

Caracterização Físico-Química e Actividade Antioxidante de Novas Variedades de Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

Sílvia Marlene Esteves Afonso

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança
para obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança
Alimentar.*

Orientado por

Prof. Doutor José Alberto Cardoso Pereira

Prof. Doutora Elsa Cristina Ramalhosa

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo Júri

**Bragança
2010**

Gostaria de agradecer especialmente ao Professor Doutor José Alberto Pereira e à Professora Doutora Elsa Ramalhosa pela orientação, disponibilidade e sobretudo pela ajuda e tolerância demonstrada para a concretização deste trabalho.

À Professora Doutora Letícia Estevinho, ao Ivo Oliveira e Anabela Sousa, pelos conhecimentos transmitidos, simpatia, disponibilidade e ajuda constantes na parte experimental deste trabalho.

A todos os meus amigos e Família

RESUMO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa que é largamente consumida no mundo, estando-lhe associadas diferentes propriedades nutricionais. O feijão contribui substancialmente como fonte de proteína para grande parte da população mundial, especialmente onde o consumo de proteína animal é relativamente baixo. Com o presente trabalho procedeu-se à avaliação do efeito do tempo de cozedura no potencial antioxidante do feijão, assim como a sua avaliação nutricional. O tempo de cozedura é determinante no teor de compostos fenólicos dos extractos de feijão. Na composição físico-química do feijão cozido, o constituinte maioritário é a água, com quantidades significativas de proteínas.

Nas últimas décadas o Instituto Tecnológico Agrário de Castela e Leão (ITACyL) tem dedicado parte da sua actividade ao desenvolvimento de novas variedades de feijão e, em colaboração com a Escola superior Agrária de Bragança (Portugal) procede á avaliação de algumas propriedades biológicas nessas variedades.

Sendo assim, procedeu-se à avaliação do teor em fenóis totais, e da actividade antioxidante através do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e do poder redutor em dez variedades de feijão (coloridos e brancos) desenvolvidas naquele organismo (Almonga, Cárdeno, Cardina, Casasola, Corcal, Curruquilla, Moradillo, Tañoga, Tremaya e Tropical).

O teor em fenóis totais foi muito diferente entre as variedades oscilando entre $4,19 \pm 0,18$ (variedade Almonga) e $90,85 \pm 2,04$ (variedade Tañoga) mg equivalentes de ácido cafeico/100 g de feijão. A variedade Tañoga foi também a que apresentou maior potencial antioxidante com menor valor de EC_{50} . As variedades coloridas apresentaram maior teor de fenóis totais e um efeito antioxidante superior às variedades brancas.

Palavras-chave: Feijão, variedades, tempo de cozedura, valor nutricional, fenóis totais, actividade antioxidante.

Abstract

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a widely consumed legume in the world, being associated with it different nutritional properties. Bean contributes substantially as a protein source for much of the world population, especially where animal protein consumption is relatively low. With this study we proceeded to evaluate the effect of cooking time on the antioxidant potential of beans, as well as their nutritional assessment. The cooking time is crucial in the phenolic content of extracts from beans. The majority constituent in backed beans is water, with significant amounts of protein.

In recent decades the Agrarian Technological Institute of Castilla and León (ITACyL) has dedicated part of its studies to develop new varieties of beans and, in collaboration with the College of Agriculture of Bragança (Portugal) will carry out evaluation of some biological properties of these varieties.

Therefore, we proceeded to evaluate the content of total phenolics, and antioxidant activity through the blocking effect of free radical DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and reducing power in ten varieties of beans (white and colored) developed in that organism (Almonga, Cardeno, Cardina, Casasola, Corcal, Curruquilla, Moradillo, Tañoga, Tremaya and Tropical).

The total phenol content was very different among the varieties ranging from 4.19 ± 0.18 (Almonga) and 90.85 ± 2.04 (Tañoga) mg Caffeic Acid Equivalents/100 g. The variety Tañoga was also presented the highest antioxidant potential with a lower effective concentration (EC_{50}) values. The colored varieties had higher total phenolic content and antioxidant effect than a budding white varieties.

Keywords: Beans, varieties, cooking time, nutricional value, total phenolics, antioxidant activity.

Índice

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
Índice de Figuras.....	vi
Índice de Quadros.....	vii
1. Introdução.....	1
2. Breve Revisão Bibliográfica.....	4
2.1. Origem e história do feijão.....	4
2.2. Classificação e botânica do feijão.....	4
2.3. Pragas e doenças no feijão.....	5
2.4. Composição química do feijão.....	6
2.4.1. Composição química média.....	6
2.4.2. Composição em aminoácidos.....	6
2.4.3. Composição em vitaminas.....	7
2.4.4. Composição em minerais.....	8
2.4.5. Composição em compostos fenólicos.....	9
2.5. Implicações da ingestão de feijão na saúde.....	11
2.6. Influência dos métodos de cozedura no feijão.....	13
2.7. Influência do armazenamento do feijão.....	14
2.8. Actividade antioxidante do feijão.....	14
3. Comparação de diferentes tempos de extracção, avaliação da composição química e actividade antioxidante do feijão.....	16
3.1. Material e métodos.....	16
3.1.1. Amostras.....	16
3.1.2. Efeito do tempo de cozedura na extracção de compostos fenólicos.....	17
3.1.3. Avaliação nutricional.....	17
3.1.4. Quantificação dos fenóis totais.....	19
3.1.5. Actividade antioxidante.....	19
3.2. Resultados e discussão.....	22
3.2.1. Estudo do efeito do tempo de cozedura, caracterização química e actividade antioxidante.....	22

3.2.2. Actividade antioxidante e quantificação de compostos fenólicos de 10 variedades de feijão.....	27
4. Conclusão.....	33
5. Referências bibliográficas.....	34

Índice de Figuras

	Pág.
Figura 1- Rendimento de extracção (média \pm desvio padrão de três determinações), expresso em percentagem, de feijão branco “Saint Eloi”, sujeito a diferentes tempos de cozedura em minutos.....	22
Figura 2- Valores médios de fenóis totais (média \pm desvio padrão de três determinações) em equivalentes de ácido cafeico e ácido gálico, expressos em mg/g, de amostras de feijão branco “Saint Eloi”, sujeito a diferentes tempos de cozedura em minutos.....	23
Figura 3- Valores do efeito bloqueador de radicais de DPPH em função da concentração de extractos de feijão branco “Saint Eloi”, obtidos a diferentes tempos de cozedura em minutos.....	24
Figura 4- Valores médios de EC ₅₀ (média \pm desvio padrão de três determinações) obtidos pelo método de DPPH, expresso em mg/ml, de amostras de feijão branco “Saint Eloi”, sujeito a diferentes tempos de cozedura em minutos.....	24
Figura 5- Valores do efeito bloqueador de radicais de DPPH obtidos para os extractos de variedades brancas.....	28
Figura 6- Valores do efeito bloqueador de radicais de DPPH obtidos para os extractos de variedades coloridas.....	29
Figura 7- Valores de EC ₅₀ (mg/ml) dos diferentes extractos de feijão para o DPPH.....	29
Figura 8- Valores de poder redutor obtidos para os extractos de variedades brancas...30	30
Figura 9- Valores de poder redutor obtidos para os extractos de variedades coloridas.31	31
Figura 10- Valores de EC ₅₀ (mg/ml) dos diferentes extractos de feijão para o poder Redutor.....	31

Índice de Quadros

	Pág.
Quadro 1 - Composição química média de várias cultivares de feijão cozido e seco.....	6
Quadro 2 - Composição em aminoácidos de várias cultivares de feijão cozido com água de maceração.....	7
Quadro 3 – Composição vitamínica média de várias cultivares de feijão.....	8
Quadro 4 - Composição mineral média de feijão cozido e seco.....	8
Quadro 5 - Características das variedades estudadas.....	16
Quadro 6 – Valores médios (média \pm desvio padrão) da composição química de feijão branco “Saint Eloi” cozido.....	25
Quadro 7 - Rendimentos de extracção e teor em fenóis totais das diferentes cultivares em estudo.....	27

1. Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado há centenas de anos, e continua a ser em muitas regiões do mundo, a leguminosa mais consumida na dieta humana (Messina, 1999). Possui uma composição química que torna o seu consumo benéfico sob o ponto de vista nutricional, possuindo também compostos fenólicos que podem reduzir a incidência de doenças (Dinelli *et al.*, 2006; Beninger e Hosfield, 2003).

A produção mundial de feijão aumentou 59,1% no período compreendido entre 1961 e 2005. Os cinco principais países de maior produção de feijão são o Brasil, a China, a Índia, a Birmânia e o México, representando mais de 65% da produção mundial. O Burundi e o Ruanda são os países com maior densidade de produção (7,91 e 7,58 t/km², respectivamente). Os principais países exportadores são a China, os EUA, a Birmânia, o Canadá e a Argentina, sendo responsáveis por 73,5% do total exportado e, a Índia, os EUA, Cuba, Japão e o Reino Unido são os principais países importadores de feijão (Wander *et al.*, 2007).

O feijão é a leguminosa usada como fonte de proteína para grande parte da população mundial, especialmente onde o consumo de proteína animal é relativamente escasso (Pires *et al.*, 2005). Além de fornecer quantidades apreciáveis de proteínas, possui também um bom teor de hidratos de carbono, fibras, minerais, vitaminas, e um teor reduzido de lípidos (Sgarbieri e Whitaker, 1982).

São também descritos vários benefícios do seu consumo. O teor de ferro é semelhante ao encontrado na carne bovina e é também uma boa fonte de cálcio, fósforo, potássio, magnésio, cobre e zinco (Sámman *et al.*, 1999; Barampama e Simard, 1993). Outros benefícios para a saúde estão relacionados com as fibras encontradas no feijão. A fração de fibra solúvel desempenha um papel importante como alimento funcional (Hughes, 1996).

O aminoácido encontrado em maior quantidade no feijão é a lisina e, em concentrações limitadas, os aminoácidos sulfurados metionina e cisteína. Os teores elevados de lisina do feijão exercem um efeito complementar com as proteínas dos cereais, ricas em aminoácidos sulfurados (Rios *et al.*, 2003). É também considerado uma das melhores fontes vegetais de vitaminas do complexo B (Geil e Anderson, 1994) e, alguns trabalhos demonstram que as leguminosas e, particularmente o feijão possuem propriedades reguladoras dos níveis de glicemia e insulina (Obiro *et al.*, 2008; Pari e Venkateswaran, 2004).

Os compostos fenólicos encontrados no feijão são importantes fitonutrientes e são reconhecidos por reduzirem o risco de desenvolvimento de patologias, como arteriosclerose, cancro e outras doenças crónicas (Namiki, 1990; Ramarathnam *et al.*, 1995). As propriedades benéficas dos compostos fenólicos têm sido atribuídas, em parte, à sua actividade antioxidante (Beninger e Hosfield, 2003).

Por outro lado, alguns problemas nutricionais como a baixa digestibilidade proteica, o teor reduzido em aminoácidos sulfurados e a presença de factores antinutricionais têm sido factores estudados por diversos autores.

As dietas contribuem significativamente para a manutenção de uma vida saudável. Nos últimos anos foram efectuados inúmeros estudos com o objectivo de relacionar o tipo de dieta consumida com doenças como a obesidade, doenças cardiovasculares, dislipidemias e diabetes. Assim, muitos alimentos passaram a ser considerados na etiopatogenia destas doenças, enquanto outros destacam-se pelos seus efeitos protectores, os chamados alimentos funcionais. Estes, apresentam propriedades que podem influenciar na evolução e diagnóstico de muitas destas doenças cujo taxa de morbidade e mortalidade ainda são significativas no nosso meio.

Dos diversos alimentos utilizados pelo homem, as sementes da família das leguminosas apresentam um papel importante na dieta da maioria das populações, sendo o feijão um dos mais consumidos. Considerando que o consumo destas leguminosas se encontra associado à redução do risco de algumas destas doenças, torna-se importante o conhecimento das suas propriedades funcionais.

O conhecimento da variabilidade genética é fundamental para o desenvolvimento de programas de melhoramento de plantas. Vários trabalhos de melhoramento genético vêm sendo desenvolvidos com o objectivo de se obter variedades com melhores características agronómicas, tais como aumento de produtividade e resistência a pragas e doenças. Nas últimas décadas o Instituto Tecnológico Agrário de Castela e Leão (ITACyL) tem dedicado parte da sua actividade ao desenvolvimento de novas variedades de feijão e, em colaboração com a Escola Superior Agrária de Bragança (Portugal), procede á avaliação de algumas propriedades biológicas nessas variedades.

