutrition*, 98, 814–818. <https://doi.org/10.1017/S0007114507744410>
- NEPA- Universidad Estadual de Campinas. (2011). Tabela Brasileira de Composicao de Alimentos, 161. <https://doi.org/10.1007/s10298-005-0086-x>
- Orhan, I., Kartal, M., Tosun, F., & Ener, B. (2007). Screening of Various Phenolic Acids and Flavonoid Derivatives for their Anticholinesterase Potential. *Z. Naturforsch*, 62, 829–832. Retrieved from <https://www.degruyter.com/downloadpdf/j/znc.2007.62.issue-11-12/znc-2007-11-1210/znc-2007-11-1210.pdf>
- Parmar, N., Singh, N., Kaur, A., Viridi, A. S., & Thakur, S. (2016). Effect of canning on color, protein and phenolic profile of grains from kidney bean, field pea and chickpea. *Food Research International*, 89, 526–532. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.022>
- Prior, R. L. (2015). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. *Journal of Functional Foods*, 18, 797–810. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.018>
- R CORE TEAM. (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Ramírez-Cárdenas, L., Leonel, A. J., & Costa, N. M. B. (2008). Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 28(1), 200–213. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000100029>
- Ranilla, L. G., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2007). Polyphenols and antioxidant capacity of seed coat and cotyledon from Brazilian and Peruvian bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(1), 90–98. <https://doi.org/10.1021/jf062785j>
- Raschen, M. R., Lucion, F. B., Cichoski, A. J., Menezes, C. R. de, Wagner, R., Lopes, E. J., ... Barin, J. S. (2014). Determinação do teor de umidade em grãos empregando radiação micro-ondas. *Ciência Rural*, 44, 925–930. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000500026>
- Rauter, A. P., Dias, C., Martins, A., Branco, I., Neng, N. R., Nogueira, J. M., ... Waltho, J. P. (2012). Non-toxic *Salvia sclareoides* Brot. extracts as a source of functional food ingredients: Phenolic profile, antioxidant activity and prion binding properties. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.028>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Shimelis, E. A., & Rakshit, S. K. (2005). Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. *LWT - Food Science and Technology*, 38(4), 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.002>
- Siah, S., Wood, J. A., Agboola, S., Konczak, I., & Blanchard, C. L. (2014). Effects of soaking, boiling and autoclaving on the phenolic contents and antioxidant activities of faba beans (*Vicia faba* L.) differing in seed coat colours. *Food Chemistry*, 142, 461–468. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.068>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299(1974), 152–178.

- Slavin, J. L., Jacobs, D., Marquart, L., & Wiemer, K. (2001). The role of whole grains in disease prevention. *Journal of the American Dietetic Association*, 101(7), 780–785. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(01\)00194-8](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(01)00194-8)
- Soong, Y.-Y., & Barlow, P. J. (2004). Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry*, 88, 411–417. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.003>
- Soriano Sancho, R. A., Pavan, V., & Pastore, G. M. (2015). Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Research International*, 76, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.042>
- Tanaka, T., & Takahashi, R. (2013). Flavonoids and asthma. *Nutrients*, 5(6), 2128–2143. <https://doi.org/10.3390/nu5062128>
- Tang, Z., Li, M., Zhang, X., & Hou, W. (2016). Dietary flavonoid intake and the risk of stroke: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ Open*, 6(6), e008680. <https://doi.org/doi:10.1136/bmjopen-2015-008680>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Valdés, S. T., Medeiros Coelho, C. M., Michelluti, D. J., & Tramonte Cardoso Garcia, L. V. (2011). Association of genotype and preparation methods on the antioxidant activity, and antinutrients in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2104–2111. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.06.014>
- Vernarelli, J., & Lambert, J. (2017). Flavonoid intake is inversely associated with obesity and C-reactive protein, a marker for inflammation, in US adults. *Nutrition & Diabetes*, 7, 1–3. <https://doi.org/10.1038/nutd.2017.22>
- Wang, N., Hatcher, D. W., Tyler, R. T., Toews, R., & Gawalko, E. J. (2010). Effect of cooking on the composition of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Food Research International*, 43(2), 589–594. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.012>
- Wikipedia. (2017). *Phaseolus vulgaris*. Retrieved April 10, 2017, from https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Especial:Libro&bookcmd=download&collection_id=0921674369a524e4f380108bdd46c452a81b081f&writer=rdf2latex&return_to=Phaseolus+vulgaris
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2004). Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4026–4037. <https://doi.org/10.1021/jf049696w>
- Xu, B., & Chang, K.-C. S. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science*, 72(2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x>
- Xu, B., & Chang, S. K. C. (2008). Total phenolic content and antioxidant properties of eclipse black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by processing methods. *Journal of Food Science*, 73(2), 19–27. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00625.x>
- Xu, B., & Chang, S. K. C. (2009). Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4754–4764. <https://doi.org/10.1021/jf900695s>
- Xu, B., & Chang, S. K. C. (2011). Reduction of antiproliferative capacities, cell-based antioxidant capacities and phytochemical contents of common beans and soybeans upon thermal processing. *Food Chemistry*, 129, 974–981. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.057>
- Yousif, A. M., Kato, J., & Deeth, H. C. (2006). Food Reviews International Effect of Storage on the Biochemical Structure and Processing Quality of Adzuki Bean (*Vigna angularis*) Effect of Storage on the Biochemical Structure and Processing Quality of Adzuki Bean (*Vigna angularis*). *Food Reviews International*, 231(23), 1–331. <https://doi.org/10.1080/87559120600865172>

3. ALTAS CONCENTRAÇÕES DE MINERAIS EM CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM (*Phaseolus vulgaris* L) ANTES E APÓS DO COZIMENTO

Resumo

A disseminação de informação nutricional de alimentos fonte em minerais é de significativa importância para a alimentação da população mundial. A ausência de minerais na dieta, leva a graves consequências na saúde, por isso o consumo de alimentos ricos em minerais é indispensável. Os diferentes cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L) podem ser considerados uma rica fonte de minerais. Mas o conhecimento dos teores dos minerais presentes no feijão cozido é muito mais importante, do ponto de vista nutricional, do que a caracterização do feijão cru, por ser um alimento consumido geralmente cozido. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do cozimento no teor de minerais em quatro cultivares de feijão comum cultivados no Brasil, além de verificar se após o cozimento os cultivares sofreram muitas diferenças no teor de minerais. Foram utilizados 4 cultivares de feijão comum: BRS Esteio, BRS Estilo, BRS Pitanga e BRS Bolinha Amarelinho os quais foram analisados antes e após do cozimento. As análises realizadas foram % cinzas pelo método oficial da AOAC e a determinação de minerais (Ca, Fe, Zn, K, Mg, Mn, Cu e P) foi conduzida por espectrometria de emissão ótica com plasma induzido (ICP OES). Sendo assim, os resultados indicaram que o cozimento tem influência significativa no aumento do Mn, Ca e Mg assim como a diminuição de Fe e K dependendo do cultivar avaliado, porém não houve influência significativa nos teores de Zn, Cu e P. Os resultados então confirmam que os cultivares de feijão apresentam altos conteúdos de Fe, Zn, Cu, K, Mg, Mn e P; como também são uma boa fonte de Ca. Ressaltando a importância do consumo de minerais na dieta proveniente dos grãos de feijão comum.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.; Cozimento; Cinzas; Minerais; ICP OES

Abstract

The dissemination of the information about the nutritional content of a food source of minerals is significantly important to the diet of the worldwide population.. The lack of minerals in the diet leads to serious health consequences, so the consumption of foods rich in minerals is indispensable. The different cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L) can be considered as good "source" of minerals. However, the knowledge of the mineral content of cooked beans is much more important from the nutritional point of view than the characterization of the raw beans, since it is a generally cooked food consumed. Therefore, the objective of this study was to evaluate the influence of cooking on the mineral content of four cultivars of common bean cultivated in Brazil, as well as to verify if after cooking the cultivars can still be considered as a good source of minerals. Four common bean cultivars were used: BRS Esteio, BRS Estilo, BRS Pitanga and BRS Bolinha Amarelinho, which were analyzed before and after cooking. The analyzes were performed by % Ash by AOAC official method and the determination of minerals (Ca, Fe, Zn, K, Mg, Mn, Cu and P) was conducted by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). Thus, the results indicate that cooking has a significant influence on the increase of Mn, Ca and Mg as well as the decrease of Fe and K depending on the evaluated cultivar, but it does not have a significant influence on the Zn, Cu and P contents. Results confirm that bean cultivars present "high" contents of Fe, Zn, Cu, K, Mg, Mn and P; As well as a good "source" of Ca. Highlighting the importance of dietary mineral intake from common bean grains.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L.; Cooking; Ash; Minerals; ICP OES

3.1. Introdução

A aprimoração dos nutrientes nos alimentos, seja através de práticas agrícolas ou processos industriais, tem sido considerada essencial para diminuir a desnutrição em todo o mundo (Meyer, Rojas, Santanen, & Stoddard,

2013). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as deficiências de minerais principalmente do ferro e o iodo assim como a vitamina A, são as formas mais comuns de desnutrição, levando a graves consequências para a saúde pública mundial; a falta destes nutrientes representa grande ameaça para o desenvolvimento das populações em todo o mundo, particularmente crianças e mulheres grávidas em países de baixa renda (World Health Organization, 2015). Os seres humanos precisam quantidades apropriadas de minerais para seu bom funcionamento do organismo, sendo estes nutrientes essenciais em inúmeras reações enzimáticas, além de exercer funções na síntese de macronutrientes e em processos fisiológicos (Galán, González, & Drago, 2013). Como estes elementos não podem ser produzidos pelo próprio organismo, devem ser ingeridos através da dieta. Alguns minerais são necessários em grandes quantidades, mas outros, como Fe, Zn e Cu, são necessários em quantidades traços, porque concentrações mais elevadas podem ser prejudiciais (Martínez-Ballesta et al., 2010).

Diante dessa necessidade, os grãos das leguminosas desempenham um papel importante na nutrição humana, sendo um dos principais alimentos na dieta de pessoas de baixa renda em países em desenvolvimento. Entre as leguminosas mais populares encontramos aos grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), que constituem uma mistura complexa de nutrientes, além de apresentar compostos bioativos, podem ser considerados como fonte de minerais (Carvalho et al., 2012; Ribeiro et al., 2012). Sendo assim, o Codex Alimentarius (2013), elucida que um alimento pode ser considerado como fonte de minerais quando 100 g do produto, apresenta não menos do 15% da ingestão dietética de referência (IDR) para o nutriente desejado. Da mesma forma, quando o alimento contém pelo menos o dobro da quantidade determinada como uma fonte, pode ser considerado como alto teor. Na tabela 3.1, pode-se observar a IDR para minerais de acordo com a faixa etária e o sexo, considerando-se valores de referência para a IDR e ingestão máxima tolerada (UL).

Tabela 3.1. Ingestão dietética de referencia (IDR) para minerais

	IDR	UL
Fe (mg/dia) ¹	8/18	45
Zn (mg/dia) ¹	2,3 ^{IA} /1,8 ^{IA}	40
Cu (mg/dia) ¹	0,9/0,9	10
Ca (mg/dia) ¹	1000 ^{IA} /1000 ^{IA}	2500
K (mg/dia) ¹	4700 ^{IA} /4700 ^{IA}	NE
Mg (mg/dia) ¹	420/320	350
Mn (mg/dia) ¹	2,3 ^{IA} /1,8 ^{IA}	11
P (mg/dia) ¹	700/700	4000

Fonte: Otten, Hellwig, & Meyers (2006)

¹ Requerimentos para faixas etárias de 19-50 anos

IA: Ingesta adequada

RDA: ingestão dietética recomendada

UL: ingestão máxima tolerada

NE: Não estabelecido

/: Valores para homens e mulheres

Segundo Fraga (2005), a ingestão diária recomendada (IDR), indica o nível de ingestão alimentar que é suficiente para satisfazer as necessidades de nutrientes de quase todos os indivíduos saudáveis em uma fase de vida e grupo de gênero. Ademais a Ingestão adequada (AI): é um valor de ingestão recomendado com base às aproximações observadas ou determinadas experimentalmente ou estimativas de ingestão de nutrientes por um grupo (ou grupos) de pessoas saudáveis que são consideradas adequadas (usadas quando não é possível determinar uma IDR). A ingestão máxima tolerada (UL), é o nível mais alto de ingestão de nutrientes que é susceptível a não representar

qualquer risco de efeitos adversos para a saúde de quase todos os indivíduos na população em geral. À medida que as ingestões aumentam acima da UL, o risco de efeitos adversos também aumenta.

De acordo com as informações detalhadas na Tabela 3.1, e considerando o 15% da ingestão dietética recomendada (IDR), foi feita a Tabela 3.2 onde é mostrado o requerimento mineral para serem considerados como fonte e alto tanto para homens e mulheres em relação às faixas etárias compreendidas entre 19-50 anos.

Tabela 3.2. Requerimento para ser considerado como fonte e alto em minerais para homens e mulheres.

