

Caracterização físico-química e atividade biológica de diferentes amostras de casulas, *Phaseolus vulgaris* L.

Edite Dias Lopes

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

Orientado por

Professora Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa

Professor Doutor José Alberto Perira

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo Júri

**Bragança
2014**

O traballo que se presenta teve o apoio financeiro do projeto: “*RED/AGROTEC – Red transfronteriza España Portugal de experimentación y transferencia para el desarrollo del sector agropecuario y agroindustrial*”, projeto financiado pelo POCTEP.



UE
FEDER
Investimos no seu futuro

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus orientadores. À Professora Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa, da Escola Superior Agrária, por toda a ajuda prestada na realização do trabalho laboratorial e escrito e disponibilidade, pela sua grande paciência e conselhos fornecidos, pela exigência e rigor.

Ao Professor Doutor José Alberto Pereira, da Escola Superior Agrária, pela disponibilidade e ajuda, pelas sugestões e ensinamentos prestados na realização deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, Teresa Gomes, Nuno Rodrigues, Luana Fernandes e a técnica de laboratório Céu Fidalgo pelo apoio, pela perseverança incentivo, auxílio, boa disposição e amizade, pelos conselhos e companhia, pela paciência e conhecimentos transmitidos ao longo do decorrer do trabalho, pois sem eles eu não teria conseguido alcançar os objetivos definidos.

Por fim, mas nunca em último, agradeço ao meu pai pelo esforço realizado, que permitiu que eu chegasse aqui, pelo seu constante apoio, incentivo e pelo seu amor.

Aos meus irmãos e ao namorado por me animar em todos os momentos e me ter ajudado quando mais precisei.

Índice

Resume	ix
Abstract	xi
CAPÍTULO I: Introdução e Objetivos do Trabalho	1
1.1. Caracterização química e atividade antioxidante.....	3
1.2. Importância do feijão na alimentação humana.....	7
1.3. Processamento do feijão.....	10
1.3.1. Armazenamento.....	10
1.3.2. Influência dos métodos de cozedura nas propriedades do feijão.....	10
1.4. Casulas.....	11
1.5. Objetivos do trabalho.....	11
CAPÍTULO II: Material e Métodos	12
2.1. Amostras de Casulas.....	13
2.2. Caracterização física das casulas.....	16
2.3. Determinação dos teores de humidade e cinzas das casulas secas.....	17
2.3.1 Teor de humidade.....	17
2.3.2 Teor de cinzas.....	17
2.4. Casulas Cozidas.....	18
2.4.1. Cozimento das Casulas.....	18
2.4.2. Avaliação Nutricional.....	18
2.4.2.1. Teor de humidade.....	18
2.4.2.2. Teor de cinzas.....	18
2.4.2.3. Proteína Bruta.....	18
2.4.2.4. Gordura Total.....	19
2.5. Atividade antioxidante da água de cozedura.....	19
2.5.1. Capacidade redutora total.....	20
2.5.2. Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH.....	20
2.5.3. Poder Redutor.....	21
CAPÍTULO III: Resultados e Discussão	22
3.1. Caracterização física das amostras de casulas estudadas.....	23
3.2. Cor do Feijão.....	31
3.3. Teores de humidade e cinzas das casulas secas.....	35

3.4. Estudo da Cozedura.....	40
3.5. Avaliação nutricional.....	42
3.6. Análise da atividade antioxidante da água de cozedura.....	49
3.7. Correlação.....	55
3.8. Análise de Componentes Principais (PCA).....	57
CAPÍTULO IV: Conclusões.....	61
CAPÍTULO V: Referências.....	63

Índice de Tabelas

Tabela 1: Composição química média de várias cultivares de feijão cozido.....	3
Tabela 2: Composição em aminoácidos de várias cultivares de feijão cozido (Ramirez-Cárdenas <i>et al.</i> , 2008).....	4
Tabela 3: Composição vitamínica média de cultivares de feijão (USDA, 2010).....	4
Tabela 4: Composição mineral média do feijão cozido.....	5
Tabela 5: Casulas e respetivos feijões adquiridos no ano de 2013.....	13
Tabela 6: Casulas e respetivos feijões relativos à produção do ano de 2009.....	15
Tabela 7: Caracterização física das vagens das casulas colhidas em 2013, com os valores expresso em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).....	22
Tabela 8: Caracterização física dos feijões e cascas das casulas colhidas em 2013, com os valores expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).....	26
Tabela 9: Caracterização física dos feijões presentes nas casulas colhidas em 2013, com os valores expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).....	28
Tabela 10: Caracterização física dos feijões e cascas das casulas colhidas em 2009, com os valores expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).....	30
Tabela 11: Cor do feijão em bom estado de conservação. Resultados expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).....	32
Tabela 12: Cor do feijão em mau estado de conservação. Resultados expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).....	34
Tabela 13: Teores de humidade, matéria seca e cinzas das cascas secas das diferentes amostras estudadas (média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx)).....	36
Tabela 14: Teores de humidade e matéria seca das cascas das amostras recolhidas no ano de 2009 (média \pm desvio padrão).....	37
Tabela 15: Teores de humidade, matéria seca e cinzas dos feijões secos das diferentes amostras sob estudo (média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx)).....	39
Tabela 16: Teores de humidade e matéria seca dos feijões secos das diferentes amostras recolhidas ao longo do ano de 2009 (média \pm desvio padrão).....	40
Tabela 17: Volume de água da demolha e adicionada durante a cozedura (ml) e o tempo de cozedura (min) das amostras de cascas amostradas em 2013 (média \pm desvio padrão).....	41

Tabela 18: Volume de água (ml) adicionado durante a cozedura e o respetivo tempo de cozedura (min) das amostras de feijão (média ± desvio padrão).....	42
Tabela 19: Teores de cinzas, proteína e gordura em várias amostras de cascas colhidas em 2013 depois de cozidas (média ± desvio padrão).....	44
Tabela 20: Teores de cinzas, proteína e gordura das várias amostras de feijão colhidas em 2013 depois de cozidas (média ± desvio padrão).....	48
Tabela 21: EC ₅₀ (mg/ml) dos diferentes extratos obtidos a partir da água de cozedura de cascas e feijão em relação ao efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e poder redutor (média ± desvio padrão).....	54
Tabela 22: Coeficientes de correlação determinados entre os parâmetros de cor do feijão e a capacidade redutora total, efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e o poder redutor para as amostras de cascas e feijão.....	56

Índice de Figuras

Figura 1: Capacidade redutora total (mg GAE/ g extrato) dos diferentes extratos de cascas sob estudo.....	49
Figura 2: Capacidade redutora total (mg GAE/ g extrato) dos diferentes extratos de feijão sob estudo.....	50
Figura 3: Valor do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH obtidos para os extratos das águas de cozedura das amostras de cascas.....	51
Figura 4: Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH obtidos para os extratos das águas de cozedura das amostras de feijão.....	52
Figura 5: Valores do poder redutor obtidos para os extratos das águas de cozedura das amostras de cascas.....	52
Figura 6: Valores do poder redutor obtidos para os extratos das águas de cozedura das amostras de feijões.....	53
Figura 7: Análise de componentes principais aplicada às cascas, tendo em conta os teores de gordura, cinzas, humidade (TH) e proteína.....	57
Figura 8: Análise de componentes principais aplicada às cascas, tendo em conta a capacidade redutora total (CRT), EC ₅₀ do poder redutor e EC ₅₀ do efeito bloqueador dos radicais livres DPPH.....	58
Figura 9: Análise de componentes principais aplicada aos feijões, tendo em conta os teores de gordura, cinzas, humidade (TH) e proteínas.....	59
Figura 10: Análise de componentes principais aplicada aos feijões, tendo em conta a capacidade redutora total (CRT), EC ₅₀ do poder redutor, EC ₅₀ do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH na água de cozedura e as características de cor do grão.....	60

Resumo

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa largamente consumida no mundo, estando-lhe associadas diversas propriedades nutricionais. Na região de Trás os Montes existe a tradição de colher o feijão ainda verde na vagem, quando o grão se encontra bem formado, mas ainda não seco. Depois de se encontrar bem seco o grão no interior da vagem, os feijões são guardados em sacos de pano para consumir nos dias frios de inverno. A este produto tão típico desta região é dado o nome de cascas ou casulas. Com o presente trabalho procedeu-se à avaliação das características físicas e químicas de 11 amostras de casulas antes e após a cozedura, provenientes de diferentes localidades, no ano de 2013, nomeadamente no que diz respeito à cor, humidade, cinzas, proteína, gordura e atividade antioxidante.

Em relação à cor, as amostras apresentaram tonalidades distintas, resultado das suas cores diferentes. Os teores de humidade das cascas e dos feijões secos variaram significativamente entre si, ao contrário do teor em cinzas. O tempo médio de cozedura das amostras de cascas foi superior ao dos feijões, não sendo proporcional ao volume de água adicionado. A absorção de água ao longo do cozimento fez com que as amostras de feijões e cascas cozidos fossem essencialmente constituídas por água. Pelo contrário, o cozimento das amostras de cascas e feijões acarretou uma diminuição nos teores de cinzas (minerais), sugerindo que as águas de cozedura devem ser aproveitadas. Os maiores teores de proteína em peso húmido foram determinados na amostra Milhão A2, tanto para as cascas como para os feijões ($1,11 \pm 0,10$ e $9,32 \pm 0,97\%$, respetivamente). Em relação ao teor de gordura, os maiores valores foram obtidos nas cascas de Vale de Nogueira ($1,17 \pm 0,09\%$, em peso húmido) e nos feijões de Cércio A2 ($7,3 \pm 0,6\%$, em peso húmido), demonstrando a existência de diferenças na composição das casulas.