Os objectivos do programa de melhoramento têm sido principalmente a introdução de resistência a doenças como a bacteriose (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *P. s.* pv. *syringae* e *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*) e viroses BCMV (*Bean Common Mosaic Virus*) e BCMNV (*Bean Common Mosaic Necrosis*

Virus), assim como a obtenção de boas características agronómicas e qualidade sensorial, tendo sido obtidas 23 variedades de feijão.

Actualmente e perante a preocupação crescente dos consumidores com a dieta, é de todo o interesse conhecer o teor em compostos bioactivos e propriedades nutraceuticas com possíveis implicações na saúde. Por outro lado, a sua avaliação nestas variedades de feijão permitirá a sua maior valorização como alimento.

Torna-se assim importante uma estreita associação entre produtores e investigadores nas áreas de agronomia, nutrição e alimentos, para obter feijões de boa qualidade que sejam aceites pelo consumidor, e cumpram com as exigências de qualidade.

No contexto descrito, o presente trabalho teve os seguintes objectivos:

Em primeiro lugar proceder à avaliação do efeito do tempo de cozedura na extracção de compostos com actividade antioxidante, no sentido de avaliar a melhor forma de extracção destes compostos, tendo sido avaliado quer o poder antioxidante quer o teor em fenóis totais e ainda a avaliação nutricional.

Em segundo lugar, e de acordo com o trabalho previamente realizado para escolher o melhor método, aplicá-lo à avaliação do teor em fenóis totais e actividade antioxidante de dez cultivares de feijão desenvolvidas pelo ITACyl.

2. Breve Revisão Bibliográfica

2.1. Origem e história do feijão

O feijão é um dos alimentos mais antigos, sendo utilizado desde os primeiros registros da humanidade. No Egito e na Grécia era lhe prestado culto como símbolo da vida. Os romanos usavam os feijões em festas gastronômicas sendo também utilizados como forma de pagamento de apostas.

Muitos historiadores atribuem a expansão mundial do feijão como consequência das guerras, uma vez que fazia parte integrante da dieta dos guerreiros. As ruínas da antiga Tróia evidenciam que o feijão era um prato apreciado pelos guerreiros troianos.

É sugerida a existência de três centros primários de diversidade genética na origem do feijão. O mesoamericano, que se estende desde o Sudeste dos Estados Unidos até ao Panamá, tendo como zonas principais o México e a Guatemala; o Sul dos Andes, que abrange desde o Norte do Peru até as províncias do noroeste da Argentina; e o Norte dos Andes, que abrange desde a Colombia e Venezuela até ao Norte do Perú. Foram também identificados outros centros secundários em algumas regiões da Europa, Ásia e África, onde foram introduzidos genótipos americanos (Embrapa, 2010).

2.2. Classificação e botânica do feijão

O feijão comum, pertencente à classe Dicotyledoneae, família Leguminosae, subfamília Papilionoidae e género *Phaseolus*. O género *Phaseolus* engloba, aproximadamente, 55 espécies das quais, apenas cinco, são cultivadas. A espécie *P. vulgaris*, vulgarmente designada por feijão comum, é a mais difundida e consumida em diversos países (Prolle, 2003).

É uma planta herbácea, trepadeira ou rasteira, levemente pubescente, cujo ciclo de vida varia de aproximadamente 65 a 120 dias, dependendo da cultivar e das condições da época de cultivo. Pode apresentar quatro tipos de hábito de crescimento, sendo um tipo chamado determinado e os outros três definidos como indeterminados. Ostenta vagens rectas ou ligeiramente curvas, achatadas ou arredondadas, com bico recto ou curvado, em geral com 9 a 12 cm de comprimento, e com 3 a 7 sementes (Prolle, 2003).

No feijão são reconhecidas três partes distintas: tegumento, cotilédone e o eixo embrionário (Dueñas *et al.*, 2002). A parte mais importante em termos de peso é o cotilédone. Este, contém proteínas e hidratos de carbono, enquanto que o revestimento (tegumento) da semente contém a maior concentração de compostos fenólicos (Shahidi *et al.*, 2001).

A semente do feijão pode apresentar diversas formas (arredondada, elíptica ou reniforme), com tamanhos variáveis e uma ampla variabilidade de cores (branca, creme, vermelha, preta, rosa, roxa, alaranjada entre outras), dependendo da cultivar (Prohle, 2003).

As cultivares de feijão apresentam diferenças agronómicas e tecnológicas devido principalmente ao perfil genotípico da planta. Contudo, o melhoramento genético e as adversidades climáticas também influenciam este perfil. Estas alterações acabam por modificar a composição química das sementes com aperfeiçoamento de algumas características relativamente a outras.

A variabilidade na composição química pode ser também atribuída ao ano de cultura, uma vez que se verifica que o seu perfil nutricional pode variar de ano para ano (Barampama e Simard, 1993; Sotelo *et al.*, 1995; Sammán, 1999).

2.3. Pragas e doenças do feijão

O feijão comum é atacado por inúmeras pragas e doenças as quais, além de diminuir a produtividade da cultura, diminuem a qualidade do produto obtido.

As principais pragas que atacam o feijão são os afídeos, os ácaros e o gorgulho. As doenças são principalmente de origem bacteriana, fúngica e vírica. Entre as doenças bacterianas merecem destaque a bacteriose (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *P. s.* pv. *syringae* e *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*). As doenças causadas por vírus são várias entre as quais, BCMV e BCMNV, sendo as duas mais importantes.

Entre as principais doenças fúngicas destacam-se a mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*), a antracnose (*Colletotrichum* sp.), a ferrugem (*Uromyces appendiculatus*, o oídio (*Erysiphe polygoni*), e o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) (Ripado, 1992).

2.4. Composição química

A composição química do feijão é um factor importante na qualidade do produto final e tem sido estudada por diferentes autores. Nas sementes do feijão a composição química é bastante variável, podendo variar de acordo com a variedade, origem, localização, clima, condições ambientais, tipo de solo, armazenamento, processamento e modificações genéticas.

Barampama e Simard (1993) estudaram quatro variedades de feijão cultivadas em quatro regiões diferentes e verificaram que variedades idênticas apresentaram valores distintos na sua composição química.

2.4.1. Composição química média

No Quadro 1 apresentam-se os valores médios para a composição química do feijão. O feijão apresenta como constituinte maioritário os hidratos de carbono e como minoritário os lípidos.

Quadro 1 - Composição química média de várias cultivares de feijão cozido e seco.

	Teor %	Referências bibliográficas*
Humidade (%)	7,7 - 22	6,8
Proteína (%)	18 - 26	1,2,3,4,6,7
Gordura (%)	0,7 - 1,9	1,2,3,4,5,6,7
Hidratos de Carbono (%)	56 - 77	1,2,3,4,5,6,7
Cinzas (%)	3,3 - 4,3	1,2,3,4,5,6,7
Fibras (%)	4,5 - 9,2	1,2,3,4,6,7

*1- Sarmán *et al.* (1999) 2 - Sathe (2002) 3 - Shimelis (2005) 4 - Pires *et al.* (2005)

5 - Mesquita *et al.* (2007) 6- Ramírez-Cárdenas *et al.* (2008) 7-Siddiq *et al.* (2009) 8-Silva *et al.* (2009)

2.4.2. Composição em aminoácidos

Segundo Ramirez - Cárdenas *et al.* (2008) os teores totais de aminoácidos variam entre 0,20 e 2,26 mg/g. No Quadro 2 sumarizam-se o teor destes metabolitos em feijão cozido com a água de maceração.

Quadro 2 - Composição em aminoácidos de várias cultivares de feijão cozido com água de maceração.

Aminoácidos	Teor mg/g*
<i>Essenciais</i>	
Fenilalanina	1,19 - 1,62
Leucina	0,84 – 1,20
Lisina	0,67 – 0,94
Metionina	0,20 – 0,27
Treonina	0,48 – 0,53
Valina	0,56 – 0,72
Histidina	0,39 – 0,44
Isoleucina	0,43 - 0,62
<i>Não essenciais</i>	
Alanina	0,61 – 0,69
Arginina	0,80 – 0,93
Ácido Aspártico	1,70 - 1,78
Ácido Glutâmico	2,15 – 2,26
Glicina	0,49 – 0,51
Prolina	0,62 – 0,72
Serina	0,76 – 0,82

*Ramirez-Cárdenas *et al.* (2008).

2.4.3. Composição em vitaminas

No Quadro 3 evidenciam-se os teores vitamínicos no feijão, apresentados pela USDA na *National Nutrient Database for Standart Reference*. Estes oscilam entre 0,21 e 16,71 mg/100g, sendo a vitamina K a presente em maiores quantidades e a vitamina A em menores.

Quadro 3 – Composição vitamínica média de várias cultivares de feijão.

Vitaminas	Teor (mg/100g)*
Vitamina C	8,93
Tiamina	0,56
Riboflavina	0,24
Niacina	1,76
Vitamina K	16,71
Vitamina A	0,21
Vitamina E	0,82
Vitamina B6	0,34

*USDA-National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23 (2010).

(www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search)

2.4.4. Composição em minerais

No Quadro 4, encontram-se os valores médios referentes à composição mineral, compreendidos entre 0,8 e 1542,5mg/g. No feijão, o mineral presente em maiores quantidades é o potássio.

Quadro 4- Composição mineral média de feijão cozido e seco.

Feijão		
Minerais	Teor mg/g	Referências bibliográficas*
Ferro	6,02 -18	1,2,3,4,5
Cobre	0,8 -2,74	1,2,3,4,5
Zinco	2,5 - 6,08	1,2,3,4,5
Cálcio	86 – 207,41	1,2,3,4,5
Magnésio	28,1- 239,47	1,2,3,4,5
Manganês	1,31 - 2,60	1,2,3,4,5
Potássio	442 – 1542,5	1,2,3,4,5
Fósforo	295 - 542	1,2,3,5

*1-Sammán *et al.* (1999) 2-Barampama e Simard (1993) 3- Esteves (2000) 4- Pires *et al.* (2005)

5- Ramírez-Cárdenas *et al.* (2008).

2.4.5. Composição em compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são originados no metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso formam-se em condições de stress como infecções, ferimentos, radiações UV, entre outros (Naczka *et al.*, 2004). Além das suas propriedades antioxidantes, a sua presença contribui para a parte sensorial dos alimentos, como a cor, o sabor e o aroma, conservando a qualidade do alimento.

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

O feijão contém uma grande diversidade de flavonóides, antocianinas, proantocianidinas e isoflavonas, bem como alguns ácidos fenólicos (Beninger e Hosfield, 1999; Beninger e Hosfield, 2003; Choung *et al.*, 2003). Os compostos fenólicos encontram-se presentes predominantemente no tegumento (revestimento) do feijão (Beninger e Hosfield, 1998).

Na literatura encontram-se vários estudos, onde os valores de fenóis totais variam apreciavelmente. Este facto pode ser atribuído a vários factores entre eles, o genótipo (variedade ou cultivar) da planta, práticas agronómicas, maturidade na colheita, pós-colheita, armazenamento e às condições climáticas, de cultivo e de armazenamento (Ninfali e Bacchiocca, 2003; Luthria e Pastor-Corrales, 2005).

Para diferentes cultivares, alguns estudos apresentam valores de fenóis totais que variam desde 1,17 a 36 mg/100 g equivalentes ácido gálico (EAG) (Luthria e Pastor-Corrales, 2006; Heimler *et al.*, 2005) e os teores de flavonóides variam desde 0,24 a 0,84 mg/100 g equivalentes catequina (EC) (Boateng *et al.*, 2007; Oomah *et al.*, 2005).

As sementes de feijão de cor escura apresentam maior teor de compostos fenólicos do que as claras (Pellegrini *et al.*, 2006), embora o feijão de cor clara apresente um teor de taninos condensados ou proantocianidinas superior ao do feijão colorido (Beninger e Hosfield, 1999). Segundo Cardador-Martinez *et al.* (2002) a elevada actividade antioxidante no feijão branco deve-se ao teor de taninos condensados, supondo-se assim que estes sejam os compostos fenólicos mais importantes nessas sementes. Os valores de taninos condensados também diferem bastante, variando desde 0,3 a 35,70 mg EC/g para diferentes cultivares (Plahar *et al.*, 1997; Espinosa-Alonso *et al.*, 2006; Boateng *et al.*, 2007).

Diversos estudos têm-se centrado no isolamento e caracterização de pigmentos assim como na sua contribuição para a cor do tegumento do feijão (Cardador-Martinez *et al.*, 2002; Choung *et al.*, 2003; Heimler *et al.*, 2005).