	Fonte		Alto	
	Homem	Mulher	Homem	Mulher
Fe (mg/100 g) ¹	1,20	2,70	2,40	5,40
Zn (mg/100 g) ¹	0,35	0,27	0,69	0,54
Cu (mg/100 g) ¹	0,14	0,14	0,27	0,27
Ca (mg/100 g) ¹	150,00	150,00	300,00	300,00
K (mg/100 g) ¹	705,00	705,00	1.410,00	1.410,00
Mg (mg/100 g) ¹	63,00	48,00	126,00	96,00
Mn (mg/100 g) ¹	0,35	0,27	0,69	0,54
P (mg/100 g) ¹	105,00	105,00	210,00	210,00

¹ Requerimentos para faixas etárias de 19-50 anos

Atualmente os feijões mais populares e consumidos pelos brasileiros são os feijões “cariocas” e “pretos” (Carvalho et al., 2012). Entretanto, dependendo do cultivar de feijão comum, no mercado podem-se encontrar diversas formas, tamanhos e cores dos grãos, que podem proporcionar teores de minerais diferentes. Essas diferenças nos teores de minerais dos grãos dependem de uma série de fatores, incluindo propriedades genéticas dos cultivares, condições climáticas, características do solo e o grau de maturidade da planta no momento da colheita (Martínez-Ballesta et al., 2010), assim como a origem, localização, armazenamento, ano de plantio, modificações genéticas (Afonso, 2010). Como também, fatores ligados ao processamento como temperatura e modo de preparação dos alimentos (Carvalho et al., 2012) que influenciam o conteúdo de minerais antes de seu consumo. Entre esses fatores, o cozimento dos grãos de feijão desempenha papel importante melhorando a palatabilidade além da retenção e/ou liberação dos minerais contidos no feijão antes de ser consumido. Resultados como os reportados por Ramírez-Cárdenas, Leonel, & Costa (2008) indicam que após da cocção o conteúdo de cinzas tende a diminuir, por perdas na hidratação como no mesmo processo de cozimento.

Objetivou-se neste estudo avaliar os teores de minerais nos grãos crus e cozidos de quatro cultivares de feijão comum cultivados no Brasil, analisando a concentração de oito minerais (Ca, Fe, Zn, K, Mg, Mn, Cu e P), além disso, verificar se após do cozimento os cultivares ainda podem ser considerados como alimento “fonte” ou “alto” em minerais.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Tratamento material e Reagentes

Os frascos de polietileno e material de vidro utilizados neste estudo passaram por um processo de descontaminação em banho de HNO_3 20% (v/v) durante 24 horas antes da lavagem com água ultrapura obtida por um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA), com condutividade de 18 M Ω . Argônio (White Martins, Sertãozinho, Brasil). Foram utilizadas também ácido nítrico 20% (v/v) (Merck, Darmstadt, Alemanha) e peróxido de hidrogênio (Merck, Darmstadt, Alemanha).

3.2.2. Amostras

Quatro cultivares de *Phaseolus vulgaris* L., BRS Esteio (preto), BRS Estilo (marrom), BRS Pitanga (vermelho) e BRS Bolinha Amarelinho (amarelo) foram fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. Foram armazenadas a 4°C até o momento das análises. Ao não contar com um material certificado de referência (MCR) específico para feijão, foram utilizados padrões semelhantes a nosso interesse, no caso utilizou-se *Tomato leaves* (NIST 1573a) e *Rice flour* (NIES 10c) por serem os mais próximos para avaliar a precisão do método proposto.

O cozimento dos grãos foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Brigide et al. (2014) com algumas modificações, onde os grãos foram imersos em água destilada na proporção 1:3 (grãos/água). Depois de 14 horas de imersão, a água foi eliminada e trocada por uma nova quantidade de água destilada numa proporção de 1:2 (grãos/água), com posterior cozimento em autoclave à 121°C, 1 atm. durante 10 minutos, guardadas a -26 °C até sua posterior análise. Todas as análises posteriores foram realizadas em triplicata.

3.2.3. Determinação de Cinza

A determinação da porcentagem de cinza via seca foi realizada de acordo ao método oficial da AOAC (2005) 945.38 C, tanto para os feijões crus e cozidos.

3.2.4. Determinação de minerais

A determinação de minerais presentes nos cultivares de feijão foi realizada num ICP OES, seguindo os passos de moagem, digestão e determinação dos minerais propriamente.

3.2.4.1. Moagem das amostras

A moagem dos grãos crus foi realizada num moinho criogênico (Freezer Mill 6870, SPEX, Estados Unidos). O conjunto de moagem criogênica é constituído de um tubo de policarbonato, uma barra magnética e duas tampas de aço inoxidável. A barra magnética é inserida no interior do tubo que contém a amostra e vedado nas extremidades com as tampas de aço inoxidável. Este conjunto é adaptado na bobina de indução e imerso em uma cuba com nitrogênio líquido. No equipamento utilizado foi possível realizar, simultaneamente, a moagem de até quatro amostras. A moagem foi realizada a partir do pré-congelamento das amostras por 5 minutos (-196°C),

seguidas por 5 ciclos de moagem com duração de 2 minutos, os quais foram alternados com o congelamento da amostra, por 1 minuto. Ao todo, a amostra foi moída por 10 minutos. O material foi armazenado em tubos Falcon de 50mL até o momento da digestão das amostras.

A moagem dos grãos cozidos com a água de cocção foi realizada com Mixer vertical (Black & Decker, Brasil) até formar uma mistura homogênea, após, foram colocados em tubo Falcon de 50 mL até a pesagem e digestão das amostras.

3.2.4.2. Digestão das amostras

A digestão assistida por radiação micro-ondas das amostras cruas, cozidas e MCR foi realizada de acordo a metodologia descrita por Nunes et al. (2010) com algumas modificações. Foram pesados em frascos de TFM®, 0,25 g tanto das amostras cruas como do MCR e 1,0 g dos grãos cozidos (foi colocada essa quantidade de massa por causa da matéria seca que é em média um 20%). Logo foram combinadas com 6 mL de HNO₃ 20% (v/v) e 2 mL de H₂O₂. A mistura foi mantida por 30 min (temperatura ambiente) numa capela nos frascos de TFM®. Os frascos foram acondicionados individualmente em cilindros de proteção de PEEK (*polyether ether ketone*), fechados e fixados em rotor apropriado para 10 amostras. O rotor foi colocado na cavidade do forno de micro-ondas (ETHOS 1600, Milestone, Italy) para sua posterior digestão. As condições instrumentais utilizadas para a digestão indicam-se na Tabela 3.1. Após o resfriamento, as soluções resultantes das amostras digeridas dos feijões crus e MCR foram completados a 25 mL, e 15 mL para os feijões cozidos, todos com água ultrapura e colocados em tubos falcon de 50 mL. As concentrações de minerais foram determinadas por espectrometria de emissão ótica com plasma induzido (ICP OES).

Tabela 3.1. Condições instrumentais para digestão das amostras e MCR.

Tempo (min)	Temperatura (°C)
5 (gradiente)	120
2 (aguardo)	120
3 (gradiente)	160
2 (aguardo)	160
5 (gradiente)	220
20 (aguardo)	220

3.2.4.3. Determinação de minerais por ICPOES

A determinação do teor de minerais (Ca, Mg, K, P, Cu, Zn, Fe, Mn), foi realizada utilizando espectrometria de emissão ótica com plasma induzido (ICPOES) (iCAP7400 Duo, Thermo Scientific, USA). As condições operacionais do equipamento foram previamente estabelecidas como indica a Tabela 3.2. A curva de calibração de cada elemento foi construída de acordo com a solução multielementar indicado na tabela 3.3. As concentrações dos minerais estudados foram escolhidas com base nos testes feitos com anterioridade.

Tabela 3.2. Condições operacionais do ICPOES para determinação de minerais.

Potência da radiofrequência aplicada (KW)	1,20
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	12,0
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,50
Vazão do gás do nebulizador (L min ⁻¹)	0,60
Taxa de aspiração da amostra (mL min ⁻¹)	1,50
Linhas de emissão (nm)	Ca II 396,847; Mg II 285,213; K I 766,490; P I 178,284; Cu II 324,754; Zn I 213,856; Fe II 259,940; Mn II 257,610

I: Linha atômica; II: Linha iônica

Link para consulta: http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html

Das soluções padrão de 1,000 mg.L⁻¹ (Merck, Darmstadt, Alemanha) de cada elemento. Foi preparada uma solução padrão multielementar que foi diluída com água deionizada até atingir os intervalos adequados. A linearidade das curvas padrão foram calculadas para cada elemento em 5 pontos numa gama de concentração indicados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3. Intervalo de concentração de cada mineral da solução Padrão multielementar.

Elemento	Intervalos de Concentração (mg. Kg ⁻¹)
Cu	0,025 - 1
Mn	0,05 - 2
Zn	0,075 - 3
Fe	0,125 - 5
Ca	2,5 - 100
Mg	2,5 - 100
P	2,5 - 100
K	15 – 600

As concentrações de cálcio, magnésio, potássio e fósforo foram expressas como mg por 100 g⁻¹ de matéria seca, de por outro lado, as concentrações de cobre, zinco, ferro e manganês foram expressas em µg por 100 g⁻¹ de matéria seca.

3.2.5. Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados por delineamento inteiramente casualizado (DIC) com arranjo fatorial 4 x 2 em que as variáveis exploratórias foram 4 cultivares de feijão comum: BRS Esteio (preto), BRS Estilo (Carioca), BRS Pitanga (vermelho) e BRS Bolinha Amarelinho (amarelo), e 2 etapas (cru, cozido). Foram realizadas 3 repetições totalizando 24 unidades experimentais. As variáveis resposta: % cinzas, Ca, Mg, K, P, Cu, Zn, Fe, Mn foram avaliados por análise de variância (ANOVA), considerando como causas de variação: cultivares, etapas e cultivares x etapas. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey, utilizando o pacote ExpDes.pt (Alves Nogueira, Batista Ferreira, & Cavalcanti Piscitelli, 2013) no ambiente R versão 3.3.1 (R CORE TEAM, 2016). As diferenças foram consideradas significativas a 5%. Também foi realizado uma Análise de Componentes Principais (ACP) sobre a matriz de correlação dos dados médios das variáveis dependentes para cada cultivar de feijão por etapas, utilizando o pacote FactoMineR (Husson, Josse, Le, & Mazet, 2017). A contribuição dos feijões nas duas primeiras componentes principais foi explorada para definir a pertinência de cada feijão nos diferentes espaços amostrais.

3.3. Resultados e Discussão

3.3.1. Cinzas

O conteúdo de cinzas (% base seca) nos diferentes cultivares de feijão comum em cada etapa estão apresentadas na Tabela 3.4. De modo que, foram reportadas porcentagens de cinzas nos cultivares crus de 3,60 (BRS Bolinha Amarelinho) – 4,04 (BRS Esteio), da mesma forma para os cultivares cozidos as porcentagens ficaram entre 3,89 (BRS Estilo) – 4,29 (BRS Bolinha amarelinho). A análise da variância mostrou que houve aumento nos teores de cinzas quando são cozidos, que foram notados nos cultivares BRS Pitanga e BRS Bolinha Amarelinho ($P < 0,05$) (Tabela 3.5).

Shimelis & Rakshit (2005) mostraram teores de cinzas entre 3 e 4 (% base seca) em variedades melhoradas de feijão seco (*Phaseolus vulgaris* L.) crus cultivadas na Etiópia. Do mesmo modo, Meyer et al. (2013) determinaram que em feijões crus com tegumento pretos e vermelhos os teores de cinza ficaram entre 3-4%. Estes resultados estão de acordo à Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (2011), sendo reportados teores de cinza entre 3 e 4% para feijões carioca, preto e rosinha crus.

Tabela 3.4. Porcentagem cinza (% base seca) em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cru e cozido.

Cultivar do feijão	Cru	Cozido
BRS Pitanga	3,76 ± 0,03 ^{bAB}	4,33 ± 0,23 ^{aA}
BRS Esteio	4,04 ± 0,05 ^{aA}	3,95 ± 0,22 ^{aB}
BRS Estilo	3,84 ± 0,02 ^{aAB}	3,89 ± 0,13 ^{aB}
BRS Bolinha Amarelinho	3,60 ± 0,04 ^{bB}	4,29 ± 0,14 ^{aA}

Média ± Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre as etapas ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Ramírez-Cárdenas et al. (2008), em estudo sobre o efeito do processamento doméstico no teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum, observaram alguns acréscimos dependendo do tipo de cozimento utilizado. Esse aumento foi justificado possivelmente devido ao acúmulo de alguns minerais no feijão. Os autores indicaram que, durante a hidratação, germinação e fermentação, a fitase intrínseca é ativada, catalisando a hidrólise de fitato e produzindo inositol e ácido fosfórico. Essa liberação mineral possivelmente seja uma das causas do aumento das cinzas.

Delfino & Canniatti-Brazaca (2010) avaliaram o cozimento em autoclave de um tipo de cultivar de feijão “BRS Pérola”, encontrando teores de cinza de 4% (% base seca) tanto no grão cru quanto no cozido sem diferenças significativas. Toledo & Canniatti-Brazaca, (2008) em estudo da avaliação química e nutricional do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) cozido por diferentes métodos (panela aberta, panela pressão e micro-ondas), encontraram teores de cinzas entre 3,94 – 4,58%. Eles indicam que quando a água de maceração não é desprezada, os minerais solubilizados são mantidos. Da mesma forma, apontam que a maceração dos grãos com troca de água para a cocção causa lixiviação dos minerais à água de cocção. Nossos resultados indicam que a troca de água não afetou significativamente a diminuição do conteúdo de cinzas nos cultivares avaliados. Além da perda de minerais na água pode ocorrer também a perda de compostos orgânicos, caso essa perda seja alta, a porcentagem de minerais pode aumentar significativamente.