Na água de cozedura dos feijões e das cascas procedeu-se à avaliação da capacidade redutora total e da atividade antioxidante, através do efeito bloqueador dos radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e do poder redutor. Na capacidade redutora total observaram-se diferenças significativas entre as amostras de cascas, tendo os valores variado entre 9,73 mg GAE/ g de extrato (Milhão A2) e 23,23 mg GAE/ g de extrato (Milhão A3), bem como no feijão entre 7,59 mg GAE/ g de extrato (Frieira A1) e 20,40 mg GAE/ g de extrato (Vale de Nogueira). A amostra de cascas colhida na localidade de Frieira A2 e a amostra de feijão Milhão A2 foram as que apresentaram maior potencial antioxidante em termos de efeito bloqueador de radicais livres DPPH,

uma vez que apresentaram os menores valores de EC₅₀ (concentração de extrato que origina um efeito bloqueador igual a 50%), iguais a 2,95±0,06 e 1,24±0,01 mg extrato/mL, respetivamente. A amostra de cascas com maior poder redutor foi colhida em Milhão (A3) e a de feijão em Frieira (A3), com valores de EC₅₀ (concentração de extrato que originou uma absorvância de 0,5 a 700nm) iguais a 3,42±0,34 e 2,88±0,18 mg extrato/mL, respetivamente. As amostras coloridas de feijão, designadamente Frieira A2, Frieira A3, Genísio, Gimonde, Milhão A1, Milhão A2 e Vale de Nogueira apresentaram uma maior capacidade redutora total e um efeito antioxidante superior ao dos feijões de amostras de pele branca. Tendo em conta as propriedades físicas (cor) e químicas das casulas referidas anteriormente foi possível distinguir grupos de amostras com propriedades semelhantes após realização de uma análise de componentes principais, ferramenta que ajudará no futuro à classificação das casulas vendidas no mercado.

Palavras-chave: Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), casulas, cozimento, caracterização físico-química, atividade antioxidante.

Abstract

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a world widely consumed leguminous, being associated diverse nutritional properties to this product. In Trás-os-Montes region there is the tradition to collect beans when they are still in the green pod, when the grain is well-formed but not yet dry. After well dried, the grain is stored in cloth bags to be consumed during the cold winter days. This typical local product has the name of “*cascas*” or “*casulas*”. In order to increase the knowledge on this product, the main aim of the present work was to perform the physic-chemical characterization of different samples of “*casulas*” before and after cooking (boiling), regarding color, water content, ash, protein, fat and antioxidant activity.

Regarding color, the samples showed distinct tonalities due to their different colors. The water content of dried beans and peel samples were significantly different from each other, unlike the ash contents. The mean cooking time for the peel samples was higher than that of bean samples and it wasn't proportional to the added water volume. The water absorption throughout cooking made that beans and peels cooked samples were essentially composed by water. On the other hand, cooking caused a decrease in the levels of ash (minerals), suggesting that boiling water should be used in the preparation of other dishes. The highest protein wet weight levels were determined in “Milhão A2” sample either in peels and beans (1.11 ± 0.10 and $9.32\pm 0.97\%$, respectively). Regarding fat content, the highest values were obtained in the shell samples of “Vale de Nogueira” ($1.17\pm 0.09\%$, wet weight) and beans of “Cércio A2” ($7.3\pm 0,6\%$ by wet weight), showing differences on “*casulas*” composition.

In the boiling water of beans and peels, the total reducing capacity and antioxidant activity, determined by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil) radical scavenging capacity and reducing power assays, were determined. Concerning total reducing capacity significant differences were observed between the different peel samples. The values varied between 9.73 mg GAE / g extract (“Milhão A2”) and 23.23 mg GAE / g extract (Milhão A3), as well as in beans between 7.59 mg GAE / g extract (“Frieira A1”) and 20.40 mg GAE / g extract (“Vale de Nogueira”). “Frieira A2” shell and “Milhão A2” bean samples showed the highest antioxidant potential in terms of DPPH radical scavenging capacity, once these presented the lowest EC_{50} values (extract concentration that causes a 50% DPPH radical scavenging capacity) equal to 2.95 ± 0.06 and 1.24 ± 0.01 mg extract / mL, respectively. The peel and bean samples with the

highest reducing power were collected on “Milhão (A3)” and “Frieira A3”, respectively. These samples had EC₅₀ values (extract concentration that originated an absorbance of 0.5 at 700 nm) equal to 3.42±0.34 and 2.88±0.18 mg extract / mL, respectively. The colorful bean samples, namely “Frieira A2”, “Frieira A3”, “Genísio”, “Gimonde”, “Milhão A1”, “Milhão A2” and “Vale de Nogueira”, showed a higher total reducing capacity and antioxidant effect than white skin bean samples. Taking into account the physico (color) and chemical properties of “*casulas*” earlier mentioned it was possible to differentiate several groups formed by samples with similar properties after conducting a principal component analysis, tool that will help in the future the classification of “*casulas*” sold on market.

Keywords: Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), “*casulas*”, cooking, physico-chemical characterization, antioxidant activity.

CAPÍTULO I

Introdução e Objetivos do Trabalho

O feijão é um dos alimentos mais antigos, que continua a ser cultivado na atualidade em muitas regiões do mundo, o que faz dele a leguminosa mais consumida na dieta humana (Messina, 1999). Portugal é um País deficitário na produção desta leguminosa, tendo importado em 2004, 32000 toneladas de feijão em grão (INE, 2004).

A região de Trás-os-Montes tem uma grande tradição na produção e consumo do feijão. Em 2006 contribuiu com uma produção anual de 16,0% em grão da produção nacional (INE, 2006). Nesta região encontra-se diversas variedades desta leguminosa, que se diferenciam nas características de produção, como o hábito de crescimento, tamanho, forma, cor da vagem e cor da semente. A produção das diferentes amostras é influenciada pelo meio ambiente (Barroso, 2007).

O feijão comum encontra-se incluído na classe das Dicotiledóneas, na família das leguminosas, subfamília Papilionoidae e género *Phaseolus*. O género *Phaseolus* é constituído aproximadamente por 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 (Prolla, 2006).

O feijoeiro é uma planta herbácea, anual, com morfologia variável, consoante as cultivares, que possui folhas compostas, pecioladas e trifoliadas. O feijoeiro é uma planta trepadeira ou rasteira, levemente pubescente, cujo ciclo de vida varia aproximadamente entre 65 a 120 dias, dependendo da cultivar e das condições da época de cultivo. As flores apresentam um cálice com cinco sépalas e uma corola de cinco pétalas, de modo a originar uma vagem com características variáveis consoante as variedades. As vagens podem ser retas ou ligeiramente curvas, achatadas ou arredondadas, com bico reto ou curvado, e têm em geral 9 a 12 cm de comprimento, e 3 a 7 sementes (Prolla, 2006).

As sementes desenvolvem-se em local definitivo desde o início da primavera até meados do verão. Em Portugal e em todo o hemisfério norte, a multiplicação das sementes ocorre entre os meses de Março a Julho (Barroso, 2007).

Os produtores de feijão por vezes vêem as suas culturas diminuir de produtividade ou qualidade do produto, devido ao ataque de pragas e doenças. Entre as principais pragas encontram-se os afídios, os ácaros e o gorgulho. As principais doenças detetadas são de origem bacteriana, vírica e fúngica. De entre as bacterioses destacam-se as provocadas pelas *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola*, *P. s.* pv. *Syringae* *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli*. As doenças causadas por vírus são várias, como por exemplo, as resultantes do “*Bean common mosaic virus*” (BCMV) e “*Bean common*

mosaic necrosis virus” (BCMNV). As doenças fúngicas destacam-se pela mancha-angular (*Phaeoisariopsis griseola*), a antracnose (*Colletotrichum sp.*), a ferrugem (*Uromyces appendiculatus*), o oídio (*Erysiphe polygoni*) e o bolor branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) (Ripado, 1992).

1.1. Caracterização química e atividade antioxidante

A composição química dos alimentos é um fator cada vez mais importante na qualidade do produto final. A composição química das sementes de feijão é variável, dependendo da variedade, origem, localização, clima, condições ambientais, tipo de solo, armazenamento, processamento e modificações genéticas (Barampama e Simard 1993).

A variabilidade na composição química pode ser também atribuída ao ano de cultura, uma vez que se verifica que o perfil nutricional pode variar de ano para ano (Barampama e Simard, 1993; Sotelo *et al.*, 1995; Sammán, 1999). Na Tabela 1 apresentam-se os valores médios para a composição química do feijão. Verifica-se que o constituinte maioritário do feijão são os hidratos de carbono e os minoritários os lípidos.

Tabela 1: Composição química média de várias cultivares de feijão cozido.

	Valor	Referências
Humidade (%)	7,7 -22	Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008); Silva (2010)
Proteína (%)	18 -26	Sammán <i>et al.</i> (1999); Sathe (2002); Shimelis (2005); Pires <i>et al.</i> (2005); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008); Siddiq <i>et al.</i> (2009)
Gordura (%)	0,7 -1,9	Sammán <i>et al.</i> (1999); Sathe (2002); Shimelis (2005); Pires <i>et al.</i> (2005); Mesquita <i>et al.</i> (2007); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008); Siddiq <i>et al.</i> (2009)
Hidratos de Carbono (%)	56 -77	Sammán <i>et al.</i> (1999); Sathe (2002); Shimelis (2005); Pires <i>et al.</i> (2005); Mesquita <i>et al.</i> (2007); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008); Siddiq <i>et al.</i> (2009)
Cinzas (%)	3,3 -4,3	Sammán <i>et al.</i> (1999); Sathe (2002); Shimelis (2005); Pires <i>et al.</i> (2005); Mesquita <i>et al.</i> (2007); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008); Siddiq <i>et al.</i> (2009)
Fibras (%)	4,5 -9,2	Sammán <i>et al.</i> (1999); Sathe (2002); Shimelis (2005); Pires <i>et al.</i> (2005); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008); Siddiq <i>et al.</i> (2009)

A nível da composição dos teores totais de aminoácidos no feijão, estes variam entre 0,20 e 2,26 mg/g (Ramirez-Cárdenas *et al.*, 2008). Na Tabela 2 estão descritos os teores destes componentes no feijão cozido.