Takeoka *et al.* (1997) identificaram três tipos de antocianinas: delphinidina 3-glicósido (56%), petunidina 3-glucósido (26%), e malvidina 3-glucosido (18%). Beninger e Hosfield (2003) também obtiveram essas mesmas antocianinas no revestimento de sementes de outros genótipos e, concluíram que essas eram as antocianinas principais e mais activas em termos de actividade antioxidante. A caracterização de cultivares de feijão coreano e japonês realizada por Choung *et al.* (2003) e Tsuda *et al.* (1994), respectivamente, também sugeriu a prevalência de pelargonidina 3-glicósido e delphinidina-3-glicósido em genótipos de feijão vermelho e preto.

De acordo com Luthria e Pastor-Corrales (2005) os três ácidos fenólicos identificados em todas as quinze variedades de feijão estudadas foram: ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico e o ácido sinápico. O ácido caféico foi apenas identificado em duas variedades de feijão preto. O ácido ferúlico foi o ácido fenólico mais predominante, com níveis intermédios de ácido *p*-cumárico e ácido sinápico, em todas as variedades. O valor de ácidos fenólicos totais nas 15 variedades variou de 19,1 a 48,3 mg/100 g. Num estudo efectuado por Sosulski e Dabrowski (1984), foram apenas identificados o ácido *p*-cumárico e ferúlico, e o total de ácidos fenólicos extraídos foi de 6,9 mg/100 g.

Em trabalhos posteriores, estes mesmos autores identificaram quatro ácidos fenólicos: ferúlico, *p*-cumárico, sinápico e ácido cinâmico, com valores mais elevados (19,1 mg/100 g) (Sosulski e Dabrowski, 1990).

2.5. Implicações da ingestão de feijão na saúde

Existem vários estudos na literatura sobre o potencial do feijão na prevenção e redução de várias patologias, nomeadamente, a obesidade, diabetes, dislipidemias, neoplasias, doenças cardíacas entre outras perturbações crónicas.

Alguns estudos demonstram que o consumo de feijão pode ter vários benefícios para baixar o colesterol. Um trabalho efectuado por Finley *et al.* (2007) concluiu que o consumo diário de feijão reduz o colesterol em indivíduos saudáveis e nos pré-condicionados para a síndrome metabólica. Este estudo indica também que o consumo de feijão pode afectar favoravelmente o perfil lipídico associado com a doença cardiovascular. Winham *et al.* (2007) chegaram às mesmas conclusões, recomendando a ingestão de feijão na redução do colesterol sérico total e LDL (“mau” colesterol) reduzindo assim o risco de doença cardíaca coronária.

Os suplementos dietéticos naturais, nomeadamente os designados “bloqueadores de amido”, estão entre os suplementos mais utilizados e requisitados para ajudar na redução do peso. Estes promovem a perda de peso, interferindo com a repartição dos hidratos de carbono (HC), reduzindo ou retardando, a disponibilidade de calorias provenientes dos HC e/ou pelo fornecimento de amidos resistentes ao trato gastrointestinal (Celleno *et al.*, 2007).

O feijão é uma fonte rica de amido resistente, um tipo de amido similar à fibra dietética, uma vez que não é digerida pelas enzimas intestinais. Segundo os resultados obtidos por Bodinham *et al.* (2009), o consumo de amido resistente ajuda a reduzir a ingestão calórica, podendo ser útil no tratamento associado ao apetite (sobrepeso ou obesidade) e no tratamento da síndrome metabólica, na medida em que o consumo de amido resistente resultou numa menor resposta à insulina após as refeições. Há ainda a considerar que as dietas de baixo índice glicémico (IG), podem produzir maior perda de peso comparativamente com dietas com maior índice glicémico. Os hidratos de carbono que são rapidamente digeridos e absorvidos têm um alto IG, causando picos rápidos de glicose no sangue, enquanto que nos alimentos de baixo IG a libertação de glicose ocorre de forma mais lenta e gradualmente no sangue. Os legumes, nomeadamente o

feijão tem um baixo índice glicémico. Estudos demonstram que dietas à base de alimentos com baixo IG estão associadas a um risco reduzido de diabetes, obesidade e outras doenças crónicas (Thomas *et al.*, 2007).

Celleno *et al.* (2007) também demonstraram que o consumo de feijão pode de forma preventiva influenciar no aparecimento da obesidade. Estes autores divulgaram que o extracto de *P. vulgaris* produz uma redução significativa no peso corporal com decréscimo na massa gorda e manutenção da massa corporal magra e, um estudo efectuado por Pusztai *et al.*, (1998) em ratos, verificou que a lectina do feijão pode ser usada como terapêutica para estimular a função intestinal e melhorar a obesidade.

O feijão possui factores antinutricionais, capazes de inibir enzimas, tais como a alfa-amilase. Os inibidores de alfa-amilase do feijão têm sido estudados em animais e humanos, sendo referenciados como anti-diabéticos e anti-obesidade (Tormo *et al.*, 2006; obiro *et al.*, 2008; Helmstadter, 2010).

A alfa-amilase é responsável pela transformação do amido ingerido em glicose. Esta enzima actua durante o processo de digestão, quebrando os amidos ingeridos e convertendo-os em açúcares para a corrente sanguínea, causando aumento da glicemia. O mecanismo de acção do inibidor da alfa-amilase mostra que este é eficaz na prevenção do início da digestão, bloqueando completamente o acesso ao sítio activo da enzima. Sendo assim, o feijão é recomendado nas dietas de emagrecimento pela capacidade de inibir a enzima alfa-amilase, impedindo o organismo de transformar os hidratos de carbono em açúcar durante a digestão. (Obiro *et al.*, 2008).

Um estudo efectuado por Pari e Venkateswaran em 2003 e 2004, mostrou que os extratos de *P. vulgaris* administrados em animais diabéticos normalizaram a glicose no sangue, com diminuição significativa da glicémia e hemoglobina glicosilada, com aumento significativo na hemoglobina total e insulina plasmática. Em animais não diabéticos, os níveis de glicose também diminuiriam tornando-se hipoglicémicos.

Vários investigadores têm demonstrado os efeitos protectores das leguminosas, nomeadamente o feijão, no aparecimento de vários tipos de cancro, nomeadamente ao nível do tracto gastrointestinal, carcinoma mamário, cancro da próstata, entre outros. Estas propriedades anticancerígenas têm sido atribuídas, em parte, devido ao feijão ser um alimento vegetal rico em fibras e fitonutrientes e pobre em gordura total e saturada (Thompson *et al.*, 2008; Macz-Pop *et al.*, 2006; Boateng *et al.*, 2008; Bourdon, 2001).

Devido ao aumento de flatulência ou desconforto intestinal que a ingestão de leguminosas, nomeadamente o feijão pode causar, muitas pessoas deixam de consumir e usufruir dos efeitos benéficos que esta leguminosa proporciona.

A flatulência é um processo fisiológico decorrente da acção das bactérias do colón que fermentam os substratos produzindo gases. Essa produção de gás é causada pela degradação dos HC não digeridos no intestino grosso, provenientes de oligossacarídeos. Os oligossacarídeos da família rafinose e estaquiose são os mais associados à produção de flatulência. A não digestibilidade desses açúcares deve-se à ausência da enzima alfa-galactosidase.

Alguns processos como a maceração, cozedura, tratamentos com irradiação gama entre outros, são utilizados de forma a reduzir o teor de oligossacarídeos nas leguminosas (Yamaguishi, 2008).

2.6. Influência dos métodos de cozedura nas propriedades do feijão

A maceração do feijão, vulgarmente conhecida como “demolhar”, ou “colocar de molho” prévia à cozedura é uma prática utilizada frequentemente para amolecer o feijão e antecipar o seu processo de cozedura (De-Leon *et al.*, 1992; Toledo *et al.*, 2008).

O tempo de cozedura diminui à medida que aumenta o tempo de maceração no entanto, a maioria dos macro e micronutrientes, principalmente minerais e vitaminas são perdidos durante estes processos (Rincon *et al.*, 1993; Barampama e Simard, 1995; Rehman, 2004; Toledo *et al.*, 2008). A cozedura do feijão sem a água de maceração, influencia também no teor de compostos fenólicos, provocando uma redução no seu teor (Rámirez-Cárdenas *et al.*, 2008, Toledo *et al.*, 2008, Granito *et al.*, 2008).

Toledo *et al.* (2008) avaliaram alguns métodos de cozedura, nomeadamente, cozedura em microondas, em panela de pressão e em panela (normal), com e sem maceração prévia. Concluíram que a ausência de maceração provoca um aumento no tempo de cozedura, levando a uma inactivação mais efectiva dos taninos. A cozedura em microondas preservou a disponibilidade dos aminoácidos lisina e metionina e, apresentou valores superiores de fibras insolúveis relativamente aos restantes métodos. O teor de fibra solúvel foi superior nas amostras maceradas quando a água de maceração foi utilizada e quando a cozedura foi efectuada em panela (normal e de

pressão). Quando a água de cozedura foi desprezada ocorreu uma diminuição no teor de fibras totais para todos os tipos de cozedura.

Foi realizado um estudo por Bennink e Barret (2004) visando quantificar o teor fenólico na água de cozedura e no feijão após a cozedura. Foi observado que no feijão existe uma grande quantidade de compostos fenólicos, no entanto mais de 50% desses compostos são eliminados para a água de cozedura.

2.7. Influência do armazenamento do feijão

O armazenamento do feijão em condições de temperatura e humidade relativamente elevada provoca o desenvolvimento do fenómeno HTC (*Hard-To-Cook*), com conseqüente aumento do tempo de cozedura (Garcia *et al.*, 1998; Kyriakidis, 1997).

Segundo Granito *et al.* (2008), a combinação de altas temperaturas e altas humidades diminui a capacidade antioxidante do feijão, facto também referido por Machado *et al.* (2009), que mencionam que o fenómeno HTC afecta as características nutritivas, diminuindo também a sua capacidade antioxidante.

2.8. Actividade Antioxidante

Nos últimos anos têm se efectuado vários estudos sobre os radicais livres como responsáveis pelo envelhecimento e por doenças degenerativas como o cancro.

Um radical livre é uma estrutura química que possui um electrão desemparelhado, tornando-o muito instável, reactivo e com capacidade para combinar-se inespecificamente com as diversas moléculas integrantes da estrutura celular e derivados. Existem compostos igualmente reactivos e são classificados de maneira mais ampla, como espécies reactivas de oxigénio (EROs). Em conjunto com as espécies reactivas de azoto (ERAs) são reconhecidas por causarem tanto benefícios como danos celulares.

Na oncogénese, as EROs podem actuar como mensageiros secundários nas cascatas de sinalização intracelular, induzindo e mantendo o fenótipo oncogénico das células cancerosas. Por outro lado, também podem induzir a senescência celular e apoptose funcionando como espécies anti-cancerígenas (Valko *et al.*, 2006).

Diversos estudos evidenciam que a patogénese de várias doenças neurodegenerativas, nomeadamente a doença de Parkinson, doença de Alzheimer, esclerose múltipla e esclerose lateral amiotrófica, pode envolver a formação de EROs e/ou ERAs associada à disfunção mitocondrial (Calabrese *et al.*, 2005).

O stress oxidativo resulta do desequilíbrio entre a produção e remoção de EROs/ERAs pelos sistemas de defesa antioxidante (Valko *et al.*, 2006). É originado por diversos factores internos e externos, como os processos fisiológicos de respiração mitocondrial, a exposição a poluentes, radiação ionizante entre outros. Uma das principais consequências do stress oxidativo é a peroxidação lipídica (Chevion *et al.*, 2000). A oxidação lipídica existente nas membranas celulares é um processo frequente, cuja reacção é iniciada pelo excesso de EROs, em particular os radicais hidróxilos, através de um mecanismo radicalar em cadeia, formando-se compostos tóxicos como os peróxidos lipídicos, o malonaldeído, monohidroxi-peróxidos ou 4-hidroxinonal (Valko *et al.*, 2004). Na indústria alimentar, a peroxidação lipídica é inibida por sequestradores de radicais livres de origem sintética. Desses antioxidantes sintéticos os mais utilizados são o butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), *terc*-butil-hidroxiquinona (TBHQ), tri-hidroxi-butilfenona (THBP) e galato de propilo (GP). No entanto, diversos estudos têm demonstrado a possibilidade destes antioxidantes apresentarem alguns efeitos tóxicos (Sousa *et al.*, 2007). Em consequência dos possíveis problemas provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, diversos estudos têm-se centrado na procura de produtos naturais com actividade antioxidante.