Considerando as pesquisas apresentadas e os resultados obtidos neste estudo, é possível concluir que, dependendo do cultivar de feijão comum analisado as porcentagens de cinzas podem aumentar pelo efeito do cozimento devido o descarte da água de hidratação e também pela adição de minerais provenientes da água utilizada para o cozimento.

3.3.2. Determinação de minerais

O método no ICP OES teve resultados muito próximos aos materiais certificados de referência (MCR) sendo apresentados na Tabela 3.5. Da mesma forma, realizou-se a identificação e quantificação de ferro (Fe), manganês (Mn), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), zinco (Zn), cobre (Cu) e fósforo (P) mediante o uso de ICPOES, sendo os resultados apresentados nas Tabelas 3.6 e 3.7.

Tabela 3.5. Porcentagem de recuperação de minerais no material certificado de referência (MCR).

MCR	Elemento	Teor certificado (mg.kg ⁻¹)	Teor encontrado (mg.kg ⁻¹)	MCR	Elemento	Teor certificado (mg.kg ⁻¹)	Teor encontrado (mg.kg ⁻¹)
Tomato leaves NIST 1573a ¹	Ca	5,050	4,98	Rice flour NIES 10C ²	Ca	95,000	91,63
	Mg	1,200	1,03		Mg	0,125	0,124
	K	2,700	2,80		K	0,275	0,253
	P	0,216	0,18		P	0,335	0,322
	Fe	368,000	312,00		Fe	11,400	8,77
	Zn	30,900	25,00		Zn	23,100	21,5
	Mn	246,000	222,00		Mn	40,100	33,3
	Cu	4,700	4,04		Cu	4,100	3,96

Link para consulta: ¹ https://www-s.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=1573a

² <http://www.nies.go.jp/lab/crm-e/rice.html>

Os resultados indicam que entre os cultivares crus, em relação aos macrominerais, o potássio foi o elemento mais abundante, variando de 15,13 (BRS Pitanga) – 16,57 (BRS Esteio) $\text{mg.g}^{-1}\text{MS}$. Assim mesmo, o teor do P foi o segundo elemento com maior presença que variou entre 3,73 (BRS Pitanga) – 4,43 (BRS Estilo) $\text{mg.g}^{-1}\text{MS}$. Também o Ca encontrou-se entre 0,87 (BRS Bolinha A.) – 1,85 (BRS Esteio) $\text{mg.g}^{-1}\text{MS}$. O Mg entre 1,45 (BRS Bolinha A.) – 1,69 (BRS Pitanga) $\text{mg.g}^{-1}\text{MS}$. No caso dos microminerais, o conteúdo de Fe ficou entre 66,55 (BRS Estilo) – 77,25 (BRS Bolinha A.) $\mu\text{g.g}^{-1}\text{MS}$. Como também o Zn ficou entre 31,31 (BRS Bolinha A.) – 35,54 (BRS Esteio) $\mu\text{g.g}^{-1}\text{MS}$. O Mn entre 13,09 (BRS Estilo) – 25,39 (BRS Pitanga) $\mu\text{g.g}^{-1}\text{MS}$. E por último o Cu entre 6,53 (BRS Bolinha A.) – 9,18 (BRS Pitanga) $\mu\text{g.g}^{-1}\text{MS}$ (Tabela 3.8 e 3.9). Estes resultados foram semelhantes aos reportados por Shimelis & Rakshit, 2005; Ramírez-Cárdenas et al., 2008; Wang, Hatcher, Tyler, Toews, & Gawalko, 2010; Golam Masum Akond, Crawford, Berthold, Talukder, & Hossain, 2011; Meyer et al., 2013 que estudaram tanto feijões crus como cozido, com algumas variações dependendo do tipo de cultivar. O resultado dos cultivares cozidos indicou aumento significativo ($P < 0,05$) de Mn, Ca e Mg (peso da matéria seca), assim como diminuição de Fe e K ($P < 0,05$) dependendo do cultivar avaliado (Tabela 3.6 e 3.7).

A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos 4^{ed} (NEPA- Universidad Estadual de Campinas, 2011) reporta os teores de Fe, Zn, Cu, Mn, Ca, K, Mg e P para grãos de feijão comum crus e cozidos de alguns cultivares mostrando teores similares aos reportados nesta pesquisa. A distribuição de cada mineral pode influenciar no conteúdo encontrado. Ribeiro et al. (2012), mostraram as concentrações de minerais tanto no embrião quanto no tegumento de 16 cultivares de feijão comum em duas safras diferentes. Os autores indicaram que a presença de minerais no tegumento deve-se principalmente ao Ca, assim como o K no embrião e o Fe, Cu e Zn tanto no tegumento como no embrião, a distribuição de cada mineral depende em grande medida do cultivar. Além disso, não foi encontrada evidência da localização do Mn, Mg e P no grão. Porém, deve-se destacar que a composição mineral dos alimentos de origem vegetal é influenciada pela fertilidade do solo, características genéticas da planta, o ambiente no qual cresce e a distribuição do mineral dentro do grão (Miller, 2008; Ramírez-Cárdenas et al., 2008). Possivelmente a localização dos minerais no feijão também possa ter influenciado na diminuição ou aumento após do cozimento em nosso estudo.

A pesquisa realizada por Wu, James, & Anderson (2005) observaram que, altas concentrações de cálcio, sódio e ferro em tegumentos mantêm a integridade das sementes, e como resultante em menos perdas de minerais durante o processamento térmico do feijão. Igualmente, Güzel & Sayar (2011) estudaram o efeito de métodos de cozimento em propriedades físico-químicas e nutricionais de algumas leguminosas, indicaram que a separação do tegumento do embrião após do cozimento cumpre papel importante na manutenção ou liberação dos minerais do embrião. Assim mesmo, Ramírez-Cárdenas et al. (2008) no estudo do efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum, já indicaram que os teores de Fe, Zn, Ca, Cu e Mn encontrados nos cinco (05) cultivares de feijões avaliados possam ser considerados fonte destes minerais. Da mesma forma, Carvalho et al. (2012) em seu estudo sobre a retenção de ferro e zinco em feijão comum após cozinhar em casa, indicaram que os seis (06) cultivares de feijões analisados podem ser considerados como fonte de ferro e zinco.

Tabela 3.6. Conteúdo ($\mu\text{g/g}$ amostra seca) de microminerais presentes nos cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

Cultivar de feijão	Fe		Zn		Cu		Mn	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
BRS Esteio	72,20 $\pm$ 2,73 ^{aAB}	70,56 $\pm$ 4,75 ^{aAB}	35,54 $\pm$ 0,56 ^{bA}	35,64 $\pm$ 1,34 ^{aA}	8,88 $\pm$ 0,51 ^{bA}	8,93 $\pm$ 0,49 ^{aA}	16,28 $\pm$ 0,22 ^{bB}	17,37 $\pm$ 0,33 ^{aB}
BRS Pitanga	70,30 $\pm$ 1,17 ^{aBC}	57,46 $\pm$ 0,14 ^{bC}	32,43 $\pm$ 0,58 ^{bB}	33,41 $\pm$ 0,65 ^{aB}	9,18 $\pm$ 0,20 ^{bA}	9,58 $\pm$ 0,23 ^{aA}	25,39 $\pm$ 0,68 ^{aA}	24,50 $\pm$ 0,89 ^{bA}
BRS Estilo	66,55 $\pm$ 1,09 ^{aC}	65,80 $\pm$ 1,12 ^{aB}	31,70 $\pm$ 0,74 ^{bB}	34,32 $\pm$ 1,22 ^{aB}	8,57 $\pm$ 0,14 ^{bA}	9,39 $\pm$ 0,34 ^{aA}	13,09 $\pm$ 0,19 ^{bD}	15,37 $\pm$ 0,35 ^{aC}
BRS Bolinha A.	77,25 $\pm$ 1,69 ^{aA}	74,90 $\pm$ 1,97 ^{aA}	31,31 $\pm$ 0,52 ^{bB}	32,31 $\pm$ 0,55 ^{aB}	6,53 $\pm$ 0,14 ^{bB}	6,76 $\pm$ 0,20 ^{aB}	14,52 $\pm$ 0,20 ^{bC}	15,48 $\pm$ 0,40 ^{aC}

Média, $\pm$ Desvio padrão das médias, n= 3.

Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre as etapas ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 3.7. Conteúdo (mg/g amostra seca) de macrominerais presentes nos cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

Cultivar de feijão	Ca		Mg		K		P	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
BRS Esteio	1,85 $\pm$ 0,02 ^{bA}	2,12 $\pm$ 0,15 ^{aA}	1,62 $\pm$ 0,02 ^{aAB}	1,63 $\pm$ 0,07 ^{aB}	16,57 $\pm$ 0,15 ^{aA}	14,39 $\pm$ 0,63 ^{bAB}	4,14 $\pm$ 0,04 ^{aB}	4,24 $\pm$ 0,15 ^{aB}
BRS Pitanga	1,62 $\pm$ 0,04 ^{aB}	1,60 $\pm$ 0,13 ^{aB}	1,69 $\pm$ 0,07 ^{bA}	1,82 $\pm$ 0,04 ^{aA}	15,13 $\pm$ 0,40 ^{aB}	14,04 $\pm$ 0,37 ^{bAB}	3,73 $\pm$ 0,08 ^{aC}	3,70 $\pm$ 0,15 ^{aC}
BRS Estilo	1,77 $\pm$ 0,04 ^{bAB}	2,14 $\pm$ 0,14 ^{aA}	1,58 $\pm$ 0,03 ^{bB}	1,70 $\pm$ 0,04 ^{aB}	16,07 $\pm$ 0,30 ^{aA}	13,85 $\pm$ 0,24 ^{bB}	4,43 $\pm$ 0,12 ^{aA}	4,35 $\pm$ 0,14 ^{aA}
BRS Bolinha A.	0,87 $\pm$ 0,03 ^{aC}	1,03 $\pm$ 0,06 ^{aC}	1,45 $\pm$ 0,01 ^{bC}	1,62 $\pm$ 0,05 ^{aB}	16,42 $\pm$ 0,20 ^{aA}	14,74 $\pm$ 0,21 ^{bA}	4,17 $\pm$ 0,15 ^{aAB}	4,27 $\pm$ 0,06 ^{aAB}

Média, $\pm$ Desvio padrão das médias, n= 3.

Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre as etapas ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Diante disso, com os resultados dos minerais apresentados nas Tabela 3.6 e Tabela 3.7, foi elaborado a Tabela 3.8 onde indica o conteúdo mineral em mg.100 g⁻¹ matéria seca nos cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) a serem considerados como fonte ou alto segundo o Codex Alimentarius (2013). Desta maneira pode-se indicar que os quatro cultivares de feijão podem ser considerados como alto em Fe, Zn, Cu, K, Mg, Mn e P; da mesma forma, o conteúdo de cálcio em todos os cultivares pode ser considerado como fonte.

Tabela 3.8. Teor de minerais dos cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) a serem considerados como fonte e alto.

Mineral	BRS Esteio		BRS Pitanga		BRS Estilo		BRS Bolinha A.	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Fe ¹	7,22**	7,06**	7,03**	5,75**	6,66**	6,58**	7,73**	7,49**
Zn ¹	3,55**	3,56**	3,24**	3,34**	3,17**	3,43**	3,13**	3,23**
Cu ¹	0,89**	0,89**	0,92**	0,96**	0,86**	0,94**	0,65**	0,68**
Ca ¹	185,07*	211,82*	161,58*	159,84*	176,74*	213,60*	87,14	102,90
K ¹	1.656,82	1.438,59**	1.513,06**	1.403,54*	1.607,35**	1.384,62*	1.641,91**	1.473,70**
Mg ¹	162,02**	163,41**	168,75**	181,54**	158,40**	170,18**	144,99**	162,17**
Mn ¹	1,63**	1,74**	2,54**	2,45**	1,31**	1,54**	1,45**	1,55**
P ¹	413,51**	423,58**	373,32**	369,60**	442,87**	434,79**	417,38**	427,23**

¹ Conteúdo mineral mg/100 g matéria seca

* Mineral considerado como “fonte” para faixas etárias de 19-50 anos

** Mineral considerado como “alto” para faixas etárias de 19-50 anos

Sendo assim, a identificação de cultivares de feijão comum com alta concentração de minerais como o ferro pode representar contribuição significativa para a avaliar a qualidade nutricional e recomendações de consumo, especialmente na prevenção da anemia, que atualmente é um grave problema de saúde pública e afeta a pessoas em todo o mundo (World Health Organization, 2015). Da mesma forma, cultivares de feijão comum com alta concentração de potássio na dieta é uma boa alternativa para pessoas que praticam atividade física intensa e, portanto, requerem concentrações de potássio mais elevadas (Lindinger, 1995). Assim como os outros minerais que ajudam na nutrição do ser humano e ao bom funcionamento do organismo além de intervir em inúmeros processos fisiológicos como os detalhados na Tabela 1.3. Portanto, o consumo do feijão como parte de uma dieta balanceada deve ser baseado no conhecimento da composição mineral das cultivares e das necessidades nutricionais individuais (Ribeiro et al., 2012).