Tabela 2: Composição em aminoácidos de várias cultivares de feijão cozido (Ramirez-Cárdenas *et al.*, 2008).

Aminoácidos	Teor (mg/g)
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
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

Os teores de algumas vitaminas presentes no feijão como evidenciadas na Tabela 3, segundo a USDA (2010) e tal como descrito na base de dados nacional para referência padrão, designadamente a *National Nutrient Database for Standart Reference*. Observa-se que os teores das vitaminas variam entre 0,21 e 16,71 mg/ 100 g, sendo a vitamina K a presente em maior quantidade, ao contrário da vitamina A.

Tabela 3: Composição vitamínica média de cultivares de feijão (USDA, 2010).

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

A composição mineral do feijão é variável de acordo com a variedade, estando as concentrações compreendidas entre 0,8 e 1542,5 mg/g (Tabela 4). No feijão o mineral presente em maiores quantidades é o potássio.

Tabela 4: Composição mineral média do feijão cozido.

Feijão		
Minerais	Teor (mg/g)	Referências
Ferro	6,02 -18	Sammán <i>et al.</i> (1999); Barampama e Simard (1993); Esteves (2000); Pires <i>et al.</i> (2005); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008)
Cobre	0,8 -2,74	Sammán <i>et al.</i> (1999); Barampama e Simard (1993); Esteves (2000); Pires <i>et al.</i> (2005); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008)
Zinco	2,5 - 6,08	Sammán <i>et al.</i> (1999); Barampama e Simard (1993); Esteves (2000); Pires <i>et al.</i> (2005); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008)
Cálcio	86 -207,41	Sammán <i>et al.</i> (1999); Barampama e Simard (1993); Esteves (2000); Pires <i>et al.</i> (2005); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008)
Magnésio	28,1- 239,47	Sammán <i>et al.</i> (1999); Barampama e Simard (1993); Esteves (2000); Pires <i>et al.</i> (2005); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008)
Manganês	1,31 - 2,60	Sammán <i>et al.</i> (1999); Barampama e Simard (1993); Esteves (2000); Pires <i>et al.</i> (2005); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008)
Potássio	442 -1542,5	Sammán <i>et al.</i> (1999); Barampama e Simard (1993); Esteves (2000); Pires <i>et al.</i> (2005); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008)
Fósforo	295 -542	Sammán <i>et al.</i> (1999); Barampama e Simard (1993); Esteves (2000); Ramírez-Cárdenas <i>et al.</i> (2008)

Os compostos fenólicos são provenientes do metabolismo secundário das plantas e são fundamentais para o seu crescimento e reprodução. Os compostos formam-se em condições de stress como infeções, fermentos, radiações UV, entre outros (Naczki *et al.*, 2004). Os compostos fenólicos apresentam propriedades antioxidantes. A sua presença melhora as propriedades sensoriais dos alimentos, como a cor, o sabor e o aroma (Lee *et al.*, 2005). Os compostos fenólicos são constituídos por uma estrutura variável, adquirindo multifuncionalidades. Foram descritos cerca de cinco mil fenóis, entre eles destacam-se os ácidos fenólicos (ácidos gálico, vanílico, cafeico, ferúlico, ente outros), os flavonóides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), os fenóis simples, cumarinas, taninos e ligninas. 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 propriedades redutoras e à estrutura química. Estas particularidades são essenciais na neutralização dos radicais livres e na alquilação de metais de transição, atuando ao longo de todo o processo oxidativo. Os compostos intermediários formados são relativamente estáveis, devido ao anel aromático presente na estrutura destas substâncias (Sousa *et al.*, 2007).

No feijão encontram-se descritos uma grande diversidade de flavonóides, antocianinas, pro-antocianidinas e isoflavonas, bem como alguns ácidos fenólicos (Beninger e Hosfield, 1999; Beninger e Hosfield, 2003; Choung *et al.*, 2003).

Os compostos fenólicos totais encontram-se presentes essencialmente no tegumento (revestimento) do feijão (Beninger e Hosfield, 1998). Os teores destes compostos descritos na literatura, variam apreciavelmente. Este facto pode dever-se a vários factores, entre eles, o genótipo (amostra ou cultivar) da planta, práticas agronómicas, maturidade na colheita, pós-colheita, armazenamento e condições climáticas de cultivo e armazenamento (Ninfali e Bacchiocca, 2003; Luthria e Pastor-Corrales, 2005).

O envelhecimento e as doenças degenerativas como o cancro, preocupam a comunidade científica, de modo a nos últimos anos ter-se intensificado o estudo sobre radicais livres, uma vez que estes têm sido considerados como possíveis responsáveis do desenvolvimento destas doenças. Um radical livre é uma estrutura química que possui um eletrão desemparelhado, tornando a estrutura muito instável, reativa e com capacidade para se combinar inespecificamente com diversas moléculas integrantes da estrutura celular. Há compostos reativos que são classificados de maneira mais abrangente, como por exemplo, as espécies reativas de oxigénio (EROs) e de azoto (ERAs). As ERAs são conhecidas por provocarem tanto benefícios como danos celulares. No decorrer da oncogénese, os ERAs podem atuar como mensageiros secundários nas cascatas de sinalização intracelular, estimulando ou mantendo o fenótipo oncogénico das células cancerosas. Também podem induzir a senescência celular e apoptose, funcionando como espécies anti-cancerígenas (Valko *et al.*, 2006). Estudos da patogénese de várias doenças neurodegenerativas, como por exemplo a doença de Parkinson, doença de Alzheimer, esclerose múltipla e esclerose lateral amiotrófica, podem ser provocadas pelo desenvolvimento de EROs e/ou ERAs, associada à disfunção mitocondrial (Calabrese *et al.*, 2005). Desse modo, a procura de alimentos ricos em antioxidantes tem crescido nos últimos tempos.

Adicionalmente, na indústria alimentar a peroxidação lipídica, fenómeno indesejado, é inibida por antioxidantes sintéticos, como por exemplo, o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), *terc*-butil-hidroxi-quinona (TBHQ), tri-hidroxi-butilfenona (THBP) e galato de propilo (GP). No entanto, alguns estudos demonstraram um efeito tóxico destes antioxidantes. Deste modo, a pesquisa por antioxidantes naturais tem aumentado (Sousa *et al.*, 2007)

Nos seres vivos, a produção de radicais livres é controlada pela ação de diversas enzimas, tais como a superóxido dismutase, catalase e peroxidase, entre outras, ou de compostos provenientes da dieta alimentar, entre outras fontes (Valko *et al.*, 2004).

1.2. Importância do feijão na alimentação humana

De entre os diversos alimentos consumidos na alimentação humana, as sementes secas da família das leguminosas apresentam um papel importante na dieta das populações. Considerando que o consumo destas leguminosas se encontra associado à redução do risco de algumas doenças, torna-se importante o conhecimento das suas propriedades funcionais. O conhecimento da variabilidade genética das diferentes amostras é fundamental para o desenvolvimento de programas de melhoramento de plantas. Além disso, o maior conhecimento e preocupação dos consumidores com a dieta alimentar faz com que seja muito importante conhecer as propriedades nutricionais e compostos bioativos desta leguminosa com implicações para a saúde. Desse modo, um maior conhecimento sobre as diversas variedades de feijão permitirá a sua valorização.

O feijão é uma leguminosa com uma composição química que torna a sua inclusão na dieta alimentar benéfica do ponto de vista nutricional. Além disso, possui compostos fenólicos que se encontram associados à redução da incidência de doenças (Beninger and Hosfield, 2003; Dinelli *et al.*, 2006).

O feijão é utilizado como uma importante fonte de proteínas pela população mundial, essencialmente onde existe escassez de proteínas animais (Pires *et al.*, 2005). Além das quantidades apreciáveis de proteína, esta leguminosa é também rica em hidratos de carbono, fibras, minerais e vitaminas, apresentando um teor reduzido de gordura (Sgarbieri and Whitaker, 1982). Os vários benefícios do feijão para a saúde humana encontram-se descritos em vários trabalhos, nomeadamente, o facto do seu teor de ferro ser semelhante ao encontrado na carne de bovino, e a elevada concentração de cálcio, fósforo, potássio, magnésio, cobre e zinco (Barampama and Simard, 1993;

Sámman *et al.*, 1999). Adicionalmente, as fibras solúveis presentes no feijão desempenham o papel de alimento funcional (Hughes, 1996).

A lisina, aminoácido essencial, é um dos aminoácidos em maior concentração no feijão (Tabela 2), apresentando-se os aminoácidos sulfurados metionina (aminoácido essencial) e cisteína em concentrações limitadas (Rios *et al.*, 2003). O feijão é ainda considerado uma das melhores fontes de vitaminas do complexo B nos vegetais (Geil and Anderson, 1994) e, alguns trabalhos têm demonstrado que as leguminosas e, particularmente o feijão, possuem propriedades reguladoras dos níveis de glicémia e insulina (Pari and Venkateswaram, 2004; Obiro *et al.*, 2008).

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 foram associadas à sua capacidade antioxidante (Beninger e Hosfield, 2003). No entanto, alguns problemas nutricionais, como a baixa digestibilidade proteica, o teor reduzido de aminoácidos sulfurados e a presença de fatores anti-nutricionais, têm sido referidos por alguns autores.