De uma forma geral, os antioxidantes são moléculas naturais, que previnem a formação descontrolada de radicais livres e espécies reactivas de oxigénio ou que inibem a sua reacção com as estruturas biológicas, interrompendo a reacção em cadeia e formando radicais com baixa reactividade para propagar esta reacção, sendo neutralizados por reacção com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (Valko *et al.*, 2004). Nos seres vivos, a produção de radicais livres é controlada por diversos compostos oxidantes, os quais podem ter origem endógena (superóxido dismutase, a catalase e a peroxidase entre outras) ou serem provenientes da dieta alimentar, entre outras fontes. São exemplo os tocoferóis, ácido ascórbico, polifenóis, selénio e os carotenóides (Valko *et al.*, 2004). Quando a disponibilidade de antioxidantes é reduzida, podem ocorrer lesões oxidativas de carácter cumulativo. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desactivar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (Sousa *et al.*, 2007).

3. Comparação de diferentes tempos de extracção, avaliação da composição química e actividade antioxidante do feijão.

3.1. Material e métodos

3.1.1. Amostras

Inicialmente, utilizou-se como amostra aleatória, feijão branco comercialmente designado por Feijão branco “Saint Eloi” e, posteriormente foram utilizadas amostras de diferentes cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), desenvolvidas pelo ITACyL.

As amostras pertenciam a dez variedades de feijão, nomeadamente Almonga, Cárdeno, Cardina, Casasola, Corcal, Curruquilla, Moradillo, Tañoga, Tremaya e Tropical, cujas características se encontram descritas no Quadro 5.

Todas as amostras de feijão foram cozidas com a água de maceração, uma vez que a informação obtida após estes processamentos é mais relevante que a caracterização do feijão cru, por ser um alimento habitualmente cozido.

Quadro 5- Características das variedades estudadas.

Variedade	Cor do grão	Tipo Local	Peso 100 sementes (g)	Perfil de qualidade			Características Agronómicas	
				TOC ²	Qualidade Sensorial	HC ³	Ciclo Cultural	Rendimento
Almonga	Branca	Planchada	67	Longo	Bom	I	Curto	Elevado
Cárdeno	Bicolor (Creme e vermelha)	Pinta de Fréjol Rojo	65	Médio	Bom	I	Médio	Médio
Cardina	Creme	Canela	56	Médio	Muito Bom	D	Curto	Médio
Casasola	Branca	Riñón	52	Curto	Bom	D	Curto	Elevado
Corcal	Branca	Riñón	44	Curto	Bom	D	Médio	Elevado
Curruquilla	Creme	Canela	54	Médio	Muito Bom	D	Curto	Médio
Moradillo	Vermelha	Morada Larga	66	Curto	Muito Bom	D	Médio	Baixo instável
Tañoga	Vermelha	Morada Redonda	40	Longo	Bom	I	Largo	Medio instável
Tremaya	Branca	Riñón	54	Médio	Muito Bom	D	Curto	Elevado
Tropical	Branca	Riñón	54	Médio	Bom	D	Curto	Elevado

TOC²: Tempo Óptimo de Cozedura

HC³: Hábito de Crescimento Indeterminado (I) ou Determinado (D)

3.1.2. Efeito do tempo de cozedura na extracção de compostos antioxidantes

No presente estudo, procedeu-se à avaliação do efeito do tempo de cozedura na extracção de compostos com actividade antioxidante, no sentido de se avaliar o melhor tempo de extracção destes compostos. Sendo assim, efectuou-se a quantificação de fenóis totais, a avaliação do poder antioxidante e ainda a avaliação nutricional, em feijão branco “Saint Eloi”.

Posteriormente, e de acordo com os resultados previamente obtidos, aplicou-se o melhor tempo de extracção à avaliação do teor em fenóis totais e à actividade antioxidante de dez cultivares de feijão desenvolvidas pelo ITACyL.

3.1.3. Avaliação Nutricional

Preparação dos extractos

Os extractos foram preparados pesando-se cerca de 5,0 g de feijão branco “Saint Eloi”. Seguidamente adicionaram-se 150 ml de água destilada, permanecendo de “molho” durante 12 horas. Posteriormente procedeu-se à cozedura do feijão, numa placa de aquecimento durante 30 minutos.

Humidade

Para a determinação da humidade pesaram-se cerca de 5,0 g de amostra, para uma cápsula, previamente dessecada e pesada. Seguidamente as cápsulas com as amostras foram colocadas em estufa a 100°C até peso constante. Os resultados foram expressos em percentagem de humidade.

Teor em Gordura

A determinação do teor de gordura foi efectuada pelo método de extracção em Soxhlet acoplado a refrigeração de refluxo, segundo o método AOAC 948.22 (2000). O solvente utilizado foi o éter de petróleo (Panreac) e o tempo mínimo de extracção foi de 24 horas.

Foram pesadas cerca de 5,0 g de amostra para um almofariz, onde se adicionou sulfato de sódio anidro (Quimitécnica) para desidratar e ajudar a macerar a amostra.

Transferiu-se a amostra para um cartucho de papel de filtro que foi colocado no Soxhlet. Adicionou-se o solvente e deu-se início à extracção. Após as 24 horas, o solvente foi recuperado, e o teor de gordura foi determinado por secagem em estufa a 100°C até ter peso constante. Os resultados foram apresentados em percentagem de gordura.

Cinzas

A determinação do teor de cinza total foi efectuada segundo a norma NP-872 de 1983, a qual define cinza total como o resíduo da incineração da amostra à temperatura de 550°C, expresso em percentagem de massa total. Pesaram-se para uma cápsula previamente tarada e calcinada cerca de 5 g de amostra e, introduziu-se a cápsula na mufla, deixando a incinerar toda a noite. Posteriormente, retirou-se a cápsula e depois de arrefecida em exsiccador, pesou-se.

Proteína bruta

A proteína bruta foi quantificada seguindo o procedimento descrito na norma NP-8030 de 1996, segundo a qual o teor em proteína bruta é o resultado que se obtém multiplicando o teor em azoto da amostra, determinado pelo método de Kjeldahl, por um factor convencional. Esta determinação consiste na mineralização da matéria orgânica por ácido sulfúrico, em presença de um catalisador, com transformação do azoto em sal de amónio, libertação do amoníaco em meio alcalino, destilação, recolha em meio ácido e titulação.

Pesaram-se 0,5 g de amostra previamente desidratada e introduziram-se no tubo de digestão. O tubo de digestão foi colocado no aparelho de Kjeldahl, o qual efectua a destilação e a titulação automaticamente.

O teor em azoto é fornecido automaticamente pelo aparelho e, o teor em proteína é calculado multiplicando o valor obtido para o azoto por 6,25.

Hidratos de carbono e valor energético

O teor em hidratos de carbono foi calculado por diferença, usando a seguinte expressão: $HC (\%) = 100 - (\% \text{ água} + \% \text{ proteínas} + \% \text{ lípidos} + \% \text{ cinzas})$.

O valor energético foi calculado multiplicando o valor exacto de cada um dos nutrientes principais pelo seu equivalente calórico correspondente, e somando os

valores obtidos, de acordo com o Decreto-Lei nº 167/2004 de 7 de Julho, em que determina os factores de conversão relativos ao valor energético, sendo para os hidratos de carbono 4 kcal/g, para as proteínas 4 kcal/g e para os lípidos 9 kcal/g.

3.1.4. Quantificação dos fenóis totais

Existem vários métodos para a quantificação dos compostos fenólicos. No entanto, grande parte destas metodologias requer reagentes específicos, dispendiosos e procedimentos elaborados. O método que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu é o mais utilizado na quantificação de fenóis totais.

Este método é baseado na reacção dos compostos fenólicos com um reagente colorimétrico, seguido de medição espectrofotométrica na região do visível.

O reagente consiste numa mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotungstúico, no qual o molibdénio e o tungsténio na presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, dão origem aos designados molibdénio azul e tungsténio azul. A coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não precisam ter natureza fenólica. Sendo assim, a desvantagem deste procedimento é que pode sobrestimar o conteúdo em fenóis totais, uma vez que várias substâncias como, o dióxido de enxofre, ácido ascórbico ou açúcares redutores, podem interferir na medição (Sousa *et al.* 2007).

Seguiu-se o procedimento descrito por Singleton e Rossi (1965), com algumas modificações. Assim, misturou-se 1 ml de amostra com 1 ml de reagente de Folin e Ciocalteu e aguardou-se 3 minutos. Posteriormente, adicionou-se 1 ml de uma solução saturada de carbonato de sódio e 7 ml de água destilada. A reacção foi mantida no escuro durante 2 horas, após as quais se mediu a absorvância a 725 nm. O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorvância das amostras numa curva de calibração efectuada construída com padrões de ácido caféico e ácido gálico, expressos em mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) e EAC (equivalentes de ácido caféico) por g de extracto. A Equação da curva de calibração do ácido gálico foi $Y = -0,0169 + 1,5817x$ e para o ácido caféico foi $Y = -0,01288 + 1,46869x$ onde Y é a concentração de ácido gálico/ácido caféico, e X é a absorvância a 725 nm.

3.1.5. Actividade Antioxidante

A actividade antioxidante foi analisada pela avaliação do poder redutor e do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).

Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH

O efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) foi estudado de acordo com o descrito por Hatano *et al.* (1988). Misturaram-se 0,3 ml das várias concentrações de extracto de cada amostra com 2,7 ml de uma solução metanólica contendo radicais de DPPH (6×10^{-5} mol/L).

A mistura foi agitada vigorosamente e colocada a repousar no escuro até se obterem valores estáveis de absorvância. A redução do radical de DPPH foi medida pela monitorização contínua do decréscimo da absorção a 517 nm. O efeito bloqueador do DPPH foi calculado como uma percentagem da descoloração do DPPH usando a seguinte equação:

$$\% \text{ Efeito bloqueador} = [(A_{\text{DPPH}} - A_A) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$$

em que A_A é a absorvância da solução com extracto da amostra e A_{DPPH} é a absorvância da solução de DPPH. A concentração de extracto a que corresponde 50% de inibição (EC_{50}) foi calculada a partir da representação gráfica da percentagem do efeito bloqueador em função da concentração de extracto.

A avaliação da actividade antioxidante utilizando DPPH baseia-se na capacidade do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil reagir com substâncias doadoras de átomos de hidrogénio ($\text{DPPH} + [\text{AH}]_n \rightarrow \text{DPPH-H} + [\text{A}]_n$), incluindo compostos fenólicos (Roginsky e Lissi, 2005). A absorvância a 517 nm diminui à medida que a reacção entre as moléculas antioxidantes e os radicais de DPPH ocorre. Assim, quanto mais rapidamente decresce a absorvância, maior será a actividade antioxidante do extracto, em termos de capacidade doadora de átomos de hidrogénio. A alteração na coloração violeta característica para amarelo, resulta portanto da captura do radical por antioxidantes presentes na amostra através da doação de um átomo de H para formar a molécula estável DPPH-H (Espín *et al.*, 2000).

Poder Redutor

O poder redutor foi avaliado de acordo com o procedimento descrito por Oyaizu (1986). Assim, 2,5 ml das diferentes concentrações de extracto de cada amostra foram misturados com 2,5 ml de solução de fosfato de sódio com pH 6,6 (Sigma Chemical Co.) e com 2,5 ml de ferricianeto de potássio a 1% (Sigma Chemical Co.). A mistura foi incubada a 50°C durante vinte minutos. Após incubação, foram adicionados 2,5 ml de ácido tricloroacético a 10% (Sigma Chemical Co.) e a mistura foi centrifugada a 1000 rpm durante oito minutos. Retiraram-se 5 ml de sobrenadante que foram misturados com 5 mL de água destilada e 1 mL de cloreto férrico a 0,1% (Sigma Chemical Co.), e leu-se a absorvância a 700 nm.

A concentração de extracto correspondente a 0,5 de absorvância (EC_{50}) foi calculada a partir da representação gráfica da absorvância registada a 700 nm em função da concentração de extracto correspondente. Neste ensaio, o aumento de absorvância indica um maior poder redutor. A presença de agentes redutores provoca a redução do complexo Fe^{3+} /ferricianeto a uma forma ferrosa. A formação de azul “Perl’s Prussian” medida a 700 nm, pode ser usada para monitorizar a concentração de Fe^{2+} .