3.3.3. Análise dos componentes principais (ACP)

Logo após da obtenção das respostas, foi elaborado uma ACP usando uma matriz de correlação sobre os dados existente entre os cultivares de feijão x etapas e o conteúdo mineral obtidos neste estudo (Figura 3.1). Foram encontrados sete componentes principais dos quais as duas (02) primeiras componentes principais foram avaliadas, representando 73,22% da variância total explicada.

Figura 3.1.- Análise de componentes principais na matriz de correlação das variáveis químicas nos cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) crus e cozidos. A) análise no 1º e 2º componente. Axis 1= 51,54%; Axis 2= 21,68%; Variância total explicada = 73,22 %. Pitanga-Cru = BRS Pitanga cru, Esteio-Cru = BRS Esteio cru, Estilo-Cru = BRS Estilo cru, Bolinha-Cru = BRS Bolinha Amarelinho cru; Pitanga-Cozido = BRS Pitanga cozido, Esteio-Cozido = BRS Esteio cozido, Estilo-Cozido = BRS Estilo cozido, Bolinha-Coz = BRS Bolinha Amarelinho cozido. Cinzas = % Cinzas, Fe = Ferro, K = Potássio, P = Fósforo, Zn = Zinco, Ca = Cálcio, Cu = Cobre, Mg = Magnésio e Mn=Manganês.

O componente principal 1 (CP1), foi positivamente correlacionado com os cultivares BRS Pitanga cru e cozido, BRS Etilo e BRS Esteio cozidos encontrados nos quadrantes I e IV. No entanto, os quadrantes II e III explicam correlação negativa também no CP1, sendo os cultivares BRS Esteio e BRS Estilo crus, além do BRS Bolinha cru e cozido. Por outro lado, o componente principal 2 (CP2) foi positivamente correlacionado, aos cultivares BRS Esteio e BRS Estilo tanto crus como cozidos (quadrantes II e III), da mesma forma, o CP2 obtém correlação negativa nos quadrantes III e IV sendo os cultivares BRS Pitanga e BRS Bolinha A. tanto cru e cozido.

Nesse sentido, os cultivares que estão localizadas no lado direito do componente principal 1 (Figura 3.1), indicam maior presença de Zn, Ca, Cu, Mg, Mn e % cinzas, em contrapartida de Fe, K e P. Da mesma forma, no componente principal 2 os cultivares que estão localizadas na parte superior, tiveram a maior presença dos minerais P, Zn, Ca, Cu e Fe. Mas também menores quantidades de K, Mg, Mn e % cinzas.

Concluindo que, cada quadrante onde encontram-se os minerais em relação a sua proximidade com os cultivares, indicam a presença significativa destes. Além disso, a ACP confirma a possível influência que tem o cozimento no conteúdo mineral para cada cultivar.

3.4. Conclusões

O conhecimento dos teores dos minerais presentes no feijão cozido é muito mais importante do ponto de vista nutricional que a caracterização do alimento cru, por ser um alimento consumido cozido. Sendo assim, os resultados indicam que possivelmente a água tem influência significativa no aumento do Mn, Ca e Mg. O descarte da água de hidratação pode ter influência na diminuição de Fe e K dependendo do cultivar avaliado, mas não influencia significativamente nos teores de Zn, Cu e P. Os resultados confirmam que os cultivares de feijão podem ser considerados como altos em Fe, Zn, Cu, K, Mg, Mn e P; assim como também uma boa fonte de Ca. Evidenciando o importante aporte de minerais à dieta proveniente dos grãos de feijão comum.

Referências

- Afonso, S. M. E. (2010). Caracterização físico-química e actividade antioxidante de novas variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Instituto Politécnico de Bragança*, 1–44.
- Alves Nogueira, D., Batista Ferreira, E., & Cavalcanti Piscitelli, P. (2013). ExpDes. pt: Experimental Designs package. R package (Português).
- AOAC. (2005). Association of Official Agricultural Chemists. In AOAC (Ed.), *Official methods of Analysis* (17th ed., p. 1094). Washington.
- Brigide, P., Ataíde, T. da R., Canniatti-Brazaca, S. G., Baptista, A. S., Adibe L, A., Nascimento Filho, V. F., ... Sant'Ana, A. E. G. (2014). Iron bioavailability of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) intrinsically labeled with ⁵⁹Fe. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(September 2015), 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.03.001>
- Carvalho, L. M. J., Corrêa, M. M., Pereira, E. J., Nutti, M. R., Carvalho, J. L. V., Ribeiro, E. M. G., & Freitas, S. C. (2012). Iron and zinc retention in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) after home cooking. *Food & Nutrition Research*, 56, 1–6. <https://doi.org/10.3402/fnr.v56i0.15618>
- Codex Alimentarius. (2013). Guidelines for use of nutrition and health claims. *Cac/Gl 23-1997*, (Adopted in 1997. Revised in 2004. Amended in 2001, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012 and 2013. Annex adopted 2009), 5–9.
- Fraga, C. G. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.013>
- Galán, M. G., González, R. J., & Drago, S. R. (2013). Perfil nutricional y dializabilidad de minerales de alimentos de interés social. *Revista Española de Nutrición Humana Y Dietética*, 17(1), 3–9. <https://doi.org/10.14306/renhyd.19.3.152>
- Golam Masum Akond, A. S. M., Crawford, H., Berthold, J., Talukder, Z. I., & Hossain, K. (2011). Minerals (Zn, Fe, Ca and Mg) and antinutrient (Phytic Acid) constituents in common bean. *American Journal of Food Technology*, 6(3), 235–243. <https://doi.org/10.3923/ajft.2011.235.243>
- Güzel, D., & Sayar, S. (2011). Effect of cooking methods on selected physicochemical and nutritional properties of barlotto bean, chickpea, faba bean, and white kidney bean. *Journal of Food Science and Technology*, 49(1), 89–95. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0260-0>
- Husson, F., Josse, J., Le, S., & Mazet, J. (2017). FactoMineR: Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining. Retrieved from <http://factominer.free.fr>
- Lindinger, M. (1995). Potassium regulation during exercise and recovery in humans: Implications for skeletal and cardiac muscle. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 27(4), 1011–1022. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(95\)90070-5](https://doi.org/10.1016/0022-2828(95)90070-5)
- Martínez-Ballesta, M. C., Dominguez-Perles, R., Moreno, D. A., Muries, B., Alcaraz-Opez, C., Bastías, E., ... Carvajal, M. (2010). Minerals in plant food: effect of agricultural practices and role in human health. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30, 295–309. <https://doi.org/10.1051/agro/2009022>
- Meyer, M. R. M., Rojas, A., Santanen, A., & Stoddard, F. L. (2013). Content of zinc, iron and their absorption inhibitors in Nicaraguan common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 136, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.105>
- Miller, D. D. (2008). Minerals in Food Chemistry. In S. Damodaran, K. L. Parkin, & O. R. Fennema (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* (4th ed., pp. 523–564). New York. <https://doi.org/10.1080/01932691.2011.584482>
- NEPA- Universidad Estadual de Campinas. (2011). Tabela Brasileira de Composicao de Alimentos, 161. <https://doi.org/10.1007/s10298-005-0086-x>
- Nunes, L. C., Batista Braga, J. W., Trevizan, L. C., Florêncio de Souza, P., Arantes de Carvalho, G. G., Júnior, D. S., ... Krug, F. J. (2010). Optimization and validation of a LIBS method for the determination of macro and micronutrients in sugar cane leaves. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 25(9), 1453. <https://doi.org/10.1039/c003620j>

- Otten, J. J., Hellwig, J. P., & Meyers, L. D. (2006). *Dietary DRI Reference Intakes: The Essential guide to nutrient requirements*. (Institute of medicine of the national academies, Ed.). Washington, DC. <https://doi.org/10.17226/11537>
- R CORE TEAM. (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Ramírez-Cárdenas, L., Leonel, A. J., & Costa, N. M. B. (2008). Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 28(1), 200–213. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000100029>
- Ribeiro, N. D., Maziero, S. M., Prigol, M., Nogueira, C. W., Rosa, D. P., & Possobom, M. T. D. F. (2012). Mineral concentrations in the embryo and seed coat of common bean cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1–2), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.03.003>
- Shimelis, E. A., & Rakshit, S. K. (2005). Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. *LWT - Food Science and Technology*, 38(4), 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.002>
- Wang, N., Hatcher, D. W., Tyler, R. T., Toews, R., & Gawalko, E. J. (2010). Effect of cooking on the composition of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Food Research International*, 43(2), 589–594. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.012>
- World Health Organization. (2015). Micronutrients. Retrieved June 7, 2017, from <http://www.who.int/nutrition/topics/micronutrients/en/>
- Wu, X. J., James, R., & Anderson, A. K. (2005). Mineral contents in seed coat and canning quality of selected cultivars of dark red kidney beans (*phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Processing and Preservation*, 29(1), 63–74. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2005.00013.x>

4. DIGESTÃO GASTROINTESTINAL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E MINERAIS EM CULTIVARES DE FEIJÃO COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.) MEDIANTE DIALISE *IN VITRO*.

Resumo

O interesse sobre a bioacessibilidade de nutrientes em distintas matrizes alimentares vem aumentando nos últimos anos, embora estudos sobre essa abordagem em grãos de feijão comum ainda são escassos. Diante disso, o objetivo deste estudo foi determinar a porcentagem bioacessível de compostos fenólicos e minerais em quatro cultivares de *Phaseolus vulgaris* L (BRS Esteio, BRS Estilo, BRS Pitanga e BRS Bolinha Amarelinho) previamente cozidos, mediante simulação da digestão gastrointestinal utilizando diálise *in vitro*. Para monitorar a liberação dos compostos bioativos (compostos fenólicos e minerais), foram analisadas as alíquotas da fase gástrica e fase intestinal (dialisado e não dialisado), e calculadas as porcentagens da bioacessibilidade. Os resultados mostraram que o processo gastrointestinal produz reduções significativas ($P < 0,05$) em todos os cultivares, desde o processo da digestão gástrica até o dialisado. Além disso, somente entre o 3,08 - 6,90% do conteúdo dos compostos fenólicos totais (FT) e 5,56 - 6,73% dos flavonoides totais (FVT) foram considerados bioacessíveis. Foi observado que o ácido gálico (ácido fenólico) e a epicatequina (flavonoide) possuem as maiores porcentagens de bioacessibilidade entre todos os compostos fenólicos descritos neste estudo. Por outro lado, as porcentagens de bioacessibilidade dos minerais foram: Cu 3,45 – 36,66 %; Zn 21,50 – 24,88%; Fe 0,18 – 2,84%; Mn 3,79 – 8,68%, Ca 3,84 – 8,27 %; Mg 13,57 – 14,92%; K 18,75 – 25,63%; P 9,52 – 13,75%. Pode-se concluir que os grãos de feijão comum cozidos tem importante papel de fornecimento de compostos fenólicos e minerais a nossa dieta.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.; Compostos fenólicos; Minerais; Bioacessibilidade

Abstract

Interest in the bioaccessibility of nutrients in different food matrices has increased in recent years, although studies on this approach in common bean grains are still scarce. The objective of this study was to determine the bioaccessible percentage of phenolic compounds and minerals in four cultivars of *Phaseolus vulgaris* L (BRS Esteio, BRS Estilo, BRS Pitanga and BRS Bolinha Amarelinho) previously cooked, by simulation of gastrointestinal digestion using *in vitro* dialysis. To monitor the release of bioactive compounds (phenolic compounds and minerals), aliquots of the gastric phase and intestinal phase (dialysed and non-dialysed) were analyzed, and the percentages of bioaccessibility were calculated. The results show that the gastrointestinal process produces significant reductions ($P < 0.05$) in all cultivars from the gastric digestion process to the dialysate. In addition, only between 3.08 - 6.90% of total phenolic compounds (TPC) content and 5.56 - 6.73% of total flavonoids (TF) were considered bioaccessible. It was observed that gallic acid (phenolic acid) and epicatechin (flavonoid) have the highest percentages of bioaccessibility among all the phenolic compounds reported in this study. On the other hand, the percentages of bioaccessibility of minerals were: Cu 3.45 - 36.66%; Zn 21.50 - 24.88%; Fe 0.18 - 2.84%; Mn 3.79 - 8.68%, Ca 3.84 - 8.27%; Mg 13.57 - 14.92%; K 18.75 - 25.63%; P 9.52 - 13.75%. It can be concluded that cooked common bean grains have an important contribution of phenolic compounds and minerals to our diet.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L.; Phenolic compounds; Minerals; Bioaccessibility

4.1 Introdução

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é importante na dieta do ser humano, pois é considerado uma das principais fontes de nutrientes em muitas regiões do mundo. O Brasil é considerado um dos maiores produtores deste alimento, assim como um dos maiores consumidores (Da silva & Wander, 2013). Os grãos de feijão proporcionam carboidratos, proteínas, fibras e minerais e devido à variação do tegumento são reconhecidos por apresentar compostos bioativos com benefícios para a saúde. Tais benefícios estão associados à redução do impacto

das espécies reativas de oxigênio, inibindo mecanismos oxidativos que levam a doenças degenerativas (Soriano, Pavan, & Pastore, 2015).