Vários estudos realizados até ao momento têm demonstrado o potencial do feijão na saúde, como na prevenção ou redução de patologias, designadamente, obesidade, diabetes, dislipidemias, neoplasias e doenças cardíacas, entre outras perturbações crónicas (Thomas *et al.*, 2007). Alguns dos estudos realizados também têm mostrado a associação existente entre o consumo de feijão e a diminuição do colesterol. Finley *et al.* (2007), concluíram que o consumo diário de feijão, reduz o colesterol em indivíduos saudáveis ou nos predestinados a síndrome metabólica. Winham *et al.* (2007) também chegaram a conclusões idênticas, aconselhando o consumo de feijão, para a redução do colesterol LDL (“mau” colesterol), e do risco de doença cardíaca coronária (DCC).

Adicionalmente, o feijão é uma leguminosa rica em amido resistente, um tipo de amido similar à fibra dietética, não sendo ambos digeridos pelas enzimas intestinais (Thomas *et al.*, 2007). O estudo realizado por Bodinham *et al.* (2009) relaciona o consumo deste amido com a diminuição da ingestão calórica no tratamento associado ao apetite (sobrepeso e 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. As dietas de baixo índice glicémico (IG) podem produzir maior perda de peso comparativamente com as dietas de maior índice glicémico. Os alimentos com um alto

teor de hidratos de carbono, que sejam rapidamente digeridos e absorvidos, demonstram um alto IG que causa picos rápidos de glicose no sangue. Nos alimentos com baixo IG, a libertação de glicose ocorre de forma mais lenta e gradual. Os legumes, mais concretamente o feijão, tem um baixo índice glicémico (Thomas *et al.*, 2007). Celleno *et al.* (2007) demonstraram que o consumo de feijão pode, de forma preventiva, influenciar o aparecimento da obesidade, uma vez que o extrato de *P. vulgaris* leva a uma diminuição significativa do peso corporal, com diminuição na massa gorda e manutenção da massa corporal magra. Pusztai *et al.* (1998), num estudo com ratos, demonstraram que a lectina do feijão pode ser usada como terapêutica para estimular a função intestinal e melhorar a obesidade.

Os fatores antinutricionais do feijão são capazes de inibir enzimas, tais como a α - amilase. Os inibidores α - amilase 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 α - amilase é responsável pela transformação do amido ingerido em glicose. O processo de digestão é realizado pela atuação desta enzima, quebrando o amido ingerido e convertendo-o em açúcares para a corrente sanguínea, provocando o aumento da glicémia. Deste modo, o feijão é recomendado nas dietas de emagrecimento pela capacidade de inibir a enzima α - amilase, de modo a inibir a capacidade do organismo de transformar os hidratos de carbono em açúcar durante a digestão (Obiro *et al.*, 2008). Os estudos realizados por Pari e Venkateswaran (2003, 2004) demonstraram que extratos de *P. vulgaris* administrados em animais diabéticos permitiram estabilizar os níveis de glicose no sangue, com a diminuição significativa da glicémia e hemoglobina glicosilada, com o aumento significativo da hemoglobina total e insulina plasmática. Em animais não diabéticos, os níveis de glicose também diminuíram, passando a ter hipoglicemia.

Devido ao feijão ser um alimento vegetal rico em fibras e fitonutrientes, e pobre em gordura total e saturada, têm-lhe sido atribuídas propriedades anticancerígenas. Deste modo vários investigadores têm demonstrado os efeitos protetores da leguminosa, nomeadamente no desenvolvimento do cancro ao nível do trato gastrointestinal, carcinoma mamário, próstata, entre outros (Thompson *et al.*, 2008; Macz-Pop *et al.*, 2006; Boateng *et al.*, 2008; Bourdon, 2001). Devido a ingestão de leguminosas, particularmente o feijão, aumenta a flatulência ou desconforto intestinal, leva a muitas pessoas deixarem de consumir e deixar de usufruir dos efeitos benéficos que esta leguminosa proporciona. O desconforto intestinal é um processo fisiológico que advém

da ação das bactérias do cólon que fermentam os substratos criando gases. Essa produção de gás é causada pela degradação dos hidratos de carbono não digeridos no intestino grosso, provenientes de oligossacáridos. Os oligossacáridos rafinose e estaquiose são os mais associados à produção de flatulência. A não digestibilidade desses açúcares deve-se à ausência da enzima α - galactosidase. Alguns processos como a maceração, cozedura, tratamentos com irradiação gama entre outros, têm sido utilizados para reduzir o teor de oligossacáridos nas leguminosas (Yamagishi, 2008).

1.3. Processamento do feijão

1.3.1. Armazenamento

As condições de armazenamento do feijão podem afetar as suas propriedades. De facto, o armazenamento do feijão em condições de temperatura e humidade relativamente elevadas pode provocar o desenvolvimento do fenómeno *Hard-To-Cook* (HTC), o qual consequentemente aumenta o tempo de cozedura (Garcia *et al.*, 1998; Kyriakidis, 1997).

Segundo Granito *et al.* (2008) e Machado *et al.* (2008), condições de alta temperatura e de humidade diminui a atividade antioxidante do feijão e afeta as características nutritivas.

1.3.2. Influência dos métodos de cozedura nas propriedades do feijão

O “demolhar” ou “colocar de molho” previamente à cozedura é uma prática utilizada frequentemente para amolecer o feijão e as cascas, de modo a reduzir 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 demolha. No entanto, a maioria dos macro e micronutrientes, principalmente minerais e vitaminas são perdidos durante este processo (Rincon *et al.*, 1993; Barampama and Simard, 1995; Rehman, 2004; Toledo *et al.*, 2008). A cozedura do feijão sem utilizar a água de demolha, influencia também no teor de compostos fenólicos, provocando a redução do seu teor (Rámirez-Cárdenas *et al.*, 2008, Toledo *et al.*, 2008, Granito *et al.*, 2008).

Toledo *et al.* (2008) comparou alguns métodos de cozedura, designadamente, cozedura em microondas e sob pressão (panela de pressão vulgar), com ou sem demolha prévia. Os resultados obtidos demonstraram que a ausência de demolha leva ao aumento do tempo de cozedura, levando a uma inativação mais efetiva dos taninos. A cozedura por microondas levou a uma maior preservação dos aminoácidos lisina e metionina, e

apresentou valores superiores de fibras insolúveis relativamente aos restantes métodos. O teor de fibras solúveis foi superior nas amostras com demolha, tendo esta água sido utilizada na cozedura em panela de pressão (normal). A eliminação da água de demolha acarreta uma diminuição do teor de fibras totais para todos os tipos de cozedura. No estudo realizado por Bennink e Barret (2004), de modo a quantificar os teores fenólicos da água de cozedura e do feijão cozido, concluiu-se que no feijão existe uma grande quantidade de compostos fenólicos, no entanto mais de 50% dos compostos são eliminados para a água de cozedura.

1.4. Casulas

Na região de Trás os Montes, existe a tradição de colher o feijão ainda na vagem verde, quando o grão está bem formado, mas ainda não seco. A vagem é seccionada em pequenos pedaços (ou não), os quais são colocados ao sol durante vários dias, espalhados em cima de palha ou mantas, até secarem. Depois de bem secos, são guardados em sacos de pano para consumir nos dias frios de inverno. A este produto tão típico desta região é dado o nome de cascas ou casulas.

As casulas são consumidas sobretudo no inverno e é muito frequente encontrá-las na altura do Carnaval, nomeadamente a acompanhar o butelo. Na preparação deste prato, deve-se colocar as casulas a hidratar de véspera e proceder ao cozimento de todos os ingredientes em conjunto.

1.5. Objetivos do trabalho

Com o presente trabalho pretendeu-se caracterizar em termos físico-químicos e de atividade antioxidante diversas amostras de casulas colhidas na região de Trás os Montes. Desse modo, o presente estudo apresentou os seguintes objetivos específicos:

- proceder à caracterização física e nutricional, pela determinação das dimensões, cor, teor em humidade, teor em gordura bruta, teor em proteína bruta e teor em cinzas dos feijões e cascas;
- proceder à determinação da atividade antioxidante, pela capacidade redutora total, poder redutor e efeito bloqueador de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) na água de cozedura dos feijões e cascas, relativos às diversas amostras de casulas sob estudo.

CAPÍTULO II

Material e Métodos

2.1. Amostras de Casulas

Para a realização deste estudo, no final do ano de 2013 foram adquiridas no mercado local de Bragança, 11 amostras de casulas provenientes de diferentes localidades do distrito de Bragança, designadamente: duas da localidade de Cércio (Miranda do Douro), três da localidade de Frieira (Bragança), uma da localidade de Genísio (Miranda do Douro), uma da localidade de Gimonde (Bragança), três da localidade de Milhão (Bragança) e uma da localidade de Vale de Nogueira (Bragança) (Tabela 5).

Tabela 5: Casulas e respetivos feijões adquiridos no ano de 2013.























Local de proveniência das Casulas	Casulas	Feijão
Cércio V1		
Cércio V2		
Frieira V1		
Frieira V2		

Tabela 5 (cont.): Casulas e respectivos feijões adquiridos no ano de 2013.

Friera V3		
Genísio A1		
Gimonde A1		
Milhão V1		
Milhão V2		
Milhão V3		
Vale de Nogueira A1		

As casulas adquiridas em 2013 foram posteriormente comparadas com outras amostras de casulas adquiridas no mesmo mercado no final do ano de 2009. Nessa altura tinham sido adquiridas 10 amostras: uma da localidade de Alfaião (Bragança), uma da localidade de Vila Meã (Amarante), uma da localidade de Pinela (Bragança), duas da localidade de Sanceriz (Bragança), três da localidade de Rio Frio (Bragança) e uma da localidade de Santulhão (Vimioso). As amostras também tinham sido separadas em casulas e feijões, estando as mesmas representadas na Tabela 6.

Tabela 6: Casulas e respetivos feijões relativos à produção do ano de 2009.