Preparação dos extractos

Os extractos das amostras foram preparados pesando-se cerca de 5,0 g de feijão de cada variedade. De seguida, adicionaram-se 150 ml de água destilada, permanecendo todas as amostras de “molho” durante 12 horas. Posteriormente, procedeu-se à cozedura, numa placa de aquecimento durante 30 minutos. Os extractos foram filtrados com papel de filtro Whatman no. 4 e após terem arrefecido, os extractos aquosos foram congelados e liofilizados. Nesses extractos foram determinados o teor em fenóis totais e a actividade antioxidante como anteriormente descrito.

3.2. Resultados e discussão

3.2.1. Estudo do efeito do tempo de cozedura, caracterização química e actividade antioxidante.

Para o estudo do efeito do tempo de cozedura do feijão, no sentido de escolher o tempo mais adequado para os estudos posteriores, foram usados diferentes tempos de cozedura, nomeadamente, 30, 60 e 90 minutos.

A utilização dos diferentes tempos originou diferentes rendimentos dos extractos (Figura 1), variando entre 13,92 %, obtido após 30 minutos de cozedura e, 10,75 %, observado após 90 minutos de cozedura.

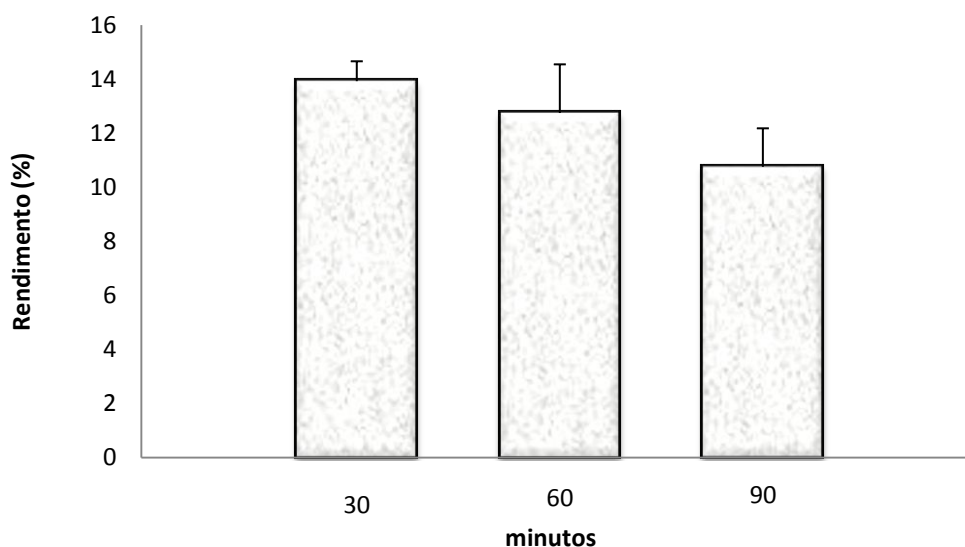


Figura 1- Rendimento de extração (média \pm desvio padrão de três determinações), expresso em percentagem, de feijão branco “Saint Eloi”, sujeito a diferentes tempos de cozedura em minutos.

A existência de maior rendimento de extração no menor tempo de cozedura pode estar relacionada com dois aspectos que consideramos de importância. O facto das amostras terem sido colocadas durante 12 horas de “molho”, faz com que o tempo de cozedura seja rápido e, quanto maior for o tempo de cozedura, mais água é absorvida pelo feijão, formando uma espécie de “massa” consistente, dificultando o processo posterior de filtração. Por outro lado, tempos de cozedura prolongados podem levar a uma maior destruição dos compostos hidrosolúveis que passam para o extracto aquoso, daí reduzirem ao longo do tempo.

No que respeita ao teor em fenóis totais dos extractos obtidos, procedeu-se à sua quantificação em mg equivalentes de ácido gálico e em mg equivalentes de ácido cafeico, por duas razões, por um lado a bibliografia não era consensual relativamente ao que deveria ser usado e por outro para testar a reprodutibilidade dos resultados obtidos para selecção e posterior utilização. Independentemente dos resultados serem expressos em ácido gálico ou em ácido cafeico o teor em fenóis totais aumentou com o tempo de cozedura do feijão (Figura 2).

Assim, o teor mais elevado registou-se aos 90 minutos, enquanto que o mais baixo foi observado aos 30 minutos (Figura 2).

Os compostos fenólicos são solúveis em água e estudos indicam que durante a maceração e cozedura estes são libertados respectivamente para a água de maceração e cozedura. Assim, quanto maior for o tempo de cozedura maior será o seu conteúdo na referida água (Barampama e Simard, 1994; Bennink e Barret, 2004; Ramírez-Cárdenas *et al.*, 2008).

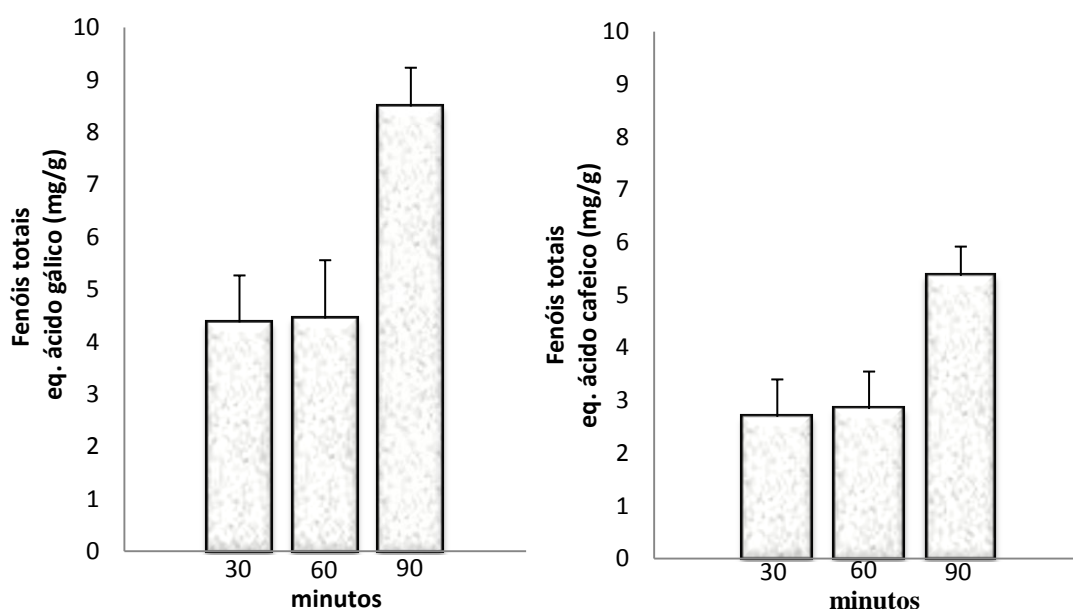


Figura 2- Valores médios de fenóis totais (média \pm desvio padrão de três determinações) em mili-equivalentes de ácido cafeico e ácido gálico, expressos em mg/g, de amostras de feijão branco “Saint Eloi”, sujeito a diferentes tempos de cozedura em minutos.

Ao avaliar a actividade antioxidante pelo método do efeito bloqueador dos radicais livres verificou-se que em todos os extractos houve uma relação de dependência entre a concentração dos extractos e a actividade registada (Figura 3).

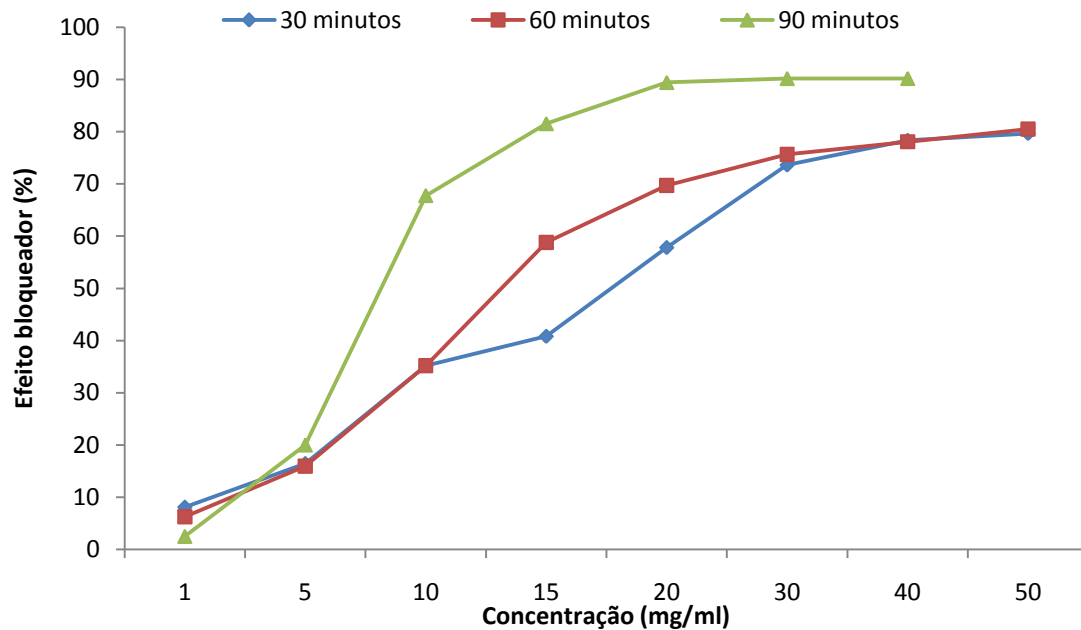


Figura 3- Valores do efeito bloqueador de radicais de DPPH em função da concentração de extractos de feijão branco “Saint Eloit”, obtidos a diferentes tempos de cozedura em minutos.

Os valores da concentração de extracto necessária para bloquear 50% dos radicais livres de DPPH (EC_{50}) foram maiores nas amostras sujeitas a 30 minutos (17,24 mg/ml), diminuindo para os 60 minutos (10,92 mg/ml) e sendo cerca de metade (8,26 mg/ml) nas amostras sujeitas a 90 minutos de cozedura (Figura 4).

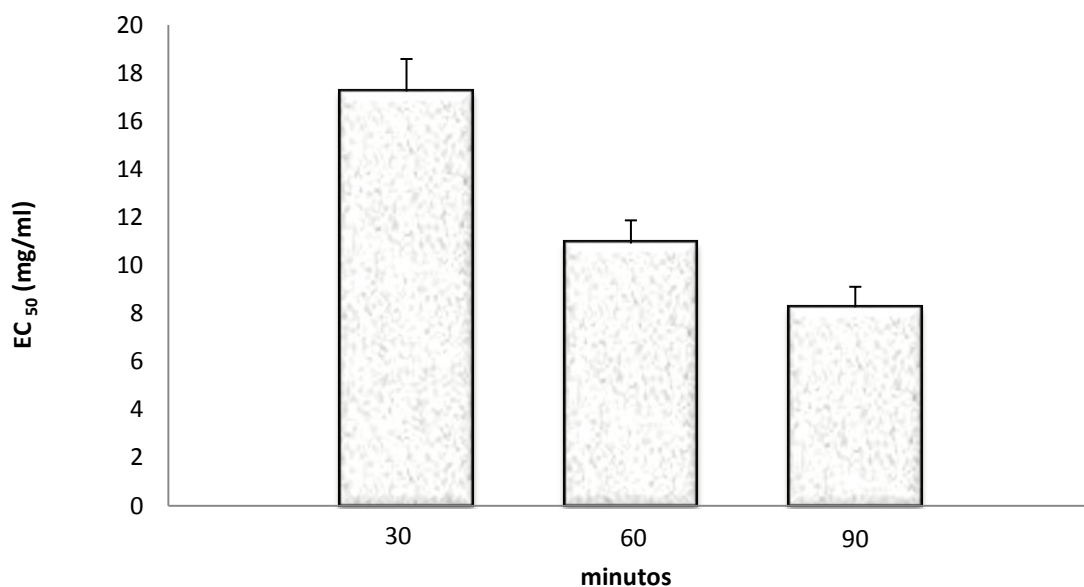


Figura 4- Valores médios de EC_{50} (média \pm desvio padrão de três determinações) obtidos pelo método de DPPH, expresso em mg/ml, de amostras de feijão branco “Saint Eloit”, sujeito a diferentes tempos de cozedura em minutos.

Sendo o feijão um alimento rico em compostos fenólicos, já descritos como altamente benéficos para a saúde, e tendo em conta que parte destes compostos são eliminados para a água de maceração e cozedura, é fundamental proceder ao seu aproveitamento e posterior reutilização. Assim, a água usada para macerar os feijões não deverá ser eliminada, mas reutilizada para a cozedura. Controlar o tempo de cozedura também é importante, pois como concluído no presente estudo e já descrito por alguns autores, já mencionados, quanto maior for o tempo de cozedura, maior será o teor de compostos fenólicos eliminados.