Ao ser um alimento que apresenta uma mistura complexa de nutrientes, os grãos de feijão comum precisam do cozimento para reduzir fatores antinutricionais, melhorar palatabilidade, melhorar a digestibilidade e absorção dos nutrientes (Gálvez Ranilla, Genovese, & Lajolo, 2009). A absorção dos nutrientes depende do conteúdo e a forma química do nutriente, também das interações entre nutrientes e os fatores fisiológicos do indivíduo (Galán, González, & Drago, 2013). Por conseguinte, para estimar a absorção de algum nutriente na dieta não é suficiente determinar o teor total, é necessário saber quanto realmente é aproveitado pelo organismo.

O trato gastrointestinal pode ser considerado como um extrator eficiente, onde parte dos nutrientes contidos nas matrizes de alimentos são extraídos e estão disponíveis para absorção no intestino (Tagliazucchi, Verzelloni, Bertolini, & Conte, 2010). Os estudos *in vivo* do processo gastrointestinal são complicados, com custos altos e limitações éticas. Embora, estudos em animais tem um custo menor do que os estudos com seres humanos, eles são limitados pelas incertezas quanto às diferenças no metabolismo entre animais e seres humanos (Cámara, Amaro, Barberá, & Clemente, 2005). Diante disso, como alternativa há métodos *in vitro* para estimar a disponibilidade dos nutrientes, sendo muito mais simples, rápidos, baratos, seguros e não apresentam restrições éticas. Sendo o método *in vitro* proposto por Miller et al. (1981) um dos mais usados, o qual foi desenvolvido inicialmente para determinar a bioacessibilidade de minerais, permitindo o estudo do componente alimentar durante as etapas gástrica e intestinal. Atualmente o método de Miller et al. (1981) vem sendo adaptado para proteínas e compostos fenólicos (Bouayed, Hoffmann, & Bohn, 2011; Gil-izquierdo, Gil, Ferreres, & Toma, 2001). Além disso, a avaliação da bioacessibilidade por modelos *in vitro* mostram uma boa correlação com os resultados de estudos em humanos e animais (Fernández-García, Carvajal-Lérída, & Pérez-Gálvez, 2009; Biehler & Bohn, 2010).

O interesse sobre a bioacessibilidade de nutrientes em distintas matrizes alimentares vem aumentado nos últimos anos, mas estudos sobre essa abordagem em grãos de feijão comum ainda são escassos. Os teores de bioacessibilidade fornecem uma boa base para o estabelecimento de tendências, comparações e determinação de efeitos causados por diferentes fatores na biodisponibilidade (Azenha & Vasconcelos, 2000; Cámara et al., 2005). Diante disso, o presente estudo teve como objetivo determinar a porcentagem bioacessível de compostos fenólicos e minerais em quatro cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L) previamente cozidos, mediante digestão gastrointestinal utilizando diálise *in vitro*. Os teores iniciais dos compostos fenólicos e minerais nos grãos de feijão cozido foram definidos nos capítulos 2 e 3.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de pureza analítica ou superior. Foi utilizada água ultrapura obtida por um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA), com condutividade de 18 MΩ. Argônio (pureza superior a 99,996%) (White Martins, Sertãozinho, Brasil). Foram utilizadas também ácido nítrico 20% (v/v) (Merck, Darmstadt, Alemanha) e peróxido de hidrogênio (Merck, Darmstadt, Alemanha). Além disso, foram utilizados metanol, etanol, ácido clorídrico, ácido acético glacial (Tedia, Fairfield, EUA); Folin-ciocalteu e ácido fórmico (Dinâmica Química, São Paulo, Brasil); carbonato de sódio, cloreto de alumínio, bicarbonato de sódio, hidróxido de potássio e hidróxido de sódio (Synth, São Paulo, Brasil). Foram adquiridos da Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA: Nitrito de sódio, Pepsina

(P-7000), Pancreatina (P-1750), Bile porcina (B-8636), os padrões de Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), ácido vanílico, ácido clorogénico, ácido sinápico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido p-cumárico e ácido gálico, catequina, quercetina, epicatequina e rutina.

4.2.2. Amostras

Para a condução do experimento foram utilizados os grãos de feijão cozidos descritos no item 2.2.2 dos quatro cultivares de *Phaseolus vulgaris* L., BRS Esteio (preto), BRS Estilo (Carioca), BRS Pitanga (vermelho) e BRS Bolinha Amarelinho (amarelo) que foram fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

4.2.3. Digestão gastrointestinal (DGI) *in vitro*

Foi utilizado o protocolo descrito originalmente por Miller et al. (1981) e modificado por Wolfgor et al. (2002) com algumas modificações, que descreve a simulação da DGI *in vitro*, através das fases gástrica e intestinal. O método descreve a digestão de alíquotas de alimentos homogeneizados ajustados a pH 2 e misturados com pepsina num banho de água com agitação de 37 ° C durante 2 h. Após desse período foi realizada uma segunda digestão com pancreatina-bile com pH intestinal (pH 7,5) usando uma membrana de diálise contendo um sistema base para elevar gradualmente o pH e permitir a difusão dos analitos de interesse. O método permite determinar a quantidade de compostos fenólicos e minerais livres potencialmente disponíveis para posterior absorção. Para monitorar a liberação dos compostos bioativos (compostos fenólicos e minerais) a partir das amostras de feijão comum cozidos, foram analisadas as alíquotas da fase gástrica, fase intestinal (dialisado e não dialisado). A partir dos resultados foram calculadas as porcentagens da bioacessibilidade.

Fase gástrica

Para a realização do experimento, pesou-se 15 gramas de cada amostra de feijão cozido homogeneizado em Erlenmeyer de 250 mL. Em seguida foi adicionada 50 mL de água ultrapura até obter uma mistura homogênea. O pH da mistura (Amostra + água) foi ajustado até atingir o pH 2 com a adição de HCl 6 mol.L⁻¹. Logo foi adicionado 1,6 mL de solução de pepsina recentemente preparada (16 g de Pepsina (P-7000) em 100 mL de 0,1 mol.L⁻¹ de HCl). A mistura foi homogeneizada e coberta com parafilme para reduzir a perda do CO₂ e incubada a 37 °C em banho com agitação a 100 rpm durante 2h. No final da digestão com pepsina, o resíduo gástrico foi esfriado num banho de gelo. Em seguida, os conteúdos foram divididos em duplicata, um destinado a titulação e outro a fase intestinal com diálise.

A titulação foi feita para ajustar o pH antes da realização da fase intestinal com diálise, para isso pesou-se 20 g do resíduo gástrico em béquer e misturada com 5 mL da solução bile-pancreatina (0,5 g de Pancreatina (P-1750) e 2,5 g de Bile porcina (B-8631) diluído em 100 mL de 0,1 mol.L⁻¹ de NaHCO₃ recém preparado) e titulado com KOH 0,5 mol.L⁻¹ até atingir um pH 7,5.

Fase intestinal com diálise

As membranas de diálise (marca Inlab 25 x 16 mm) foram devidamente higienizadas com água deionizada fervente por 10 minutos. As membranas de diálise foram preenchidas sem bolhas com 25 ml de solução de NaHCO₃

0,1 mol.L⁻¹ com água. A concentração de NaHCO₃ nas membranas de diálise correspondia à concentração de KOH consumida (mEq) para neutralizar as amostras gástricas. Cada membrana foi colocada nos béqueres com 20 g do resíduo gástrico destinado a fase intestinal com diálise. As amostras foram incubadas 37 °C em banho com agitação a 100 rpm até o pH atingir 5,0 refletindo a transição da fase gástrica para a fase intestinal. Em seguida, adicionou-se 5 mL da solução bile-pancreatina ao resíduo e continuou com as mesmas condições de incubação até o pH atingir 7,5 (cerca de 2 h). No final do período de incubação, o conteúdo de dentro da membrana foi retirado e enxaguado cuidadosamente com água ultrapura e transferido a tubos falcon 50 mL e o volume foi completado a 25 mL. As alíquotas da fase intestinal (dialisado e não dialisado) foram centrifugadas durante 30 min 3248 g (5000 RPM) e os sobrenadantes foram colocados em tubos falcon 50 mL, identificados e armazenados a -26°C até sua posterior análise.

Cálculo da Bioacessibilidade

A bioacessibilidade dos compostos bioativos foi expressa em porcentagem do nutriente dialisado em relação à quantidade inicial (feijão cozido) de cada amostra: Bioacessibilidade (%) = [D / I] * 100; Onde D = teor de composto dialisado (µg.g⁻¹ MS ou mg.g⁻¹ MS), I = teor do nutriente inicial (µg.g⁻¹ MS ou mg.g⁻¹ MS).

4.2.4. Determinação de compostos fenólicos e flavonoides

Extração dos compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos para as amostras procedentes da digestão gastrointestinal, foi realizada com a liofilização de 10 mL de cada uma das etapas (Digerido gástrico, dialisado e não dialisado). Aos resíduos da liofilização foram adicionados 10 mL da mistura água: metanol: ácido acético (54:45:1 v/v/v), estas proporções foram ajustadas de acordo a testes preliminares. Os extratos foram usados para as determinações de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, assim como ácidos fenólicos e flavonoides por CLAE. Foram preparados três extratos independentes para cada tipo de cultivar de feijão e tratamento utilizado. Todas as determinações subsequentes foram realizadas em triplicata.

Compostos fenólicos totais (FT)

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi conduzido pela metodologia descrita por Vernon L Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós (1999) com algumas modificações. Os extratos (200 µL) foram colocados em tubos de ensaio, 1500 µL de água destilada e 100 µL de reagente Folin-Ciocalteu foram adicionados aos extratos, foram homogeneizados em agitador automático e repousaram durante 5 minutos. Passado o tempo estabelecido, 200 µL de NaCO₃ 20% foram adicionados em cada um dos tubos, a solução foi agitada e permaneceu no escuro por 30 minutos, cumprido o prazo, as leituras das absorbâncias foram medidas a 765 nm no espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Japão). Foi preparado um branco, com o mesmo procedimento dos extratos. O ácido gálico foi utilizado como padrão, e os resultados foram expressos em mg equivalentes a ácido gálico (EAG).g⁻¹ de matéria seca (MS).

Flavonoides totais (FVT)

A análise dos flavonoides totais foi realizada segundo Xu & Chang (2007). O teor de flavonoides totais foi determinado usando 0,25mL dos extratos. Todos os extratos foram misturados com 1,25 mL de água destilada em um tubo de ensaio, seguido de 75 µL de NaNO₂ 5% e homogeneizado no agitador automático. Após 6 minutos, 150 µL de AlCl₃.6H₂O a 10% foram adicionados. As misturas permaneceram em repouso durante 5 minutos e 0,5 mL de NaOH 1M foram agregados. A absorbância foi medida imediatamente a 510 nm no espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Japão). O branco seguiu o mesmo procedimento dos extratos. Utilizou-se (+) – Catequina como padrão, os resultados foram expressos em mg equivalentes catequina por g MS.

Ácidos fenólicos e Flavonoides por CLAE

Preparação dos ácidos fenólicos e flavonoides. 9 mL dos extratos foram concentrados com nitrogênio gasoso até um terço de seu volume para ter bom sinal no cromatograma. Os extratos concentrados foram filtrados utilizando filtro de seringa 0,2 µm e o conteúdo de ácidos fenólicos e flavonoides analisado por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência).

Análise dos ácidos fenólicos e flavonoides. A análise de ácidos fenólicos e flavonoides foi realizada segundo Xu & Chang (2009) com algumas modificações, descritas a seguir. Um sistema cromatográfico modelo Shimadzu 20A foi utilizado, equipado com sistema de bombeamento modelo LC-20AT, injetor automático de amostras modelo SIL-20AHT, forno de coluna modelo CTO-20A, comunicador modelo CBM-20A e detector UV modelo SPD-20A. foi usada uma coluna Zorbax Stablebond Analytical ODS-C18 (Agilent Tecnologia, Rising Sun, MD), 4,6 x 250 mm, 5 µm, mantida a 40 ° C e o fluxo igual a 0,7 mL.minuto⁻¹. As fases móveis utilizadas foram: 1% (v/v) ácido fórmico em água (Solvente A) e 100% de metanol (Solvente B), em gradiente sendo o solvente A 100 % – 40 % de 0 a 45 min, 40 % – 0 % em 10 min, e 0 % - 100 % em 5 min, mais 10 min de 100 % do solvente A. Os comprimentos de ondas utilizados foram 280 nm e 370 nm.

Comparação e quantificação dos ácidos fenólicos e flavonoides. Os ácidos fenólicos e flavonoides presentes nos extratos dos grãos de feijão comum crus e cozidos por CLAE, foi preparado uma solução mãe individual de 1mg.mL⁻¹ dos padrões de ácidos fenólicos (ácido vanílico, ácido clorogénico, ácido sinápico, ácido trans-ferúlico, ácido p-cumárico e ácido gálico) e flavonoides (catequina, epicatequina e rutina) e diluídas até 100 µg.mL⁻¹. As soluções diluídas, assim como, os extratos concentrados foram injetados (80 µL) separadamente e em triplicata, nas condições descritas acima. Para a comparação, identificação e quantificação dos ácidos fenólicos e flavonoides presentes nos extratos foi realizada uma comparação dos picos formados pelas áreas dos padrões assim como seus respectivos tempos de retenção. Além disso, para confirmar a identidades dos picos, foi feita uma mistura de todos os padrões juntamente com a amostra para o descarte de possíveis interferentes. Os resultados foram reportados em µg.mg⁻¹ de MS.