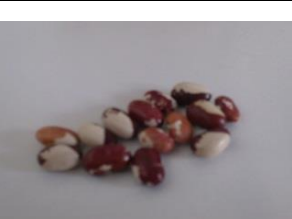








Local de proveniência das casulas	Casulas	Feijão
Alfaião		
Vila Meã		
Pinela		
Sanceriz V1		

Tabela 6 (cont.): Casulas e respectivos feijões relativos à produção do ano de 2009.

Sanceriz V2		
Rio Frio V1		
Rio Frio V2		
Rio Frio V3		
Santulhão		

2.2. Caracterização física das casulas

De cada amostra foi retirada uma porção de 60 g (balança analítica Kern PLS 510-3), constituída por vagens inteiras (cascas e feijões). O número de vagens inteiras (cascas e feijões) foi determinado por contagem, e com recurso a uma craveira digital (*Stainless Hardened*, 0-150 mm) determinaram-se o comprimento (mm) e a largura (mm) de cada vagem inteira (casca e feijão). Em simultâneo, as vagens foram classificadas visualmente de acordo com a sua curvatura (ligeiramente curvada ou curvada).

Posteriormente, as vagens foram abertas aleatoriamente e determinou-se o número de feijões por vagem. Por fim, pesaram-se separadamente as cascas e os feijões, e calcularam-se as percentagens de cada uma das partes.

Dos feijões determinou-se visualmente a forma (redonda, rim, oval, cubóide) e o brilho (ausente, médio, brilhante). Com o recurso da craveira digital, mediu-se aleatoriamente as dimensões dos feijões e contaram-se o número de feijões inteiros e com defeito. Os feijões foram ainda classificados visualmente de acordo com a cor. A cor dos feijões foi ainda determinada com recurso a um colorímetro Minolta CR-400, no modo CIELab, tendo sido determinados os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* , tendo o equipamento sido previamente calibrado com um padrão branco. Foi utilizado o iluminante C e uma abertura de diafragma de 8 mm. A avaliação da cor foi efetuada em 3 zonas distintas da superfície, considerando-se o valor médio.

2.3. Determinação dos teores de humidade e cinzas das casulas secas

2.3.1 Teor de humidade

Para a determinação do teor de humidade das amostras de cascas e de feijão, foi pesada 1,0 g de amostra previamente moída no moinho IKAWERK M20, no caso do feijão, ou na trituradora A327R1, no caso das cascas. Essa massa foi colocada em cadinhos, previamente calcinados e pesados na balança analítica (Kern ACJ 220-4M). Seguidamente, os cadinhos com as amostras foram colocados na estufa a 105 °C, até se obter peso constante. Os resultados foram expressos em percentagem de água por massa inicial de amostra.

2.3.2 Teor de cinzas

A determinação do teor de cinza total foi efetuada segundo a Norma Portuguesa 872 (1983), a qual define a cinza total como o resíduo da incineração da amostra à temperatura de 550 °C, expresso em percentagem de massa total. Os cadinhos anteriores, retirados da estufa, foram colocados na mufla a 550 °C, deixando a incinerar durante aproximadamente 4 horas e se obter cinzas brancas. Após arrefecimento dos cadinhos no interior de um exsiccador, pesaram-se os mesmos. Os resultados foram expressos em percentagem de cinzas por massa inicial.

2.4. Casulas Cozidas

2.4.1. Cozimento das Casulas

O cozimento das casulas foi realizado tendo em conta o teor em matéria seca de cada amostra (cascas e feijão), uma vez que se pretendeu manter a relação de massa de matéria seca por volume de água constante. Desse modo, 10 g de matéria seca foram colocadas a demolhar em 500 mL de água durante 24 horas. Posteriormente, procedeu-se ao cozimento das amostras na placa de aquecimento P. Selecta no nível 3. Durante o cozimento, foi-se adicionando água até se atingir o ponto de cozedura considerado adequado. O tempo de cozedura foi anotado para cada amostra (casca e feijão).

As amostras depois de cozidas foram colocadas a escorrer durante aproximadamente 10 minutos, pesadas e congeladas. A água de cozedura foi filtrada, pesada e também congelada. Para o feijão e cascas, determinaram-se as percentagens de aumento de peso após cozimento.

2.4.2. Avaliação Nutricional

2.4.2.1. Teor de humidade

Para se determinar o teor de humidade das cascas e dos feijões após cozedura, pesaram-se as amostras após cozimento e antes do congelamento. Posteriormente, congelaram-se e liofilizaram-se as amostras, durante aproximadamente cinco dias, e voltaram-se a pesar de modo a determinar a percentagem de humidade.

2.4.2.2. Teor de cinzas

A determinação do teor de cinza total foi efetuada de forma semelhante ao anteriormente descrito. Pesaram-se para os cadinhos previamente calcinados, cerca de 0,500 g de amostra liofilizada e, introduziram-se os mesmos na mufla a 550 °C, deixando a incinerar durante a noite. Posteriormente, retiraram-se os cadinhos e depois de arrefecidos no exsicador, pesaram-se. Os resultados foram expressos em percentagem de cinzas.

2.4.2.3. Proteína Bruta

A proteína bruta foi quantificada seguindo o procedimento descrito na Norma Portuguesa 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 macroKjeldahl (Velp Scientifica, Usmate, Italy), por um fator corretivo. Esta

determinação consiste na mineralização da matéria orgânica por ácido sulfúrico, em presença de um catalisador, com transformação do azoto em sal de amónio e posterior libertação do amoníaco em meio alcalino, destilação, recolha em meio ácido e titulação.

Sucintamente, pesou-se 1,0 g de amostra liofilizada (feijão e casca) e introduziram-se no tubo de digestão. Adicionaram-se duas pastilhas de catalisador (3,5 g de selénio) e 15 mL de ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram colocados no digestor “Block Digester System” (Velp Científica), no qual se efetuou a digestão a 400 °C, durante 45-50 minutos. A titulação foi efetuada automaticamente no aparelho “UDK 152”, com HCl 0,5N como titulante. O teor em azoto foi fornecido automaticamente pelo aparelho e o teor em proteína calculado pela multiplicação do valor obtido para o azoto pelo fator de conversão de 6,25.

2.4.2.4. Gordura Total

A determinação do teor de gordura total foi efetuada pelo método de extração em Soxhlet, com refrigeração de refluxo, segundo o método AOAC 948.22 (2000). O solvente utilizado foi o éter de petróleo (Panreac) e o tempo mínimo de extração foi de 24 horas. Foram pesadas rigorosamente 2,5 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, o qual foi posteriormente colocado no Soxhlet. Adicionou-se o solvente e deu-se início à extração. Após 24 horas, o solvente foi recuperado num evaporador rotativo, e o teor de gordura foi determinado após secagem em estufa a 40-50 °C e arrefecimento, até se obter peso constante. Os resultados foram apresentados em percentagem de gordura.

2.5. Atividade antioxidante da água de cozedura

A atividade antioxidante da água de cozedura foi determinada pela capacidade redutora total, o efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e poder redutor.

Após liofilização da água de cozedura, obtiveram-se extratos que foram redissolvidos em água para obter uma concentração de 50 mg de extrato/ mL.

2.5.1. Capacidade redutora total

Existem vários métodos para quantificar a quantidade total de compostos fenólicos, sendo o da capacidade redutora total um deles. Na água de cozedura das casulas a capacidade redutora total foi determinada pelo Método de Folin-Ciocalteu, técnica que envolve a redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos compostos redutores presentes na amostra, com a formação de um complexo de coloração azul (Folin and Ciocalteu, 1927). Uma 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). No entanto, este método continua a ser um dos mais utilizados para estimar a quantidade de fenóis totais presentes em amostras. No presente trabalho, utilizou-se o procedimento experimental descrito por Singleton and Rossi (1965), com algumas modificações. Misturou-se 100 µl de amostra (solução de extrato) com 7,9 mL de água destilada e 500 µL do reagente Folin e Ciocalteu. Levou-se a mistura ao vortex e deixou-se em repouso cerca de 8 minutos. Posteriormente, adicionaram-se 1,5 mL de solução saturada de carbonato de sódio (Na₂CO₃) e voltou-se a misturar. Os tubos foram mantidos no escuro durante 2 horas, após as quais foi medida a absorvância a 765 nm. O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorvância das amostras numa curva de calibração construída a partir de padrões de ácido gálico, sendo posteriormente os resultados expressos em mg de ácido gálico equivalentes/ g de extrato (mg GAE/ g extrato).

2.5.2. Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH

A avaliação da atividade antioxidante utilizando o radical livre DPPH, baseia-se na capacidade do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, reagir com substâncias doadoras de átomos de hidrogénio ($\text{DPPH} + [\text{AH}]_n \longrightarrow \text{DPPH-H} + [\text{A}]_n$), incluindo compostos fenólicos (Roginski and Lissi, 2005). Contudo, até recentemente se considerava que o ensaio envolvendo o radical DPPH envolvia a transferência de um átomo de hidrogénio, mas o trabalho de Foti *et al.* (2004) sugere uma reação de transferência de eletrões. De facto, a etapa que determina a velocidade de reação é um processo de transformação rápida de eletrões entre os aniões fenóxido e o DPPH. À medida que a reação entre as moléculas antioxidantes e os radicais livres de DPPH ocorre, absorvância a 517 nm diminui. Assim, quanto mais rapidamente decresce a absorvância, maior será a atividade antioxidante do extrato. A alteração na coloração

violeta característica do radical livre DPPH para amarelo, resulta portanto, da reação do radical com antioxidantes presentes na amostra (Espín *et al.*, 2000).

A metodologia seguida no presente trabalho foi a descrita por Hatano *et al.* (1988). Misturaram-se 0,3 mL de várias concentrações de extrato de cada amostra com 2,7 mL de uma solução metanólica contendo radicais livres de DPPH (6×10^{-5} mol/L). A mistura foi agitada vigorosamente e colocada no escuro durante 1 hora, após a qual foi medida a absorvância a 517 nm. O efeito bloqueador do radical livre DPPH foi calculado através da seguinte equação:

$$\% \text{ Efeito bloqueador do radical livre DPPH} = [\text{Abs(DPPH)} - \text{Abs(amostra)}] / \text{Abs(DPPH)} \times 100$$

A Abs(amostra) é a absorvância da solução com o extrato da amostra e Abs(DPPH) é a absorvância da solução metanólica de DPPH.