Avaliação Nutricional

Os valores referentes à composição nutricional do feijão em estudo encontram-se no Quadro 6.

Quadro 6 – Valores médios (média \pm desvio padrão) da composição química de feijão branco “Saint Eloi” cozido.

	Teor
Humidade (%)	67,97 \pm 1,15
Gordura (%)	1,26 \pm 0,45
Cinzas (%)	1,02 \pm 0,09
Proteínas (%)	8,08 \pm 0,16
Hidratos de Carbono (%)	22,67 \pm 1,85
Valor Energético (kcal)	130,34

O feijão cozido é maioritariamente constituído por água com 67,97%. Durante a cozedura o tegumento do feijão encontra-se directamente envolvido na absorção da água. Alguns trabalhos indicam a existência de uma proporção inversa entre o tempo de cozedura e a absorção de água, sendo que quanto maior a capacidade de absorção menor o tempo de cozedura. Assim, os teores de água variam de cultivar para cultivar, segundo as propriedades e características dos tegumentos (permeabilidade e composição), composição química, temperatura de cozedura (a absorção aumenta com a temperatura) e condições fisiológicas das cultivares (Paula, 2004).

Nas proteínas obteve-se um valor de 7,08% em matéria fresca, correspondente a 22,10% em matéria seca. Este valor é ligeiramente inferior aos valores obtidos por Rámirez-Cárdenas *et al.* (2008), que oscilaram entre os 23,25% a 26,29% . Por sua vez, Pires *et al.* (2005) registaram valores muito idênticos, que variaram entre os 18,17% e 25,93% assim como Siddiq *et al.* (2009), que referiram valores entre os 20,93% e 23,32%.

Nos hidratos de carbono registou-se um valor de 22,67% em matéria fresca, ao qual correspondente 70,78% em matéria seca. Este valor é similar ao referido por Rámirez – Cárdenas *et al.* (2008), os quais registaram teores que variaram de 68,18% a 70,78% e igualmente semelhantes aos valores referidos por Pires *et al.* (2005), que oscilaram entre os 68,92% a 76,75%.

O teor de cinzas foi de 1,02% em matéria fresca, correspondente a 3,18% em matéria seca. Este valor é muito semelhante aos valores apresentados por Rámirez – Cárdenas *et al.* (2008), compreendidos entre 3,61% a 4,23%, e aos registados por Pires *et al.* (2005), que variaram entre os 3,36% a 4,17%.

O teor em gordura foi de 1,26% em matéria fresca, correspondente a 3,93% em matéria seca. Siddiq *et al.* (2009) referiram valores semelhantes no intervalo de 3,14% a 3,53%, enquanto que Pires *et al.* (2005) e Rámirez – Cárdenas *et al.* (2008), registaram teores inferiores que oscilaram de 0,98% a 1,35%, e 1,27 a 2,44%, respectivamente.

O feijão é um alimento rico em nutrientes, sendo um complemento importante para a dieta. Estes resultados demonstram que os feijões fornecem uma boa fonte de proteínas e hidratos de carbono cujos benefícios já foram mencionados anteriormente. É importante ainda salientar que o custo de fontes proteicas de origem animal é bastante superior relativamente à produção de fontes de origem vegetal. Como também evidenciado, o teor de gordura do feijão é muito baixo e, como são de origem vegetal, são isentos de colesterol.

3.2.2. Actividade antioxidante e quantificação de compostos fenólicos de dez variedades de feijão

Teor em Fenóis totais

No Quadro 7, apresentam-se os rendimentos de extracção e os fenóis totais, para cada variedade de feijão estudada.

Quadro 7- Rendimentos de extracção e teor em fenóis totais das diferentes cultivares em estudo.

Variedade	Rendimento Extracção (%)	Fenóis totais¹	Variedade	Rendimento extracção (%)	Fenóis Totais¹
Almonga	7,83±0,40	4,19±0,18	Curruquilla	7,50±0,25	36,68±4,13
Tremaya	7,60±1,40	4,77±0,68	Moradillo	10,54±0,42	45,27±6,91
Tropical	8,12±1,38	4,91±1,10	Tañoga	4,10±1,13	78,74±21,03
Casasola	7,72±0,74	4,90±0,20	Cárdeno	10,35±0,73	40,94±3,49
Corcal	9,41±0,28	4,66±0,09	Cardina	8,97±0,55	30,59±1,38

¹ mg equivalentes ácido Cafeico/100 g de feijão.

O rendimento de extracção variou entre 4,10% e 10,54%, para as variedades Tañoga e Moradillo, respectivamente. Das variedades estudadas a Tañoga apresentou o maior teor em fenóis totais, com 78,74 mg equivalentes de ácido cafeico/100 g de feijão, enquanto que a Almonga apresentou o teor mais baixo com 4,19 mg de equivalentes de ácido cafeico/100 g de feijão.

Estes resultados encontram-se dentro dos valores obtidos por Luthria e Pastor-Corrales (2006) e Heimler *et al.* (2005), embora as cultivares sejam provenientes de áreas geográficas diferentes.

Actividade Antioxidante

Para uma melhor compreensão e discussão dos resultados, a apresentação das amostras encontra-se dividida segundo a sua coloração (variedades brancas e coloridas).

O poder antioxidante dos extractos, em termos do efeito bloqueador de radicais DPPH, das diferentes variedades de feijão aumentou à medida que a concentração de extracto também aumentou (Figura 5, 6).

Das variedades brancas, a Corcal e a Tremaya apresentaram um efeito bloqueador similar para as diferentes concentrações. Foi nestas duas variedades que se verificou um maior efeito antioxidante e onde se registaram os valores de EC₅₀ mais baixos (Figura 7).

A variedade Almonga foi a que apresentou o efeito bloqueador mais baixo até à concentração de 20 mg/ml, e a que obteve o valor de EC₅₀ mais elevado (Figura 7).

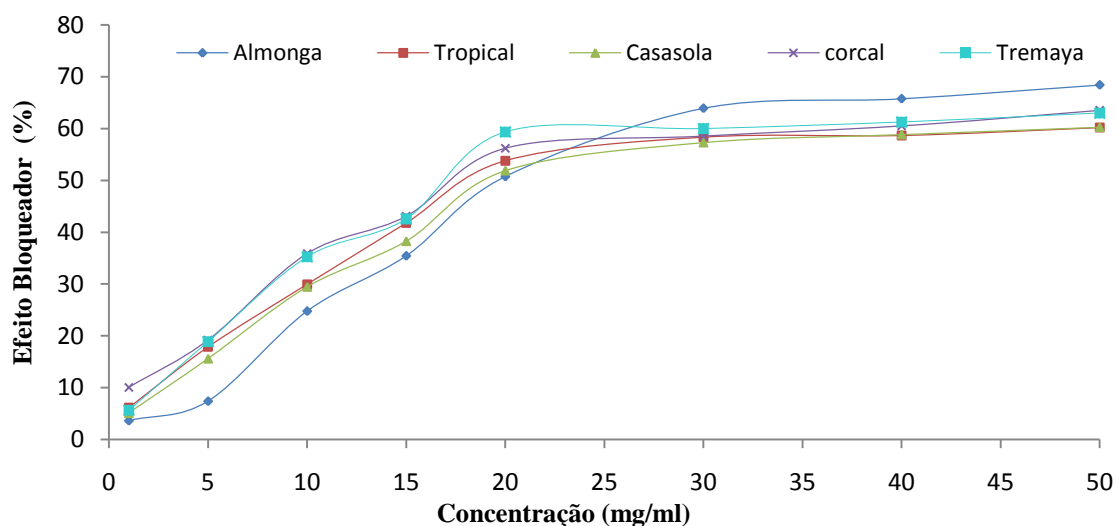


Figura 5 - Valores do efeito bloqueador de radicais de DPPH obtidos para os extractos de variedades brancas.

Relativamente aos extractos das variedades de feijão coloridas, estas apresentaram um efeito bloqueador elevado mesmo a concentrações baixas, facto também demonstrado pelos valores de EC₅₀ obtidos (Figura 7).

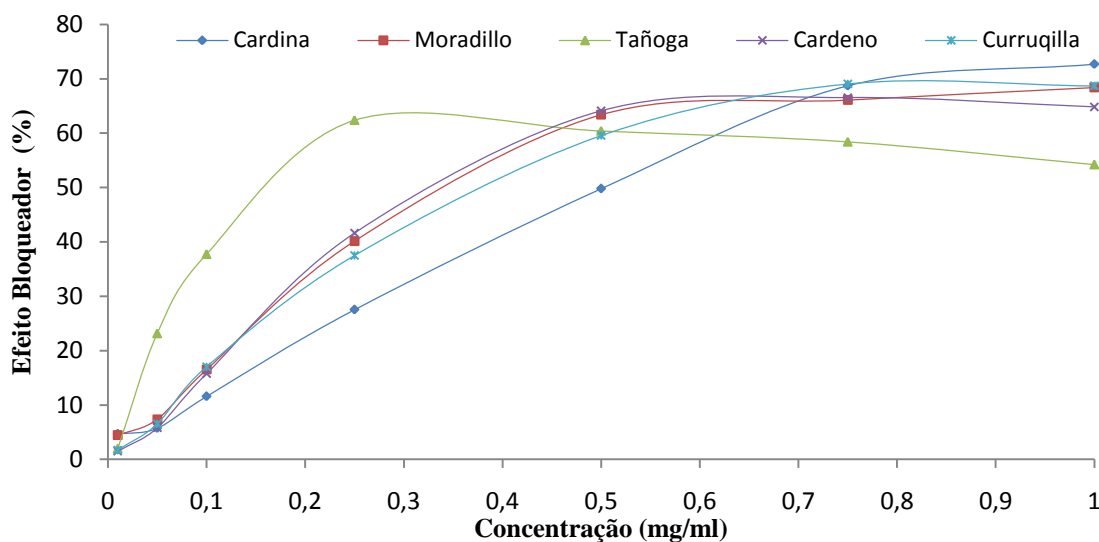


Figura 6 - Valores do efeito bloqueador de radicais de DPPH obtidos para os extractos de variedades coloridas.

A variedade que apresentou maior efeito bloqueador foi a Tañoga, sendo também a que obteve o menor valor de EC_{50} . A Cardina foi a variedade onde se verificou o menor efeito bloqueador, com o EC_{50} mais elevado (Figura 7).

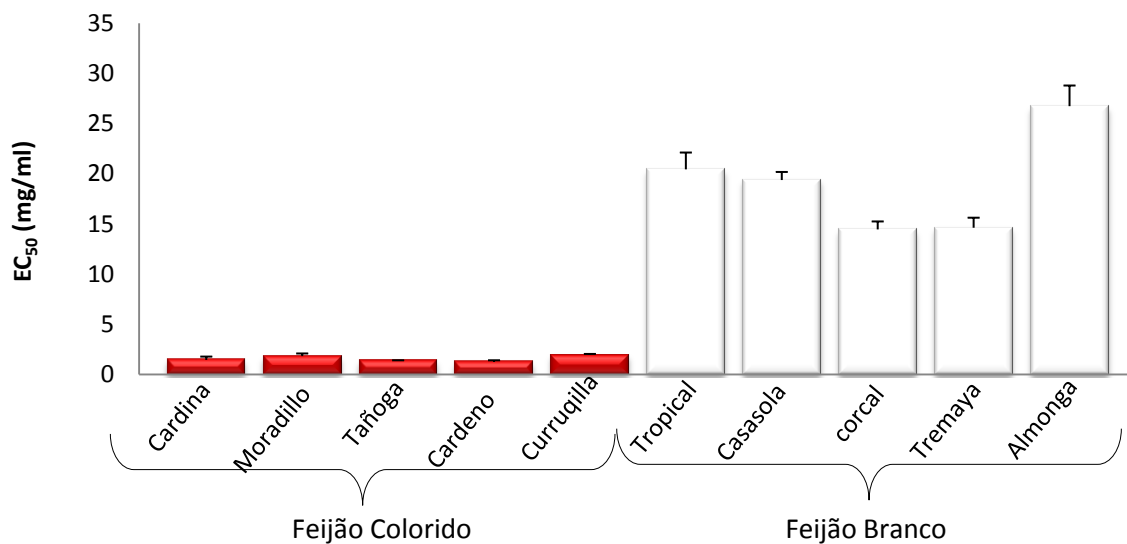


Figura 7 - Valores de EC_{50} (mg/ml) dos diferentes extractos de feijão para o DPPH.