4.2.5. Determinação de minerais

A determinação do teor de minerais (Ca, Mg, K, P, Cu, Zn, Fe, Mn), foi realizada utilizando espectrometria de emissão ótica com plasma induzido (ICPOES) (iCAP7400 Duo, Thermo Scientific, USA) com todas as condições operacionais descritas previamente no item 3.2.4.

4.2.6. Análise estatística

Foi utilizado um delineamento completamente aleatorizado com arranjo fatorial 4 x 4 onde as variáveis exploratórias foram 4 cultivares de feijão comum: BRS Esteio (preto), BRS Estilo (Carioca), BRS Pitanga (vermelho) e BRS Bolinha Amarelinho (amarelo), e 4 etapas (cozido, digerido gástrico, dialisado e não dialisado). Foram realizadas 3 repetições totalizando 48 unidades experimentais. As variáveis resposta: compostos fenólicos totais, flavonoides totais, ácidos fenólicos e flavonoides assim como os minerais Ca, Mg, K, P, Cu, Zn, Fe, Mn foram avaliados por análise de variância (ANOVA). Considerando como causas de variação os etapa, cultivares e interação. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey, utilizando o pacote ExpDes.pt (Alves Nogueira, Batista Ferreira, & Cavalcanti Piscitelli, 2013) no ambiente R versão 3.3.1 (R CORE TEAM, 2016). As diferenças foram consideradas significativas a 5% de significância.

4.3. Resultados e discussões

As porcentagens da bioacessibilidade dos compostos fenólicos totais (FT) estão apresentados na Tabela 4.1. Os cultivares BRS Pitanga e BRS Esteio foram os que apresentaram a maior quantidade de compostos fenólicos totais após do cozimento. Pode-se observar que o processo gastrointestinal pode produzir diminuições significativas de compostos fenólicos totais ($P < 0,05$) em todos os cultivares desde o processo da digestão gástrica até o dialisado. Os resultados mostram que somente entre o 3,08 e 6,90 % do conteúdo dos compostos fenólicos encontrados inicialmente nos grãos cozidos foram considerados bioacessíveis. Observou-se que a diferença do conteúdo inicial (cozido), onde os cultivares BRS Pitanga e BRS Esteio foram os que apresentaram a maior quantidade de compostos fenólicos, a maior porcentagem de compostos fenólicos bioacessíveis foi observado no cultivar BRS Bolinha. Os resultados obtidos nesse estudo indicam que possivelmente os teores dos bioativos encontrados inicialmente nem sempre correspondem a maiores teores de bioacessibilidade. Os resultados observados por Soriano Sancho, Pavan, & Pastore (2015), no estudo do efeito da digestão *in vitro* em compostos bioativos presentes em tegumentos de feijão comum pretos e vermelhos, mostraram reduções entre 52 e 75 % do conteúdo de compostos fenólicos. A Tabela 4.2 apresenta as porcentagens da bioacessibilidade de flavonoides totais (FVT) nos grãos de feijão cozido através de DGI *in vitro*. Pode-se observar que o processo gastrointestinal também produz diminuições significativas de flavonoides totais ($P < 0,05$). No caso dos flavonoides totais as porcentagens de bioacessibilidade ficaram entre o 5,56 e 6,73 % do conteúdo dos flavonoides encontrados inicialmente nos grãos cozidos. Esta redução em ambos casos, pode ser explicada como consequência da instabilidade dos compostos fenólicos quando são expostos a trocas de pH, como ocorre entre a fase gástrica e intestinal (Friedman & Jürgens, 2000; Soriano Sancho et al., 2015).

O estudo de Clifford (2004) indicou que somente entre 5 e 10 % do total dos compostos fenólicos podem atingir o intestino delgado. (Azenha & Vasconcelos, 2000; Cámara et al., 2005). Diante disso, o estudo Saura-Calixto, Serrano, & Goñi (2007) da “Ingestão e bioacessibilidade de compostos fenólicos totais em toda uma dieta” (dieta mediterrânea) indicaram a ingestão diária média de compostos fenólicos na dieta espanhola foi estimada entre 2590 e 3016 mg.pessoa⁻¹.dia⁻¹. Os autores estimaram que cerca de 48% dos compostos fenólicos foram bioacessíveis no intestino delgado, enquanto que o 42% tornam-se bioacessíveis no intestino grosso. Também indicaram que a quantidade de compostos fenólicos não extraídas por solvente foi quase o dobro dos compostos fenólicos extraídos. Jenner, Rafter, & Halliwell (2005) agregaram que existem limitações das técnicas de extração de compostos fenólicos, devido a alguns fenóis especialmente compostos fenólicos com alto grau de polimerização como também compostos

fenólicos associados a compostos de alto peso molecular (compostos fenólicos não extraíveis) podem não ser extraídos com os métodos de extração usualmente empregados. Também mencionam que os compostos fenólicos não extraídos podem chegar a serem bioacessíveis no intestino humano uma vez liberados da matriz alimentar pela ação de enzimas digestivas no intestino delgado e a degradação bacteriana no intestino grosso.

Tabela 4.1. Bioacessibilidade de compostos fenólicos totais (FT) em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

Cultivar de Feijão	FT (mg EAG/g MS)					Bioacessibilidade (%)
	Cozido (Inicial)	Digerido gástrico	Não dialisado	Dialisado		
BRS Pitanga	2,27 ± 0,08 ^{aA}	0,15 ± 0,01 ^{bA}	0,11 ± 0,01 ^{bA}	0,10 ± 0,01 ^{bA}		4,41
BRS Esteio	2,27 ± 0,11 ^{aA}	0,16 ± 0,01 ^{bA}	0,10 ± 0,02 ^{bcA}	0,07 ± 0,02 ^{cA}		3,08
BRS Estilo	2,02 ± 0,09 ^{aB}	0,11 ± 0,04 ^{bA}	0,08 ± 0,01 ^{bA}	0,07 ± 0,01 ^{bA}		3,47
BRS Bolinha A.	1,45 ± 0,11 ^{aC}	0,15 ± 0,01 ^{bA}	0,11 ± 0,00 ^{bA}	0,10 ± 0,02 ^{bA}		6,90

Média ± Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre as etapas (P<0,05) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela 4.2. Bioacessibilidade de flavonoides totais (FVT) em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

Cultivar de Feijão	FVT (mg Catequina Eq/ g MS)					Bioacessibilidade (%)
	Cozido (Inicial)	Digerido gástrico	Não dialisado	Dialisado		
BRS Pitanga	1,28 ± 0,03 ^{aA}	0,18 ± 0,01 ^{bAB}	0,19 ± 0,01 ^{bA}	0,08 ± 0,01 ^{cA}		6,25
BRS Esteio	1,04 ± 0,02 ^{aB}	0,14 ± 0,01 ^{bcB}	0,19 ± 0,03 ^{bA}	0,07 ± 0,01 ^{cA}		6,73
BRS Estilo	0,92 ± 0,07 ^{aC}	0,11 ± 0,01 ^{bb}	0,14 ± 0,01 ^{bA}	0,06 ± 0,01 ^{bA}		6,52
BRS Bolinha A.	0,72 ± 0,04 ^{aD}	0,24 ± 0,02 ^{bA}	0,14 ± 0,01 ^{cA}	0,04 ± 0,00 ^{dA}		5,56

Média ± Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma linha são significativamente diferentes entre as etapas (P<0,05) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Akillioglu & Karakaya (2010) indicaram que os ligeiros aumentos que podem se observar entre a etapa gástrica e intestinal pode ser devido à liberação de compostos bioativos da matriz alimentar pela ação de enzimas da digestão. Isto pode explicar o que aconteceu no caso do digerido gástrico e no não dialisado. Gil-izquierdo, Zafrilla, & Tomás-barberán (2002) indicaram que os resultados obtidos por dialise *in vitro* devem ser vistos com cuidado, pois a concentração de açúcares e sais dos alimentos podem afetar a difusão de fenólicos através desta membrana. Os teores de bioacessibilidade fornecem uma boa base para o estabelecimento de tendências, comparações e determinação de efeitos causados por diferentes fatores na biodisponibilidade. Cabe lembrar que a bioacessibilidade foi definida como a quantidade de um componente do alimento que está presente no intestino humano, após de sua liberação a partir da matriz do alimento, e pode ser capaz de atravessar a barreira intestinal (Shim, Ferruzzi, Kim, Janle, & Santerre, 2009). Por essa razão, os compostos fenólicos que podem passar através da barreira intestinal têm alta probabilidade de serem absorvidos através da mucosa intestinal e, portanto, podem ser metabolizados (Akillioglu & Karakaya, 2010).

As porcentagens da bioacessibilidade dos ácidos fenólicos: ácido vanílico, ácido gálico e ácido clorogênico estão apresentadas na Tabela 4.3. Da mesma forma a Tabela 4.4 apresenta os teores de bioacessibilidade dos ácidos fenólicos: ácido sinápico, ácido trans-ferúlico e p-cumárico respectivamente, encontrados em quatro cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cozidos.

Tabela 4.3. Bioacessibilidade de ácidos fenólicos: vanílico, gálico e clorogênico ($\mu\text{g.mg}^{-1}$ MS) em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

	Ácido Vanílico	Ácido gálico	Ácido clorogênico
BRS Bolinha A.			
Cozido (Inicial)	8,85 $\pm$ 0,39 ^D	36,72 $\pm$ 0,79 ^{aA}	19,51 $\pm$ 0,65 ^A
Digerido gástrico	ND	7,72 $\pm$ 0,19 ^{bA}	ND
Não dialisado	ND	6,71 $\pm$ 0,15 ^{bB}	ND
Dialisado	ND	6,87 $\pm$ 0,43 ^{bA}	ND
Bioacessibilidade (%)	NC	18,71	NC
BRS Esteio			
Cozido (Inicial)	24,70 $\pm$ 0,30 ^A	ND	ND
Digerido gástrico	ND	ND	ND
Não dialisado	ND	ND	ND
Dialisado	ND	ND	ND
Bioacessibilidade (%)	NC	NC	NC
BRS Pitanga			
Cozido (Inicial)	10,12 $\pm$ 0,56 ^C	33,20 $\pm$ 0,08 ^{aB}	19,99 $\pm$ 0,69 ^A
Digerido gástrico	ND	5,11 $\pm$ 0,49 ^{cB}	ND
Não dialisado	ND	8,03 $\pm$ 0,19 ^{bA}	ND
Dialisado	ND	6,99 $\pm$ 0,50 ^{bA}	ND
Bioacessibilidade (%)	NC	21,04	NC
BRS Estilo			
Cozido (Inicial)	12,66 $\pm$ 0,86 ^B	31,73 $\pm$ 1,72 ^{aC}	ND
Digerido gástrico	ND	4,57 $\pm$ 0,44 ^{bB}	ND
Não dialisado	ND	5,65 $\pm$ 0,28 ^{bB}	ND
Dialisado	ND	5,54 $\pm$ 0,29 ^{bB}	ND
Bioacessibilidade (%)	NC	17,46	NC

Média, $\pm$ Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre as etapas ($P<0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P<0,05$) pelo teste de Tukey. ND: Não detectado, NC: Não calculado.

Como pode-se observar grande parte dos ácidos fenólicos encontrado nos grãos cozidos (inicial), como são ácido vanílico, ácido clorogênico, ácido sinápico e ácido trans-ferúlico não foram possíveis serem detectadas após do processo de DGI e, por conseguinte sua bioacessibilidade não foi determinada. Do mesmo modo, Laparra, Glahn, & Miller (2008) observaram que nem todos os compostos fenólicos são igualmente liberados dos feijões durante a digestão gastrointestinal.

Mesmo assim, foi possível determinar quantidades de ácido p-cumárico com um pouco mais do 10 % somente nos grãos de feijão do cultivar BRS Estilo (carioca). Também pode-se observar que o processo gastrointestinal produz reduções significativas ($P<0,05$) no processo da digestão gástrica até o dialisado. Além disso, cabe destacar ao ácido gálico encontrado nos cultivares BRS Estilo, BRS Pitanga e BRS Bolinha A. o qual que foi o ácido fenólico mais presente e com porcentagens de bioacessibilidade entre 17,46 – 21,04 % encontrado nos cultivares analisados (Tabela 4.3).

Tabela 4.4. Bioacessibilidade de ácidos fenólicos: sinápico, trans-ferúlico e p-cumárico ($\mu\text{g.mg}^{-1}$ MS) em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

	Ácido sinápico	Ácido trans-ferúlico	Ácido p-cumárico
BRS Bolinha A.			
Cozido (Inicial)	ND	ND	ND
Digerido gástrico	ND	ND	ND
Não dialisado	ND	ND	ND
Dialisado	ND	ND	ND
Bioacessibilidade (%)	NC	NC	NC
BRS Esteio			
Cozido (Inicial)	35,80 $\pm$ 1,03	1,45 $\pm$ 0,06	ND
Digerido gástrico	ND	ND	ND
Não dialisado	ND	ND	ND
Dialisado	ND	ND	ND
Bioacessibilidade (%)	NC	NC	NC
BRS Pitanga			
Cozido (Inicial)	ND	ND	ND
Digerido gástrico	ND	ND	ND
Não dialisado	ND	ND	ND
Dialisado	ND	ND	ND
Bioacessibilidade (%)	NC	NC	NC
BRS Estilo			
Cozido (Inicial)	ND	ND	9,69 $\pm$ 0,75 ^a
Digerido gástrico	ND	ND	ND
Não dialisado	ND	ND	4,24 $\pm$ 0,18 ^b
Dialisado	ND	ND	1,02 $\pm$ 0,05 ^c
Bioacessibilidade (%)	NC	NC	10,49

Média $\pm$ Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre as etapas ($P<0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P<0,05$) pelo teste de Tukey. ND: Não detectado, NC: Não calculado.