A concentração de extrato que originou 50% de inibição é intitulada EC₅₀ e foi calculada a partir da representação gráfica da percentagem do efeito bloqueador em função da concentração de extrato.

2.5.3. Poder Redutor

O poder redutor foi avaliado de acordo com o procedimento descrito por Oyaizu (1986). Assim, 2,5 mL de diferentes concentrações de extrato de cada amostra foram misturados com 2,5 mL de solução de fosfato de sódio a pH 6,6 e 2,5 mL de ferricianeto de potássio a 1% (m/v). A mistura foi incubada a 50°C durante vinte minutos. Após incubação, foram adicionados 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% (v/v) e a mistura foi centrifugada a 1000 rpm durante 8 minutos. Retiraram-se 5 mL de sobrenadante que foram misturados com 5 mL de água destilada e 1 mL de cloreto de ferro (III) a 0,1% (m/v), tendo a absorvância sido lida a 700 nm. A concentração de extrato correspondente a 0,5 de absorvância (EC₅₀) foi calculada a partir da representação gráfica da absorvância registada a 700 nm em função da concentração de extrato correspondente. Neste ensaio, o aumento de absorvância indica um maior poder redutor. A presença de agentes redutores provoca a redução do complexo Fe³⁺ / ferricianeto. A formação de azul “Perl’s Prussian” medida a 700 nm, é usada para monitorizar a concentração de Fe²⁺.

CAPÍTULO III

Resultados e Discussão

3.1. Caracterização física das amostras de casulas estudadas

As amostras foram analisadas em relação a diversos parâmetros morfológicos, como indicado na Tabela 7. Os resultados demonstraram que o número médio de vagens inteiras variou entre 18,3 e 81,0, e que a massa média das vagens variou entre 1,04 e 3,63 g.

A amostra de Vale de Nogueira foi a que apresentou o menor número de vagens inteiras ($18,3 \pm 0,6$), mas o maior peso por vagem ($3,63 \pm 1,20$). Pelo contrário, a amostra Cércio A1 apresentou o maior número de vagens inteiras e a maior massa média por vagem. Entre amostras provenientes da mesma localidade observaram-se diferenças entre elas, com exceção das amostras 1 e 2 recolhidas em Frieira que apresentaram resultados semelhantes.

Em relação ao comprimento médio da vagem, este variou entre 41,60 e 88,13 mm, e a largura média entre 5,04 e 9,9 mm. A amostra com vagens com o menor comprimento foi a proveniente de Genísio. As amostras Milhão A1 e Vale de Nogueira foram as apresentaram o maior comprimento. Por sua vez, as vagens com a maior e menor largura foram as produzidas em Genísio e Cércio (A1), respetivamente. Denotou-se uma elevada similaridade entre os valores médios e as medianas indicando uma distribuição normal dos valores dos parâmetros analisados. Os resultados do presente trabalho indicaram que as amostras estudadas apresentaram comprimentos de vagem inferiores aos referidos por Almeida e Canechio (1987) e Vieira *et al.* (2001), para vagens de feijões, entre 9 e 12 cm. Contudo, esta diferença pode ser devida ao facto das vagens nos feijões permanecerem inteiras e as das casulas serem, na sua maioria, partidas.

A análise da curvatura demonstrou uma grande similaridade entre as amostras estudadas, sobressaindo apenas a amostra Cércio A1 e Gimonde com a vagem curva (Tabela 7), característica que também pode ser observada nas fotografias apresentadas na Tabela 5.

Tabela 7: Caracterização física das vagens das casulas colhidas em 2013, com os valores expresso em média \pm desvio padrão e mediana (Min-Máx).

Local	Amostra	Massa da amostra inicial (g)		Nº Vagens Inteiras		Massa da Vagem (g)		Comprimento da Vagem (mm)		Largura da Vagem (mm)		Curvatura da Vagem
Cércio	A1	60,30 \pm 0,01	60,30	81,0 \pm 0,1 ^a	81,0	1,04 \pm 0,10 ^a	1,05 (0,93-1,15)	76,90 \pm 5,14 ^{a,b,c}	76,90 (72,05-81,75)	5,04 \pm 0,76 ^a	4,98 (4,38-5,82)	Curva
Cércio	A2	60,28 \pm 0,14	60,35 (60,12-0,37)	66,0 \pm 7,0 ^b	69,0 (58,0-71,0)	1,52 \pm 0,25 ^{a,b}	1,52 (1,09-1,90)	73,44 \pm 11,70 ^{a,b,c}	75,14 (51,93-91,44)	8,76 \pm 0,87 ^{b,c}	8,88 (6,85-9,90)	Ligeiramente Curva
Frieira	A1	60,35 \pm 0,24	60,25 (60,17-0,63)	34,7 \pm 1,5 ^{c,d}	35,0 (33,0-36,0)	1,76 \pm 0,41 ^{a,b,c}	1,71 (1,18-2,36)	53,29 \pm 11,65 ^{e,d}	52,64 (36,04-71,37)	8,89 \pm 1,41 ^{b,c}	9,62 (6,42-10,69)	Ligeiramente Curva
Frieira	V2	60,30 \pm 0,01	60,30	35,0 \pm 0,1 ^{c,d}	35,0	2,14 \pm 0,20 ^{b,c}	2,14 (1,89-2,37)	62,16 \pm 6,88 ^{a,b,e}	63,26 (52,96-69,17)	8,76 \pm 1,77 ^{b,c}	8,73 (6,97-10,63)	Ligeiramente Curva
Frieira	A3	60,74 \pm 0,11	60,74 (60,67-0,82)	21,0 \pm 5,6 ^e	21,0 (17,0-25,0)	1,50 \pm 0,31 ^{a,b}	1,58 (0,98-1,79)	52,84 \pm 11,56 ^{d,e}	44,74 (43,48-70,84)	9,70 \pm 1,50 ^{b,c}	9,64 (7,92-11,55)	Ligeiramente Curva a Curva
Genísio	A1	60,27 \pm 0,23	60,16 (60,12-0,54)	40,0 \pm 2,6 ^d	39,0 (38,0-43,0)	1,82 \pm 0,44 ^{a,b,c}	1,82 (1,13-3,03)	41,60 \pm 8,54 ^d	40,58 (31,42- 62,11)	9,98 \pm 1,19 ^c	10,22 (8,32-11,75)	Ligeiramente Curva
Gimonde	A1	60,16 \pm 0,20	60,10 (60,00-0,38)	19,7 \pm 1,2 ^e	19,0 (19,0-21,0)	3,44 \pm 0,71 ^{e,d}	3,40 (2,49-5,09)	81,85 \pm 10,83 ^{b,c}	81,18 (61,87-103,64)	9,33 \pm 1,34 ^{b,c}	9,08 (7,66-11,68)	Curva
Milhão	A1	60,46 \pm 0,25	60,47 (60,20-0,70)	27,0 \pm 1,0 ^{e,d}	27,0 (26,0-28,0)	2,53 \pm 0,63 ^{c,d}	2,52 (1,20-3,73)	88,13 \pm 16,22 ^c	91,14 (48,77-111,43)	7,99 \pm 0,98 ^b	7,68 (6,62-9,45)	Ligeiramente Curva
Milhão	A2	60,62 \pm 0,34	60,72 (60,24-0,90)	42,0 \pm 2,6 ^d	41,0 (40,0-45,0)	1,57 \pm 0,43 ^{a,b,c}	1,55 (0,73-2,16)	62,21 \pm 10,73 ^{a,b,e}	59,12 (43,81- 79,17)	8,64 \pm 1,17 ^{b,c}	8,18 (6,96-10,37)	Ligeiramente Curva
Milhão	A3	60,29 \pm 0,20	60,27 (60,10-0,50)	57,0 \pm 3,0 ^b	57,0 (54,0-60,0)	1,34 \pm 0,41 ^{a,b}	1,26 (0,79-2,15)	61,82 \pm 6,71 ^{a,e}	60,56 (52,61-76,75)	9,01 \pm 0,92 ^{b,c}	9,39 (7,58-10,34)	Ligeiramente Curva a Curva
Vale de Nogueira	A1	60,33 \pm 0,52	60,07 (59,99-0,93)	18,3 \pm 0,6 ^e	18,0 (18,0-19,0)	3,63 \pm 1,20 ^e	3,93 (1,22-5,34)	83,74 \pm 17,46 ^c	86,78 (45,27-108,48)	9,16 \pm 0,89 ^{b,c}	9,02 (7,41-10,54)	Ligeiramente Curva a Curva
<i>p-value</i>		-		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01		-

De modo a conhecer em maior pormenor as características morfológicas de cada amostra em estudo, as casulas foram abertas e determinou-se o número de feijões por vagem. Após separação das casulas em cascas e feijões, permitiu-nos determinar em separado as massas de cascas e de feijões existentes na porção de amostra inicial. Sequencialmente, procedeu-se à determinação da percentagem de cascas e feijões nas diferentes amostras. Os resultados exibidos na Tabela 8, demonstraram que o número médio de feijões variou entre 2,1 e 6,3 grãos de feijão por vagem. Almeida e Canechio (1987) e Vieira *et al.* (2001) descreveram que as vagens de feijão, em média, apresentam entre 3 a 7 grãos de feijão por vagem. Contudo, tal como indicado previamente, deve ser referido que as casulas não são constituídas, na sua maioria, por vagens de feijões inteiras, mas partidas. Desse modo, é expectável que nas amostras analisadas no presente trabalho, o número médio de feijões por vagem seja inferior ao indicado por esses autores. As amostras Cércio A1 e Milhão A1, tal como as Frieira A3 e Milhão A3, demonstraram uma grande similaridade entre si.