Dessa forma, as variedades de feijão colorido apresentaram um potencial antioxidante superior ao das variedades brancas. A concentrações mais baixas obtiveram maior efeito bloqueador e menores valores de EC_{50} .

A actividade antioxidante dos extractos de todas as variedades de feijão (branco e colorido) determinada pelo método do poder redutor, aumentou em função da concentração de extracto (Figura 8 e 9).

A variedade de feijão branco que apresentou valores mais elevados de poder redutor foi a Corcal, sendo a que obteve o valor mais baixo de EC_{50} , enquanto que a Almonga foi a que registou valores mais baixos, apresentando também um valor elevado de EC_{50} (Figura 8 e 10).

A variedade de feijão colorida com maior poder redutor foi a Cardeno, onde se observou também um baixo valor de EC_{50} e, a Curruquilla foi a que obteve valores mais baixos de poder redutor com elevado valor de EC_{50} (Figura 9 e 10).

Na literatura os valores de EC_{50} variam significativamente dependendo em parte, das condições ambientais e áreas geográficas provenientes. Segundo Heimler *et al.* (2005) os valores de EC_{50} (mg/ml) oscilaram de 39 a 2810 mg/ml.

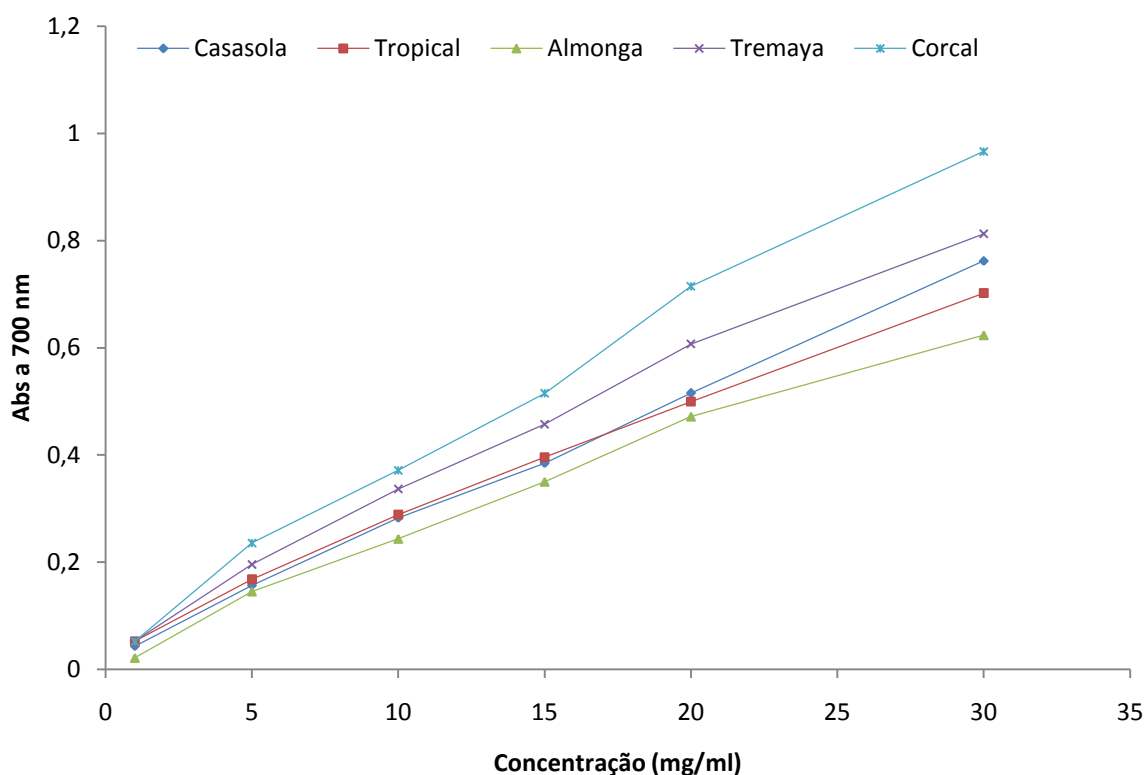


Figura 8- Valores de poder redutor obtidos para os extractos de variedades brancas.

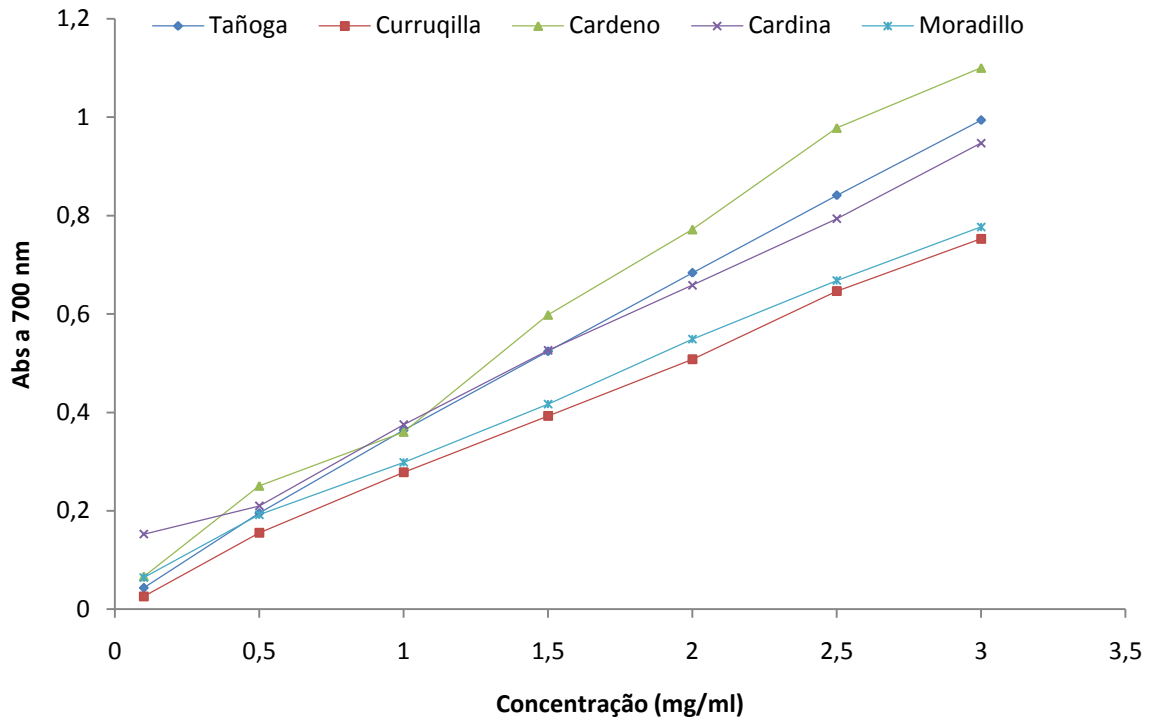


Figura 9- Valores de poder redutor obtidos para os extractos de variedades coloridas.

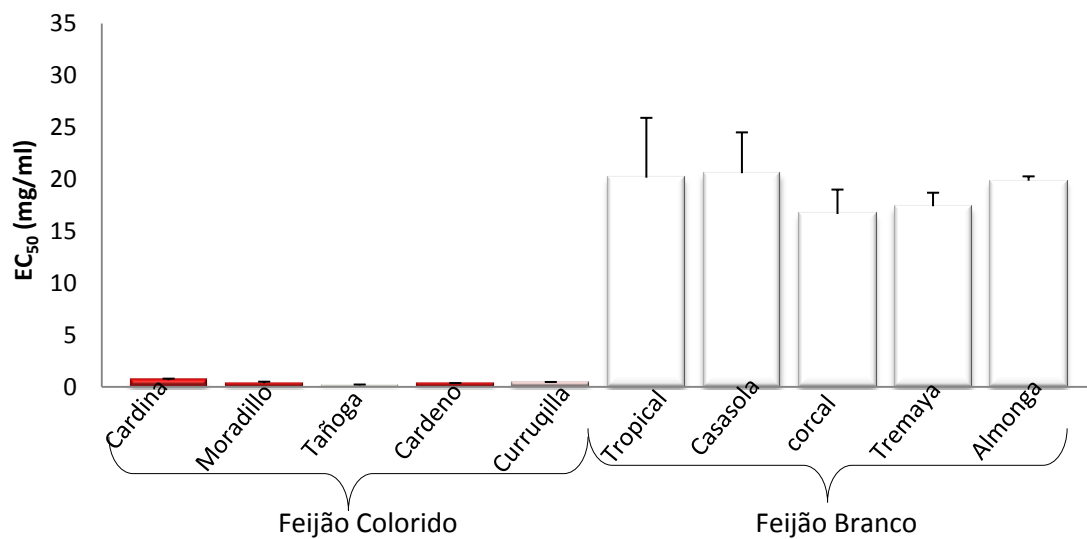


Figura 10- Valores de EC₅₀ (mg/ml) dos diferentes extractos de feijão para o poder Redutor

Os resultados apresentados estão de acordo com alguns estudos que referem que há uma relação entre a intensidade da cor do tegumento e o teor de polifenóis.

A maior concentração de compostos fenólicos encontra-se presente no tegumento do feijão (Shahidi *et al.*, 2001), sendo a cor do tegumento determinada pela presença de flavonóides, antocianinas e taninos condensados (Beninger e Hosfield, 2003).

Os feijões coloridos têm um teor de compostos fenólicos superior aos dos feijões brancos e, em geral, os feijões coloridos contêm maior teor de flavonóides. Vários trabalhos referem que o teor de taninos é superior nos feijões coloridos comparativamente com os feijões claros, tendo assim uma actividade antioxidante mais elevada (Rámirez – Cárdenas *et al.*, 2008; Pellegrini *et al.*, 2006; Esteves *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2009; Beninger e Hosfield, 2003).

O feijão faz parte integrante das dietas de grande parte da população mundial, contudo, os efeitos benéficos que esta leguminosa proporciona à saúde ainda são fortemente ignorados.

De um modo geral, as várias cultivares estudadas apresentaram uma actividade antioxidante elevada, estando de acordo com vários estudos que reportam o elevado contributo do feijão enquanto alimento bioactivo, rico em antioxidantes. Este aspecto é importante na promoção da saúde e inclusão do feijão nas dietas com vista à redução de várias doenças crónicas. Estando os feijões coloridos associados a um maior teor de compostos fenólicos, é importante investir em dietas à base de feijão escuro ou colorido.

Os resultados obtidos, poderão servir de base para futuros trabalhos de melhoramento. A caracterização e conhecimento dos genes que controlam a formação de compostos fenólicos, assim como o conhecimento da sua actividade antioxidante permite aos investigadores seleccionar e desenvolver variedades de feijão com maior actividade antioxidante.

4. Conclusão

O tempo de cozedura é determinante no teor de compostos fenólicos dos extractos de feijão. Os extractos que apresentaram maior conteúdo fenólico e maior potencial antioxidante, com menores valores de EC_{50} , foram os cozidos durante mais tempo (90 minutos).

No feijão cozido existe uma quantidade elevada de água, com quantidades apreciáveis de proteínas e hidratos de carbono e teores reduzidos de lípidos.

Das variedades de feijão estudadas a Tañoga foi a que apresentou maior teor em fenóis totais, sendo também a que apresentou maior potencial antioxidante (menor valor de EC_{50}), em termos do efeito bloqueador de radicais de DPPH. Em termos de poder redutor, foi a Cardeno que apresentou a maior actividade.

De uma maneira geral, as amostras com maior teor em fenóis totais apresentaram maior actividade antioxidante e, as variedades coloridas apresentaram maior teor em fenóis totais e uma actividade antioxidante superior à das variedades brancas.

5. Referências Bibliográficas

Barampama, Z.; Simard, R.E., 1993. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in Burundi. *Food Chemistry*, **47**, 159-167.

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

Beninger, C.W.; Hosfield, G.L., 1999. Flavonol glycosides from Montcalm dark red kidney bean: implications for the genetics of seed coat color in *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 4079-4082.

Beninger, C.W.; Hosfield, G.L., 1998. Flavonol glycosides from the seed coat of a new Manteca-type dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 2906–2910.

Beninger, C.W.; Hosfield, G.L., 2003. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 7879–7883.

Bennink, M.R.; Barrett, K.G., 2004. Total phenolic content in canned beans. *Bean Improvement Cooperative*, **47**, 211-212.

Boateng, J.; Verghese, M.; Walker L.T.; Ogutu, S., 2008. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus* spp. L.). *Food Science and Technology*, **41**, 1541-1547.