As porcentagens da bioacessibilidade dos flavonoides: catequina, epicatequina e rutina estão apresentadas na Tabela 4.5. Os resultados mostram as altas porcentagens de bioacessibilidade de catequina e epicatequina na maioria dos cultivares de feijão avaliado e não menos importante a porcentagem de rutina encontrada no BRS Pitanga. Pode-se observar que nas etapas gástrica e intestinal (dialisado e não dialisado) as reduções dos flavonoides foram significativamente ($P<0,05$) em alguns cultivares. Da mesma forma, os teores de catequina no dialisado foram maiores aos não dialisados, mas as diferenças não foram consideradas significativas ($P>0,05$). Apesar disso, esse pequeno aumento pode indicar que houve uma maior presença de catequina livre para ser absorvida. Os cultivares mostraram que apesar da catequina apresentar os maiores teores entre todos os compostos fenólicos determinados após do cozimento, apenas entre 6,18 – 9,58 % foram bioacessíveis.

Tabela 4.5. Bioacessibilidade de flavonoides ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ MS) em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

	Catequina	Epicatequina	Rutina
BRS Bolinha A.			
Cozido (Inicial)	163,89 $\pm$ 2,87 ^{aD}	ND	ND
Digerido gástrico	ND	ND	ND
Não dialisado	12,30 $\pm$ 0,64 ^{bB}	ND	ND
Dialisado	15,43 $\pm$ 0,14 ^{bB}	ND	ND
Bioacessibilidade (%)	9,41	NC	NC
BRS Esteio			
Cozido (Inicial)	475,16 $\pm$ 24,86 ^{aA}	59,16 $\pm$ 1,73 ^{aA}	6,31 $\pm$ 0,35 ^{aB}
Digerido gástrico	123,59 $\pm$ 10,99 ^{bA}	38,27 $\pm$ 0,50 ^{bA}	4,08 $\pm$ 0,42 ^{bB}
Não dialisado	54,02 $\pm$ 3,31 ^{cA}	28,38 $\pm$ 2,09 ^{cA}	ND
Dialisado	45,54 $\pm$ 1,56 ^{cA}	11,85 $\pm$ 1,0 ^{dA}	ND
Bioacessibilidade (%)	9,58	20,02	NC
BRS Pitanga			
Cozido (Inicial)	316,91 $\pm$ 3,06 ^{aC}	6,04 $\pm$ 0,18 ^{aB}	42,82 $\pm$ 1,79 ^{aA}
Digerido gástrico	25,08 $\pm$ 1,40 ^{bC}	ND	11,76 $\pm$ 1,21 ^{bA}
Não dialisado	16,93 $\pm$ 1,10 ^{bB}	ND	2,26 $\pm$ 0,19 ^c
Dialisado	19,60 $\pm$ 1,45 ^{bB}	2,23 $\pm$ 0,17 ^{bC}	2,27 $\pm$ 0,54 ^c
Bioacessibilidade (%)	6,18	36,95	5,31
BRS Estilo			
Cozido (Inicial)	398,05 $\pm$ 20,72 ^{aB}	7,72 $\pm$ 0,17 ^{aB}	ND
Digerido gástrico	97,18 $\pm$ 7,56 ^{bB}	16,07 $\pm$ 1,56 ^{bA}	ND
Não dialisado	25,58 $\pm$ 0,99 ^{cB}	9,26 $\pm$ 0,49 ^{bA}	ND
Dialisado	28,64 $\pm$ 1,50 ^{cAB}	6,52 $\pm$ 0,27 ^{bB}	ND
Bioacessibilidade (%)	7,19	84,46	NC

Média $\pm$ Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre as etapas ($P<0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P<0,05$) pelo teste de Tukey. ND: Não detectado, NC: Não calculado.

Por outro lado, os teores de epicatequina também diminuiram significativamente em todas as etapas, mas os teores encontrados no dialisado foram menores do que os encontrados no não dialisado, indicando que quantidades maiores de epicatequina não conseguem ser dialisadas da matriz alimentar. Entretanto Zhu et al. (2002) indicaram que existe a possibilidade de interconversão entre a epicatequina e catequina, diante disso pode ter ocorrido estas variações encontradas neste estudo. Embora os teores de epicatequina sejam menores aos reportados em outros compostos fenólicos foi quem apresentou a maior porcentagem de bioacessibilidade entre todos os compostos fenólicos reportados neste estudo ficando entre 20,02 – 84,46 % do conteúdo encontrado inicialmente. O comportamento da rutina após do processo da digestão DGI foi distinta em cada um dos cultivares avaliados. No cultivar BRS Esteio o conteúdo após da digestão gástrica não foi possível detectar. Caso contrário aconteceu com o cultivar BRS Pitanga, sendo que após do processo DGI foi possível encontrar 5,31% de bioacessibilidade de rutina. Visto isso, podemos indicar que nem todos os compostos fenólicos encontrados neste estudo após do cozimento foram capazes de ser liberados da mesma forma e tornar-se livres para serem absorvidos no intestino humano. Cabe mencionar que durante o processo ou DGI parte destes compostos devido à ação das enzimas e alterações do pH do trato gastrointestinal podem-se transformar em substâncias com estruturas totalmente diferentes (Bermúdez-Soto, Tomás-Barberán, & García-Conesa, 2007).

A seguir, a Tabela 4.6 mostra as porcentagens bioacessíveis de microminerais Cu, Zn, Fe e Mn encontrados nos cultivares de feijão comum cozidos através do processo de DGI. Pode-se observar que também entre as etapas gástrica e intestinal (dialisado e não dialisado) as diminuições nos teores dos microminerais foram significativas ($P < 0,05$) para todos os cultivares. Os resultados mostraram que a pesar de que os teores no dialisado foram significativamente baixos quando comparados aos teores iniciais, pode-se conseguir porcentagens de bioacessibilidade por cada micromineral em torno de: Cu 3,45 – 36,66 %; Zn 21,50 – 24,88%; Fe 0,18 – 2,84%; Mn 3,79 – 8,68%. Cabe destacar que o cultivar BRS Estilo apresentou as maiores porcentagens de Cu e Zn, por outro lado, o cultivar BRS Bolinha A. apresentou as maiores porcentagens de Fe e Mn bioacessíveis.

Tabela 4.6. Bioacessibilidade de microminerais ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS) em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

	Cu	Zn	Fe	Mn
BRS Esteio				
Cozido (Inicial)	8,93 $\pm$ 0,49 ^{aB}	35,64 $\pm$ 1,34 ^{aA}	70,56 $\pm$ 4,75 ^{aB}	17,37 $\pm$ 0,33 ^{aB}
Digerido gástrico	3,99 $\pm$ 0,32 ^{bA}	16,89 $\pm$ 0,86 ^{bAB}	20,29 $\pm$ 0,68 ^{bC}	8,06 $\pm$ 0,25 ^{bB}
Não dialisado	1,78 $\pm$ 0,10 ^{cA}	9,41 $\pm$ 0,40 ^{cA}	12,84 $\pm$ 0,60 ^{cB}	4,42 $\pm$ 0,04 ^{cB}
Dialisado	1,21 $\pm$ 0,03 ^{dB}	8,03 $\pm$ 0,01 ^{cA}	0,67 $\pm$ 0,05 ^{dA}	1,15 $\pm$ 0,08 ^{dA}
Bioacessibilidade (%)	13,60	22,53	0,94	6,61
BRS Pitanga				
Cozido (Inicial)	9,58 $\pm$ 0,23 ^{aA}	33,41 $\pm$ 0,65 ^{aBC}	57,46 $\pm$ 0,14 ^{aD}	24,50 $\pm$ 0,89 ^{aA}
Digerido gástrico	4,28 $\pm$ 0,37 ^{bA}	18,04 $\pm$ 1,37 ^{bA}	29,92 $\pm$ 2,50 ^{bB}	12,79 $\pm$ 1,03 ^{bA}
Não dialisado	2,04 $\pm$ 0,20 ^{cA}	9,27 $\pm$ 0,74 ^{cA}	13,76 $\pm$ 0,91 ^{cB}	5,77 $\pm$ 0,11 ^{cA}
Dialisado	0,93 $\pm$ 0,07 ^{dB}	7,18 $\pm$ 0,42 ^{dA}	0,42 $\pm$ 0,02 ^{dA}	1,39 $\pm$ 0,03 ^{dA}
Bioacessibilidade (%)	9,71	21,50	0,73	5,67
BRS Estilo				
Cozido (Inicial)	9,39 $\pm$ 0,34 ^{aB}	34,32 $\pm$ 1,22 ^{aAB}	65,80 $\pm$ 1,12 ^{aC}	15,37 $\pm$ 0,35 ^{aC}
Digerido gástrico	3,77 $\pm$ 0,28 ^{bA}	16,43 $\pm$ 0,38 ^{bAB}	36,41 $\pm$ 1,55 ^{bA}	7,54 $\pm$ 0,62 ^{bBC}
Não dialisado	1,93 $\pm$ 0,11 ^{bA}	8,95 $\pm$ 0,48 ^{cA}	6,21 $\pm$ 0,11 ^{cC}	4,43 $\pm$ 0,14 ^{cB}
Dialisado	3,44 $\pm$ 0,14 ^{cA}	8,54 $\pm$ 0,67 ^{cA}	0,12 $\pm$ 0,01 ^{dA}	0,58 $\pm$ 0,03 ^{dA}
Bioacessibilidade (%)	36,66	24,88	0,18	3,79
BRS Bolinha A.				
Cozido (Inicial)	6,76 $\pm$ 0,20 ^{aC}	32,31 $\pm$ 0,55 ^{aC}	74,90 $\pm$ 1,97 ^{aA}	15,48 $\pm$ 0,40 ^{aC}
Digerido gástrico	2,42 $\pm$ 0,22 ^{bB}	15,27 $\pm$ 0,14 ^{bB}	33,32 $\pm$ 0,50 ^{bAB}	6,94 $\pm$ 0,24 ^{bC}
Não dialisado	1,66 $\pm$ 0,14 ^{cA}	8,00 $\pm$ 0,31 ^{cA}	23,03 $\pm$ 1,22 ^{cA}	3,22 $\pm$ 0,15 ^{cC}
Dialisado	0,23 $\pm$ 0,01 ^{dC}	7,24 $\pm$ 0,41 ^{cA}	2,13 $\pm$ 0,08 ^{dA}	1,34 $\pm$ 0,10 ^{dA}
Bioacessibilidade (%)	3,45	22,42	2,84	8,68

Média $\pm$ Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre as etapas ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. ND: Não detectado

Galán et al. (2013) observaram que a bioacessibilidade de Fe e Zn era menor em alimentos cozidos quando comparado a alimentos crus. Shimelis & Rakshit (2007) indicaram que “de um total “ (aumentar) somente entre 0,8–5,2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ do ferro na forma não heme é disponível em grãos de feijão. Da mesma forma, Laparra et al. (2008) observaram uma baixa biodisponibilidade de Fe de feijão comum em células Caco-2. Os autores indicaram que a bioacessibilidade de Fe em feijões coloridos ficou entre 1,5-2,7% por outro lado em grãos brancos a dialisabilidade ficou entre 12,1-18,8%. Similarmente Meyer, Rojas, Santanen, & Stoddard (2013) indicaram que em grãos de feijão comum cultivados na Nicarágua, o teor de ferro foi de 61-81 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, dos quais 3-4% era biodisponível e o teor de zinco foi de 21-25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, dos quais 10-12% eram biodisponíveis. Estes resultados obtidos também por dialise *in vitro* têm similaridade aos encontrados neste estudo para o ferro.

Por outro lado, a Tabela 4.7 apresenta as porcentagens bioacessíveis de microminerais Ca, Mg, K e P encontrados nos cultivares de feijão comum cozidos através do processo de digestão DGI. Também pode-se observar que entre as etapas gástrica e intestinal (dialisado e não dialisado) as diminuições dos macrominerais foram significativas ($P < 0,05$) em todos os cultivares. Os resultados mostraram que apesar de que os teores no dialisado foram significativamente baixos quando comparados aos teores iniciais, pode-se conseguir porcentagens de bioacessibilidade por cada micromineral em torno de: Ca 3,84 – 8,27 %; Mg 13,57 – 14,92%; K 18,75 – 25,63%; P 9,52 – 13,75%.