Tal como esperado, a massa das cascas e a massa de feijão são inversamente proporcionais nas diferentes amostras, uma vez que se referem a uma massa total de 60 g. Neste contexto, as massas de cascas variaram entre $9,96 \pm 0,01$ a $25,50 \pm 1,49$ g e a massa de feijão entre $34,58 \pm 1,46$ e $49,87 \pm 0,01$ g. Na mesma localidade denotou-se que entre Milhão A2 e Milhão A3, existiu uma grande similaridade, ao contrário da Milhão A1, demonstrando poder existir uma grande variabilidade em amostras colhidas na mesma localidade (Tabela 8).

A partir da massa da amostra inicial das amostras, calcularam-se as percentagens de cascas e feijão, tendo estas variado entre 16,52 e 42,079%, e entre 57,02 e 82,70%, respetivamente. A amostra Milhão A2 foi a que apresentou a maior percentagem de cascas, ao contrário da amostra Frieira A2 que apresentou a maior percentagem em feijão (Tabela 8).

Tabela 8: Caracterização física dos feijões e cascas das casulas colhidas em 2013, com os valores expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).

Local	Amostra	Nº de Feijões/Vagem		Massa de Cascas (g) / 60 g amostra		Massa de Feijões (g) / 60 g amostra		Cascas (%)		Feijões (%)	
Cércio	A1	6,3 \pm 0,8 ^a	6,5 (5,0-7,0)	15,82 \pm 0,01 ^{a,b}	15,82	43,61 \pm 0,01 ^{a,b}	43,61	26,23 \pm 0,01 ^{a,b}	26,23	72,32 \pm 0,01 ^{a,b}	72,32
Cércio	A2	2,7 \pm 1,0 ^{b,c}	3,0 (1,0-4,0)	18,73 \pm 1,21 ^{b,c}	19,30 (17,34-19,54)	41,66 \pm 1,27 ^a	41,53 (40,46-42,99)	31,07 \pm 2,04 ^b	32,10 (28,72-32,38)	69,11 \pm 2,08 ^a	69,08 (67,04-71,21)
Frieira	A1	2,8 \pm 0,7 ^{b,c}	3,0 (2,0-4,0)	12,16 \pm 0,34 ^{d,e}	12,09 (11,86-12,53)	47,09 \pm 1,20 ^c	47,54 (45,73-48,00)	20,15 \pm 0,62 ^{c,d,e}	20,09 (19,56-20,80)	78,03 \pm 1,96 ^c	78,41 (75,90-79,77)
Frieira	V2	3,1 \pm 1,0 ^{b,c}	3,0 (2,0-5,0)	9,96 \pm 0,01 ^d	9,96	49,87 \pm 0,01 ^d	49,87	16,52 \pm 0,01 ^c	16,52	82,70 \pm 0,01 ^d	82,70
Frieira	A3	2,1 \pm 0,4 ^b	2,0 (2,0-3,0)	14,30 \pm 1,83 ^{a,e}	14,30 (13,01-15,60)	45,98 \pm 1,36 ^{b,c}	45,98 (45,01-46,94)	23,60 \pm 2,90 ^{a,d,e}	23,60 (21,55-25,65)	75,88 \pm 2,65 ^{b,c}	75,88 (74,01-77,75)
Genísio	A1	2,6 \pm 0,9 ^{b,c}	2,5 (1,0-4,0)	11,51 \pm 0,78 ^{d,e}	11,81 (10,63-12,10)	48,58 \pm 0,87 ^c	48,63 (47,69-49,42)	19,10 \pm 1,28 ^{c,d}	19,50 (17,67-20,13)	80,42 \pm 1,15 ^c	80,32 (79,32-81,61)
Gimonde	A1	4,2 \pm 1,3 ^{c,d}	4,0 (2,0-6,0)	13,88 \pm 0,88 ^{a,e}	14,37 (12,86-14,40)	45,67 \pm 1,51 ^{b,c}	45,93 (44,05-47,04)	23,05 \pm 1,56 ^{a,d,e}	23,95 (21,25-23,96)	75,91 \pm 2,29 ^{b,c}	76,42 (73,41-77,90)
Milhão	A1	5,8 \pm 1,5 ^a	6,0 (3,0-8,0)	12,35 \pm 0,48 ^{d,e}	12,50 (11,81-12,74)	47,69 \pm 0,22 ^c	47,68 (47,47-47,91)	20,42 \pm 0,75 ^{c,d,e}	20,59 (19,60-21,07)	78,88 \pm 0,05 ^c	78,85 (78,85-78,93)
Milhão	A2	3,1 \pm 1,0 ^{b,c}	3,0 (2,0-5,0)	25,50 \pm 1,49 ^f	24,96 (24,36-27,19)	34,58 \pm 1,46 ^e	35,32 (32,90-35,53)	42,07 \pm 2,69 ^f	40,94 (40,12-45,14)	57,02 \pm 2,08 ^e	58,17 (54,61-58,28)
Milhão	A3	2,4 \pm 1,2 ^b	3,0 (1,0-4,0)	21,62 \pm 1,35 ^c	21,39 (20,40-23,07)	34,61 \pm 1,31 ^e	35,22 (33,10-35,50)	36,97 \pm 1,48 ^g	37,27 (35,36-38,28)	57,40 \pm 2,01 ^e	58,44 (55,07-58,68)
Vale de Nogueira	A1	4,9 \pm 1,2 ^{a,d}	5,0 (3,0-7,0)	14,50 \pm 0,14 ^{a,e}	14,51 (14,35-14,64)	45,41 \pm 0,45 ^{b,c}	45,34 (45,00-45,89)	24,04 \pm 0,32 ^{a,e}	23,89 (23,81-24,40)	75,70 \pm 0,75 ^{b,c}	75,58 (75,01-76,50)
<i>p-value</i>		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01	

As amostras de feijão estudadas apresentaram as sementes com forma de rim (Cércio A1 e Milhão A2), oval (Cércio A2, Frieira A2, Genísio, Gimonde, Milhão A1, Milhão A3 e Vale de Nogueira) ou cubóide (Frieira A1 e Frieira A3) (Tabela 9), e quanto ao brilho dos grãos de feijão, este variou entre médio e brilhante. Segundo a literatura os grãos de feijão apresentam variações não uniformes nas suas dimensões características, como observado na maioria dos produtos biológicos, os quais durante a secagem, contraem-se irregularmente nas diversas direções (Fortes e Okos, 1980; Kaleemullah e Gunasekar, 2002; Corrêa e Azevedo, 2002), originando diferentes formas. Os grãos de feijão mais brilhantes foram os das amostras Frieira A1 e Milhão A2. O brilho dos grãos de feijão de Frieira A2 variou entre os feijões da própria amostra. Já as amostras da localidade de Cércio A1, Cércio A2, Frieira A3, Genísio, Gimonde, Milhão A1, Milhão A3 e Vale de Nogueira apresentaram um brilho médio (Tabela 9).

Além disso, as diferentes amostras apresentaram grãos de feijão com diferentes dimensões. O comprimento médio dos feijões variou entre 8,77 e 15,54 mm, tendo a amostra Frieira A3 se destacado das restantes (Tabela 9). Contudo, o comprimento dos feijões dessa amostra não foram significativamente diferentes da amostra Frieira A1 ($13,12 \pm 1,02$ mm) (Tabela 9). Posteriormente, separaram-se os grãos em feijões sãos ou podres. Nos feijões sãos foram incluídos todos os grãos de feijão que não apareciam picados ou quebrados, que não se apresentavam com bolores, ardidos, germinados, carunchados, com a pele enrugada ou com alterações na homogeneidade da cor. Nos feijões podres incluíram-se todos aqueles que podiam apresentar defeitos leves cuja incidência não restringisse ou inviabilizasse a utilização do produto, bem como aqueles com defeitos graves cuja presença comprometesse seriamente a aparência, a conservação e a qualidade do produto, tal como sugerido por Knabben e Costa (2008). A amostra em estudo que apresenta maior massa de feijões sãos foi a de Gimonde, seguida pela Frieira A1, Cércio A1, Vale de Nogueira, Frieira A3 e Milhão A3. Pelo contrário, as amostras Frieira A2 e Genísio A1 foram as apresentaram as maiores massas de feijões podres (Tabela 9).

Tabela 9: Caracterização física dos feijões presentes nas casulas colhidas em 2013, com os valores expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).