Boateng, J.; Verghese, M.; Walker L.T.; Shackelford, L.; Chawan, C.B., 2008. Antitumoral and Cytotoxic Properties of dry beans (*Phaseolus* sp. L.): An in vitro and in vitro model. *Internation Journal of Cancer research*, **4**, 41-51.

Bodinhham, C.L.; Frost, G.S.; Robertson, M.D., 2009. Acute ingestion of resistant starch reduces food intake in healthy adults. *British Journal of Nutrition*, **27**, 6-7.

Bourdon, I., 2001. Beans, as a source of dietary fiber, increase cholecystokinin and apolipoprotein B48 Response to test meal in men. *Journal of Nutrition*, **13**, 1485-1490.

Brackmann, A.; Neuwald, D.A.; Ribeiro, N.D.; Freitas, S.T., 2002. Conservação de três genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo carioca em armazenamento refrigerado e em atmosfera controlada. *Ciência Rural*, **32**, 911-915.

Bravo L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. *Nutrition Reviews*, **56**, 317-33.

Calabrese, V.; Lodi, R.;Tonon, C.; D'Agata, V.; Sapienza, M.; Scapagnini, G.; Mangiameli, A.;Pennisi, G.; Stella, A.M.; Butterfield, D.A., 2005. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. *Journal of the Neurological Sciences*, **233**, 145-62.

Cardador-Martinez, A.; Loarca-Pina, G.; Oomah, B.D., 2002. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 6975-6980.

Celleno, L.; Tolaini, M.V.; D'Amore, A.; Perricone, N.V.; Preuss, H.G., 2007. A Dietary supplement containing standardized *Phaseolus vulgaris* extract influences body composition of overweight men and women. *Journal of Medical Sciences*, **4**, 45-52.

Chevion, S.; Roberts, M.A.; Chevion, M., 2000. *Free Radical Biology and Medicine*, **28**, 860-870.

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

Cos, P.; Ying, L.; Calomme, M.; Hu, J. P.; Cimanga, K.; Van Poel, B., 1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, **61**, 71–76.

De-Leon, L.; Elias, L.; Bressani, R., 1992. Effect of salt solutions on the cooking time, digestibility of dry beans as affected by processing. *Food Research International*, **25**, 131-136.

Dinelli, G.; Bonetti, A.; Minelli, M.; Marotti, I.; Catizone, P.; Mazzanti, A., 2006. Content of flavonols in Italian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ecotypes. *Food Chemistry*, **99**, 105-114.

Dueñas, M.; Hernandez, T.; Estrella, I., 2006. Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chemistry*, **98**, 95-103.

Espín, J.C.; Soler-Rivas, C.; Wichers, H.J., 2000. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetables oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 648-656.

Espinosa-Alonso, L.G.; Lygin, A.; Widholm, J.M.; Valverde, M.E.; Paredes-Lopez, O., 2006. Polyphenols in wild and weedy Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 4436-4444.

Esteves, A. M., 2000. Comparação química e enzimática de seis linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Dissertação em Ciência dos Alimentos– Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG.

Finley, J.W.; Burrell, J.; Reeves, P.G., 2007. Pinto Bean Consumption Changes SCFA Profiles in Fecal Fermentations, Bacterial Populations of the Lower Bowel, and Lipid Profiles in Blood of Humans. *Journal of Nutrition*, **137**, 2391-2398.

Garcia, E.; Filisetti, T.; Udaeta, J.; Lajolo, F., 1998. Hard-to-Cook Beans (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of phenolic compounds and pectates. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **46**, 2110–2116.

Geil, P.B.; Anderson, J.W., 1994. Nutrition and health implications of dry beans: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, **13**, 549–558.

Granito, M.; Paolini, M.; Perez, S., 2008. Polyphenols and antioxidant capacity of *Phaseolus vulgaris* stored under extreme conditions and processed. *Food Science and Technology*, **41**, 994–999.

Hatano, T.; Kagawa, H.; Yasuhara, T.; Okuda, T., 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **36**, 2090-2097.

Heimler, D.; Vignolini, P.; Dini, M. G.; Romani, A., 2005. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 3053 -3056.

Helmstadter, A., 2010. Beans and Diabetes: *Phaseolus vulgaris* Preparations as Antihyperglycemic Agents. *Journal of Medicinal Food*, **13**, 251-254.

Hughes, J.S.; Acevedo, E.; Bressani, R.; Swanson, B.G., 1996. Effects of dietary fiber and tannins on protein utilization in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Science & Human Nutrition*, **29**, 331-338

Kyriakidis, N.; Apostolidis, A.; Papazoglou, L.; Karathanos, V., 1997. Physicochemical studies of Hard-to-Cook beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Science and Food Agriculture*, **74**, 186–192.

Luthria, D.L.; Pastor-Corrales, M.A., 2005. Phenolic acid content of fifteen dry edible beans (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**, 205-211.

- Luthria, D.L.; Pastor-Corrales, M.A., 2006. Phenolic acids profiles of beans commonly consumed in United States. *Bean Improvement Cooperative Annual Report*, **49**, 6-7.
- Machado, C.M.; Ferruzzi, M.G.; Nielsen, S.S., 2008. Impact of the hard-to-cook phenomenon on phenolic antioxidants in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 3102-3110.
- Macz-Pop, G.A.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Pérez-Alonso, J.; González-Paramás, A.M., 2006. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, **94**, 448-456.
- Messina, M. J., 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **70**, 439-450.
- Naczki, M.; Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**, 95-111.
- Namiki, M., 1990. Antioxidants/antimutagens in food. *Journal of Nutrition*, **29**, 273-300.
- Ninfali, P.; Bacchiocca, M., 2003. Polyphenols and antioxidant capacity of vegetables under fresh and frozen conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 2222-2226.
- Obiro, W.C.; Zhang, T.; Jiang, B., 2008. The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* α -amylase inhibitor. *British Journal of Nutrition*, **100**, 1-12
- Oomah, B.D.; Cardador-Martinez, A.; Loarca-Pina, G., 2005. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **85**, 935-942.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, **44**, 307-315.

Pari, L.; Venkateswaran, S., 2003. Effect of an aqueous extract of *Phaseolus vulgaris* on plasma insulin and hepatic key enzymes of glucose metabolism in experimental diabetes. *Pharmazie*, **58**, 916-9.

Pari, L.; Venkateswaran, S., 2004. Protective role of *Phaseolus vulgaris* on changes in the fatty acid composition in experimental diabetes. *Journal of Medicinal Food*, **7**, 204-209.

Pellegrini, N.; Serafini, M.; Salvatore, S.; Del Rio, D.; Bianchi, M.; Brighenti, F., 2006. Total antioxidant capacity of spices, dried fruits, nuts, pulses, cereals and sweets consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Molecular Nutrition & Food Research*, **50**, 1030-1038.

Pietta, P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**, 1035-1042.

Pires, C.V.; Oliveira, M.A.G.; Cruz, G.A.D.R.; Mendes, F.Q.; De Rezende, S.T.; Moreira, M.A., 2005. Physicochemical composition of different cultivars of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Alimentação e Nutrição*, **16**, 157-162.

Prolla, I., 2006. Características físico-químicas de cultivares de feijão e efeitos biológicos da fracção fibra solúvel. *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal de santa Maria.

Pusztai, A.; Grant, G.; Buchan, W.C.; Bardocz, S.C.A.F.; Ewen, S.W., 1998. Lipid accumulation in obese Zucker rats is reduced by inclusion of raw kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) in the diet. *British Journal of Nutrition*, **79**, 213-21.

Ramarathanam, N.; Osawa, T.; Ochi, H.; Kawakish, S., 1995. The contribution of plant food antioxidants to humans health. *Trends in Food Science & Technology*, **6**, 75-82.

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**, 200-213.

Rehman, Z.U.; Shah, W.H., 2004. Domestic processing effects on some insoluble dietary fibre components of various food legumes. *Food Chemistry*, **87**, 613-617.

Rios, A.O.; Abreu, S. M. P.; Côrrea, A.D., 2003. Efeito da estocagem e das condições de colheita sobre algumas propriedades físicas, químicas e nutricionais de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, **23**, 39-45.

Ripado, M. F. B., 1992. O feijão: variedades, cultura, produção. *Publicações Europa-América*.

Rocha-Guzman, N.E.; Gallegos-Infante, R.F.; Gonzalez-Laredo, A.M.P; Ibarra-Perez, F.J., 2007. Antioxidant activity in cotyledon of black and yellow common Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Journal of Biological Sciences*, **2**, 112-117.

Sammán, N.; Maldonado, S.; alfaro, M.E.; Farfan, N.; Gutierrez, J., 1999. Composition of different bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) of northwestern Argentina (region NOA): cultivation zone influence. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 2685-2689,

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

Sgarbieri, V.C; Whitaker, J.R., 1982. Physical, chemical, and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. *Advances Food Research*, **28**, 93-166.

Shimelis, E.A.; Rakshit, S.K., 2005. Proximate composition and physic-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris*) varieties grown in Ethiopia. *Food Science and Technololy*, **38**, 331-338.

Siddiq, M.; Ravi, R.; Harte, J.B.; Dolan, K.D, 2009. Physical and functional characteristics of selected dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *Food Science and Technology*, **43**, 232–237.

Singleton, V.L.; Rossi, J.A. Jr., 1965. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**, 144–158.

Sosulski, F.W.; Dabroski, K.J., 1984. Composition of free and hydrolysable phenolic acids in the flours and hulls of ten legume species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **32**, 131–133.

Sotelo, A.; Souza, H.; Sanchez, M., 1995. Comparative study of the chemical composition of wild and cultivated beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant foods for Human Nutrition*, **47**, 93-100.

Sousa, C.M.M.; Silva, H.R.; Vieira, M.G.; Charlyton, M.C.A.; Costa, L.S.; Araújo, D.S.; Cavalcante, L.C.D; Barros, E.D.S.; Brandão, M.S.; P.; Chaves, M.H., 2007. Fenóis totais e actividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, **30**, 351-355.

Takeoka, G.R.; Dao, L.T.; Full, G.H.; Wong, R.Y.; Harden, L.A.; Edwards, R.H.; Berrios, J.D.J., 2003. Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 7040–7043.

Thomas, D.E.; Elliott, E.J.; Baur, L., 2007. Low glycaemic index or low glycaemic load diets for overweight and obesity. *Cochrane Database Systematic Reviews*, 18 (3):CD005105.

Thompson, M.D.; Thompson, H.J.; Brick, M.A.; McGinley J.N.; Jiang, W.; Zhu, Z.; Wolfe.; P., 2008. Mechanisms associated with dose-dependent inhibition of rat mammary carcinogenesis by dry bean (*Phaseolus vulgaris*, L.). *Journal of Nutrition*, **138**, 2091-2097.

Toledo, T.C.F.; Canniatti-Brazaca1, S.G., 2008. Avaliação química e nutricional do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) cozido por diferentes métodos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **28**, 355-360.

Tormo, M.A; Gil, I.; Romero, A.; Campillo J.E., 2006 White bean amylase inhibitor administered orally reduces glycaemia in type 2 diabetic rats. *British Journal of Nutrition*, **96**, 539-44.

Tsuda, T.; Osawa, T.; Oshima, K.; Kawakishi, S., 2003. Antioxidative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42**, 248–251.

Valko, M.; Rhodes, C.J.; Moncol J.; Izakovic, M.; Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico Biological Interection*, **160**, 1- 40.

Valko, M.; Izakovic, M.; Mazur, M.; Rhodes, C.J.; Telser, J., 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **266**, 37- 56.

Wander, A.E.; Gazzola, R.; Gazzola, J.; Ricardo, T.R.; Garagorry, F.L. 2007. Evolução da produção e do mercado mundial do feijão. *XLV Congresso da SOBER: Conhecimento para Agricultura do Futuro*, 4-8.

Winham, D.M; Hutchins, A.M.; Johnston, C. S., 2007. Pinto bean consumption reduces biomarkers for heart disease risk. *Journal of American College of Nutrition*, **26**, 243-249.

Yamaguishi, C.T., 2008. Processo biotecnológico para a obtenção de caldo de feijão em pó. Dissertação em processos biotecnológicos da Universidade Federal de Paraíba.

Yokoyama, P.L., 2002. Tendências de Mercado e Alternativas de Comercialização do Feijão. *Comunicado Técnico*, 43.

Sites consultados: <http://www.cnpaf.embrapa.br/feijao/historia.htm>, acessado no dia 5 de Abril de 2010.