Tabela 4.7. Bioacessibilidade de macrominerais (mg.g^{-1} MS) em cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

	Ca	Mg	K	P
BRS Esteio				
Cozido (Inicial)	2,12 $\pm$ 0,15 ^{aA}	1,63 $\pm$ 0,07 ^{aBC}	14,39 $\pm$ 0,63 ^{aAB}	4,24 $\pm$ 0,15 ^{aA}
Digerido gástrico	0,58 $\pm$ 0,02 ^{bAB}	0,74 $\pm$ 0,03 ^{bB}	6,75 $\pm$ 0,18 ^{bA}	3,17 $\pm$ 0,10 ^{bA}
Não dialisado	0,38 $\pm$ 0,02 ^{cA}	0,40 $\pm$ 0,02 ^{cA}	4,30 $\pm$ 0,17 ^{cA}	1,25 $\pm$ 0,07 ^{cA}
Dialisado	0,11 $\pm$ 0,01 ^{dA}	0,24 $\pm$ 0,02 ^{dA}	3,54 $\pm$ 0,14 ^{dA}	0,58 $\pm$ 0,04 ^{dA}
Bioacessibilidade (%)	4,96	14,92	24,63	13,75
BRS Pitanga				
Cozido (Inicial)	1,60 $\pm$ 0,13 ^{aB}	1,82 $\pm$ 0,04 ^{aA}	14,04 $\pm$ 0,37 ^{aB}	3,70 $\pm$ 0,15 ^{aB}
Digerido gástrico	0,58 $\pm$ 0,00 ^{bAB}	0,84 $\pm$ 0,03 ^{bA}	6,31 $\pm$ 0,51 ^{bA}	2,25 $\pm$ 0,08 ^{bB}
Não dialisado	0,39 $\pm$ 0,06 ^{cA}	0,37 $\pm$ 0,03 ^{cA}	3,76 $\pm$ 0,08 ^{cA}	0,95 $\pm$ 0,07 ^{cB}
Dialisado	0,09 $\pm$ 0,00 ^{dA}	0,25 $\pm$ 0,01 ^{dA}	2,95 $\pm$ 0,19 ^{dAB}	0,37 $\pm$ 0,03 ^{dB}
Bioacessibilidade (%)	5,86	13,64	21,03	9,95
BRS Estilo				
Cozido (Inicial)	2,14 $\pm$ 0,14 ^{aA}	1,70 $\pm$ 0,04 ^{aB}	13,85 $\pm$ 0,24 ^{aB}	4,35 $\pm$ 0,14 ^{aA}
Digerido gástrico	0,71 $\pm$ 0,02 ^{bA}	0,79 $\pm$ 0,06 ^{bAB}	6,81 $\pm$ 0,46 ^{bA}	3,12 $\pm$ 0,15 ^{bA}
Não dialisado	0,31 $\pm$ 0,03 ^{cA}	0,39 $\pm$ 0,02 ^{cA}	3,90 $\pm$ 0,17 ^{cA}	0,91 $\pm$ 0,07 ^{cB}
Dialisado	0,08 $\pm$ 0,00 ^{dA}	0,24 $\pm$ 0,02 ^{dA}	3,55 $\pm$ 0,29 ^{cA}	0,41 $\pm$ 0,01 ^{dAB}
Bioacessibilidade (%)	3,84	13,93	25,63	9,52
BRS Bolinha A.				
Cozido (Inicial)	1,03 $\pm$ 0,06 ^{aC}	1,62 $\pm$ 0,05 ^{aC}	14,74 $\pm$ 0,21 ^{aA}	4,27 $\pm$ 0,06 ^{aA}
Digerido gástrico	0,44 $\pm$ 0,01 ^{bB}	0,71 $\pm$ 0,05 ^{bB}	6,22 $\pm$ 0,06 ^{bA}	2,21 $\pm$ 0,07 ^{bB}
Não dialisado	0,30 $\pm$ 0,01 ^{bA}	0,36 $\pm$ 0,01 ^{cA}	3,68 $\pm$ 0,05 ^{cA}	1,17 $\pm$ 0,01 ^{cA}
Dialisado	0,09 $\pm$ 0,00 ^{cA}	0,22 $\pm$ 0,02 ^{dA}	2,76 $\pm$ 0,23 ^{dB}	0,52 $\pm$ 0,04 ^{dAB}
Bioacessibilidade (%)	8,27	13,57	18,75	12,27

Média $\pm$ Desvio padrão, n= 3. Médias seguidas de letras diferentes em minúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre as etapas ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. Médias seguidas de letras diferentes em maiúsculo na mesma coluna são significativamente diferentes entre os cultivares de feijão ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. ND: Não detectado

Cabe destacar que as maiores porcentagens de bioacessibilidade foram encontrados no cultivar BRS Estilo para K, assim como o cultivar BRS Bolinha A. para Ca e o cultivar BRS Esteio apresentou as maiores porcentagens em Mg e P. Cámara et al. (2005) indicaram que componentes vegetais, tais como fibra e ácido fítico, afetam negativamente a dialisabilidade de certos minerais. A presença destes inibidores poderia explicar as percentagens relativamente baixas de diálise obtidas para a maioria dos macro e micro minerais.

4.4. Conclusões

A digestão gastrointestinal com dialise *in vitro* em grãos de feijão comum cozidos, mostrou porcentagens bioacessíveis de compostos fenólicos e minerais com possibilidade para sua absorção. Foi observado que o ácido gálico (ácido fenólico) e a epicatequina (flavonoide) possuem as maiores porcentagens de bioacessibilidade entre todos os compostos fenólicos reportados neste estudo. Por outro lado, os resultados confirmam que os macros e microminerais nos cultivares de feijão comum após da digestão gastrointestinal apresentam porcentagens bioacessíveis de Cu, Zn, Fe, Mn, Ca, Mg, K e P.

Referências

- Akillioglu, H. G., & Karakaya, S. (2010). Changes in total phenols, total flavonoids, and antioxidant activities of common beans and pinto beans after soaking, cooking, and in vitro digestion process. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 633–639. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0089-8>
- Alves Nogueira, D., Batista Ferreira, E., & Cavalcanti Piscitelli, P. (2013). ExpDes. pt: Experimental Designs package. R package (Português).
- Azenha, M. A. G. O., & Vasconcelos, M. T. S. D. (2000). Assessment of the Pb and Cu in vitro availability in wines by means of speciation procedures. *Food and Chemical Toxicology*, 38(10), 899–912. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(00\)00082-X](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(00)00082-X)
- Bermúdez-Soto, M. J., Tomás-Barberán, F. A., & García-Conesa, M. T. (2007). Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry*, 102(3), 865–874. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.025>
- Biehler, E., & Bohn, T. (2010). Methods for Assessing Aspects of Carotenoid Bioavailability. *Current Nutrition & Food Science*, 6, 44–69. Retrieved from http://publicationslist.org/data/torsten-bohn/ref-23/Biehler_CurrNutrFdSci_2009.pdf
- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1), 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.052>
- Cámara, F., Amaro, M. A., Barberá, R., & Clemente, G. (2005). Bioaccessibility of minerals in school meals: Comparison between dialysis and solubility methods. *Food Chemistry*, 92(3), 481–489. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.009>
- Carbonaro, M., Lombardi-boccia, G., & Carnovale, E. (1995). Influence of the method of protein extraction on the in-vitro evaluation of mineral dialysability from legumes. *Food Chemistry*, 53, 249–252.
- Clifford, M. N. (2004). Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implications for health. *Planta Medica*, 70(12), 1103–1114. <https://doi.org/10.1055/s-2004-835835>
- Da silva, O. F., & Wander, A. E. (2013). O Feijão-Comum no Brasil: Passado, Presente e Futuro. *Embrapa Arroz E Feijão*, 63.
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., & Pérez-Gálvez, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research*, 29(11), 751–760. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.09.016>
- Friedman, M., & Jürgens, H. S. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2101–2110. <https://doi.org/10.1021/jf990489j>
- Galán, M. G., González, R. J., & Drago, S. R. (2013). Perfil nutricional y dializabilidad de minerales de alimentos de interés social. *Revista Española de Nutrición Humana Y Dietética*, 17(1), 3–9. <https://doi.org/10.14306/renhyd.19.3.152>

- Gálvez Ranilla, L., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2009). Effect of Different Cooking Conditions on Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Some Selected Brazilian Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5734–5742. <https://doi.org/10.1021/jf900527v>
- Gil-izquierdo, A., Gil, M. I., Ferreres, F., & Tomás-barberán, F. A. (2001). In Vitro Availability of Flavonoids and Other Phenolics in Orange Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1035–1041. <https://doi.org/10.1021/jf000052>
- Gil-izquierdo, A., Zafrilla, P., & Tomás-barberán, F. A. (2002). An in vitro method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract. *European Food Research and Technology*, 214(2), 155–159. <https://doi.org/10.1007/s00217-001-0428-3>
- Jenner, A. M., Rafter, J., & Halliwell, B. (2005). Human fecal water content of phenolics: The extent of colonic exposure to aromatic compounds. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(6), 763–772. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.11.020>
- Laparra, J. M., Glahn, R. P., & Miller, D. D. (2008). Bioaccessibility of Phenols in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and Iron (Fe) Availability to Caco-2 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 10999–11005. <https://doi.org/10.1021/jf802537t>
- Meyer, M. R. M., Rojas, A., Santanen, A., & Stoddard, F. L. (2013). Content of zinc, iron and their absorption inhibitors in Nicaraguan common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 136, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.105>
- Miller, D. D., Schricker, B. R., Rasmussen, R. R., & Van Campen, D. (1981). An in vitro availability method for estimation from meals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34, 2248–2256.
- R CORE TEAM. (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101(2), 492–501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006>
- Shim, S., Ferruzzi, M., Kim, Y., Janle, E., & Santerre, C. (2009). Impact of phytochemical-rich foods on bioaccessibility of mercury from fish. *Food Chemistry*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608005906>
- Shimelis, E. A., & Rakshit, S. K. (2005). Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. *LWT - Food Science and Technology*, 38(4), 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.002>
- Shimelis, E. A., & Rakshit, S. K. (2007). Effect of processing on antinutrients and in vitro protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa. *Food Chemistry*, 103(1), 161–172. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.005>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299(1974), 152–178.
- Soriano, R. A. S., Pavan, V., & Pastore, G. M. (2015). Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Research International Journal*, 76, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.042>
- Soriano Sancho, R. A., Pavan, V., & Pastore, G. M. (2015). Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Research International*, 76, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.042>
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte, A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609012230>
- Wolfgor, R., Drago, S. R., Rodriguez, V., Pellegrino, N. R., & Valencia, M. E. (2002). In vitro measurement of available iron in fortified foods. *Food Research International*, 35, 85–90.
- Xu, B., & Chang, K.-C. S. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science*, 72(2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x>

- Xu, B., & Chang, S. K. C. (2009). Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4754–4764. <https://doi.org/10.1021/jf900695s>
- Zhu, Q. Y., Holt, R. R., Lazarus, S. A., Ensunsa, J. L., Hammerstone, J. F., Schmitz, H. H., & Keen, C. L. (2002). Stability of the flavan-3-ols epicatechin and catechin and related dimeric procyanidins derived from cocoa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1700–1705. <https://doi.org/10.1021/jf011228o>

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os quatro cultivares de feijão comum cultivados no Brasil mostraram que após do cozimento os ácidos fenólicos e flavonoides ligados à matriz alimentar diminuem significativamente por ação do tratamento térmico. A catequina foi o flavonoide com maior representação entre todos os compostos fenólicos avaliados neste estudo. Os resultados das capacidades antioxidantes medidas pelos métodos ABTS, DPPH e ORAC mostraram teores distintos devido à reação destes radicais com flavonoides totais assim como o ácido vanílico e a catequina. Os resultados indicaram que os feijões mesmo após o cozimento são uma fonte importante de compostos com capacidade antioxidante.

Os resultados do conteúdo mineral nos cultivares avaliados, mostraram aumento dos teores de alguns minerais deve-se possivelmente à incorporação de minerais na água de hidratação e/ou cocção. Também os resultados confirmaram que os cultivares de feijão avaliados apresentam altos conteúdos de Fe, Zn, Cu, K, Mg, Mn e P; como também uma boa fonte de Ca.

Os resultados do estudo das porcentagens de bioacessibilidade dos compostos fenólicos e minerais mostraram que o processo gastrointestinal produz diminuições significativas em todos os cultivares desde o processo da digestão gástrica até o dialisado. Sendo assim, que nem todos os teores de compostos fenólicos e minerais encontrados inicialmente são liberados da matriz alimentaria para sua absorção. Também foi observado que dependendo do cultivar avaliados as porcentagens bioacessíveis de ácidos fenólicos, flavonoides, assim como os macro e micro minerais são diferentes.

Diante disso, as conclusões obtidas apoiam a importância de estudos de bioacessibilidade em matrizes alimentarias como o feijão comum, para ter um panorama muito mais claro do processo que atravessam os distintos compostos de um alimento. Os resultados mostraram que os compostos presentes nos alimentos não sempre estão totalmente disponíveis para sua absorção pelo organismo e refletindo seus efeitos benéficos na saúde do consumidor. Também pode-se indicar que alguns compostos encontrados na etapa não dialisada (que não foi liberado da matriz alimentar) podem atingir o cólon e podendo ser posteriormente absorvidos pela ação da microflora intestinal. Ainda são necessários muitos mais estudos para correlacionar estes estudos *in vitro* com técnicas mais específicas como a utilização de células Caco2 assim como análises *in vivo* e clínicos