Local	Amostra	Forma do Feijão	Brilho do Feijão	Comprimento dos Feijões (mm)		Nº Feijões Inteiros / 60 g amostra		Massa de Feijões Inteiros (g) / 60 g amostra		Nº Feijões Podres / 60 g amostra		Massa dos Feijões Podres (g) / 60 g amostra	
Cércio	A2	Oval	Médio	11,72 \pm 0,62 ^{b,c}	11,89 (11,03-2,24)	115,0 \pm 1,0 ^b	115,0 (114,0-16,0)	35,98 \pm 2,02 ^{a,c}	35,11 (34,54-38,28)	29,0 \pm 6,6 ^{b,c}	30,0 (22,0-35,0)	6,20 \pm 0,79 ^{b,c}	6,39 (5,34-6,88)
Friera	A1	Cuboide	Brilhante	13,12 \pm 1,02 ^{c,d}	13,63 (11,94-3,79)	74,0 \pm 2,00 ^{c,d}	74,0 (72,0-76,0)	42,97 \pm 0,82 ^{a,b}	42,66 (42,35-43,90)	9,7 \pm 3,1 ^{d,e}	9,0 (7,0-13,0)	4,11 \pm 1,07 ^{a,b}	3,63 (3,37-5,34)
Friera	V2	Oval	Médio a Brilhante	10,70 \pm 0,62 ^{a,b,c}	10,69 (9,96-11,46)	72,0 \pm 0,01 ^c	72,0	35,74 \pm 0,01 ^{a,c}	35,74	30,0 \pm 0,1 ^{b,c}	30,0	14,00 \pm 0,01 ^d	14,00
Friera	A3	Cuboide	Médio	15,54 \pm 1,36 ^d	16,16 (16,16-6,48)	75,5 \pm 0,7 ^{c,d}	75,5 (75,0-76,0)	41,24 \pm 0,52 ^{a,b}	41,24 (40,87-41,60)	16,5 \pm 2,1 ^{c,d,e,f}	16,5 (15,0-18,0)	4,74 \pm 0,86 ^{a,b,c}	4,74 (4,13-5,34)
Genísio	A1	Oval	Médio	11,03 \pm 1,16 ^{a,b,c}	10,95 (8,86-12,59)	57,7 \pm 3,5 ^e	58,0 (54,0-61,0)	37,09 \pm 1,92 ^{a,b,c}	37,55 (34,99-38,74)	21,7 \pm 3,8 ^{b,c,e,f}	20,0 (19,0-26,0)	11,47 \pm 2,55 ^{d,e}	10,12 (9,88-14,42)
Gimonde	A1	Oval	Médio	10,60 \pm 2,01 ^{a,b,c}	10,84 (8,09-12,64)	87,3 \pm 5,8 ^{d,f}	84,0 (84,0-94,0)	45,81 \pm 1,30 ^b	45,94 (44,45-47,05)	2,7 \pm 4,6 ^d	0,0 (0,0-8,0)	0,81 \pm 1,40 ^a	0,00 (0,00-2,43)
Milhão	A1	Oval	Médio	9,99 \pm 0,72 ^{a,b}	10,07 (9,02-10,79)	111,3 \pm 7,6 ^b	113,0 (103,0-18,0)	38,19 \pm 7,40 ^{a,b,c}	40,90 (29,81-43,85)	31,3 \pm 9,3 ^b	34,0 (21,0-39,0)	6,56 \pm 2,56 ^{b,c}	6,49 (4,03-9,16)
Milhão	A2	Rim	Brilhante	12,74 \pm 1,12 ^c	13,10 (11,11-3,63)	81,7 \pm 4,2 ^{c,d}	83,0 (77,0-85,0)	25,52 \pm 1,80 ^d	26,41 (23,44-26,70)	50,0 \pm 4,0 ^g	50,0 (46,0-54,0)	9,01 \pm 0,37 ^{c,e}	9,12 (8,60-9,31)
Milhão	A3	Oval	Médio	12,06 \pm 0,01 ^{b,c}	12,06 (12,06-2,06)	95,7 \pm 1,5 ^f	96,0 (94,0-97,0)	29,66 \pm 0,60 ^{c,d}	30,00 (28,97-30,02)	25,0 \pm 2,6 ^{b,c,f}	26,0 (22,0-27,0)	4,91 \pm 0,69 ^{a,b,c}	5,14 (4,13-5,46)
Vale de Nogueira	A1	Oval	Médio	11,52 \pm 0,28 ^{b,c}	11,52 (11,24-1,80)	74,7 \pm 6,8 ^{c,d}	77,0 (67,0-80,0)	40,96 \pm 1,92 ^{a,b}	40,11 (39,62-43,16)	12,7 \pm 3,1 ^{d,e,f}	12,0 (10,0-16,0)	4,43 \pm 1,97 ^{a,b,c}	5,36 (2,17-5,76)
<i>p-value</i>		-	-	<0,01		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01	

O desenvolvimento dos grãos de feijão é influenciado tanto pelo excesso como pela escassez de água. A alta humidade favorece o desenvolvimento de doenças, pois o feijoeiro não tolera a água parada, mesmo que por um curto espaço de tempo. Além disso, durante a colheita, as condições de seca são essenciais para a obtenção de grãos de boa qualidade (Vieira *et al.*, 2001).

Das amostras recolhidas ao longo do ano de 2009 (Tabela 10), foi determinada a massa de cascas e de feijão por vagem, a massa de feijão por vagem e a massa de cascas por vagem, bem como as percentagens de feijão e cascas por vagem das diferentes amostras. As amostras de Pinela A1 e Sanceriz A2 foram as que apresentaram as maiores massas de feijão e casca por vagem. A vagem da amostra Sanceriz A2 foi a que apresentou a maior massa de feijão, ao contrário das amostras 1 e 3 de Rio Frio. Em relação às cascas, a amostra Rio Frio A2 foi a que apresentou a maior massa de cascas, ao contrário da de Sanceriz A1 (Tabela 10).

Relativamente à percentagem de feijão por vagem, a amostra Sanceriz A2 foi a que apresentou o maior valor (84,26%), seguida de Alfaião (82,29 %). Já a de Santulhão, foi a que apresentou a menor percentagem (63,98%). As percentagens de cascas foram cerca de três vezes inferiores às dos feijões, tendo variado entre 15,74% (Sanceriz A2) e 36,02% (Santulhão A1) (Tabela 10). Ao comparar estes resultados com os determinados em 2013 (percentagem de feijão entre 57,02 e 82,70%; percentagem de cascas entre 16,52 e 42,07%) observou-se uma grande similaridade entre os valores. Em 2013, a amostra que apresentou a maior percentagem de feijão foi a de Frieira A2 e a menor a de Milhão A2 (Tabela 8).

Tabela 10: Caracterização física dos feijões e cascas das casulas colhidas em 2009, com os valores expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).

Local	Amostra	Massa (Feijão e Casca) (g) / Vagem	Massa do Feijão (g) /Vagem	Massa das Cascas (g)/ Vagem	Feijões (%)	Cascas (%)
Alfaião	A1	2,64 \pm 0,86 ^{a,b} 2,72 (1,31 -3,70)	2,19 \pm 0,74 ^{a,b} 2,29 (1,01 -3,19)	0,46 \pm 0,13 ^{a,b} 0,46 (0,29 -0,66)	82,29 \pm 2,42 ^a 82,22 (77,52 -86,22)	17,71 \pm 2,42 ^a 17,78 (13,78 -22,48)
Pinela	A1	2,88 \pm 0,68 ^b 2,97 (1,97 -4,05)	2,25 \pm 0,62 ^{a,b} 2,36 (1,41 -3,29)	0,63 \pm 0,09 ^{b,c} 0,64 (0,50 -0,77)	77,41 \pm 4,72 ^{a,b} 79,67 (68,31 -82,56)	22,59 \pm 4,72 ^{a,b} 20,32 (17,44 -31,69)
Rio Frio	A1	1,98 \pm 0,36 ^{a,c} 1,97 (1,42 -2,77)	1,36 \pm 0,29 ^c 1,41 (0,95 -2,00)	0,62 \pm 0,16 ^{b,c} 0,62 (0,41 -0,90)	68,81 \pm 6,62 ^{b,c} 69,90 (53,81 -76,68)	31,19 \pm 6,62 ^{b,c} 30,09 (23,32 -46,19)
Rio Frio	A2	2,17 \pm 0,63 ^{a,b,c} 1,98 (1,41 - 3,30)	1,43 \pm 0,49 ^c 1,28 (0,83 -2,19)	0,75 \pm 0,17 ^c 0,76 (0,55 -1,11)	64,79 \pm 4,83 ^c 65,55 (55,29 -71,90)	35,21 \pm 4,83 ^c 34,44 (28,10 -44,71)
Rio Frio	A3	1,98 \pm 0,36 ^{a,c} 1,97 (1,42 -2,77)	1,36 \pm 0,29 ^c 1,41 (0,95 -2,00)	0,62 \pm 0,16 ^{b,c} 0,62 (0,41 -0,90)	68,81 \pm 6,62 ^{b,c} 69,90 (53,81 -76,68)	31,19 \pm 6,62 ^{b,c} 30,09 (23,32 -46,19)
Sanceriz	A1	1,68 \pm 0,34 ^c 1,73 (1,23 -2,30)	1,29 \pm 0,29 ^c 1,32 (0,88 -1,79)	0,39 \pm 0,24 ^a 0,41 (0,06 -0,79)	77,39 \pm 12,60 ^{a,b} 75,58 (54,30 -96,29)	22,61 \pm 12,60 ^{a,b} 24,42 (3,71 -45,70)
Sanceriz	A2	2,93 \pm 0,48 ^b 3,00 (2,20 -3,75)	2,47 \pm 0,40 ^b 2,57 (1,83 -3,14)	0,46 \pm 0,11 ^{a,b} 0,46 (0,31 -0,64)	84,26 \pm 2,45 ^a 84,55 (80,57 -87,94)	15,74 \pm 2,45 ^a 15,45 (12,06 -19,43)
Santulhão	A1	2,32 \pm 0,38 ^{a,b,c} 2,37 (1,53 -2,75)	1,51 \pm 0,40 ^c 1,59 (0,62 -1,93)	0,81 \pm 0,14 ^c 0,83 (0,56 -0,98)	63,98 \pm 10,00 ^c 65,52 (40,87 -74,87)	36,02 \pm 10,00 ^c 34,48 (25,13 -59,13)
Vila Meã	A2	2,28 \pm 0,59 ^{a,b,c} 2,27 (1,53 -3,19)	1,79 \pm 0,49 ^{a,c} 1,78 (1,14 -2,53)	0,49 \pm 0,12 ^{a,b} 0,47 (0,31 -0,66)	78,34 \pm 3,06 ^{a,b} 79,06 (71,88 -81,88)	21,66 \pm 3,06 ^{a,b} 20,94 (18,12 -28,12)
<i>p-value</i>		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

3.2. Cor do Feijão

A cor do feijão foi determinada de acordo com a cor do tegumento (película) do grão. Na análise da cor determinaram-se os parâmetros L^* , a^* e b^* . Os valores de L^* são uma média da luminosidade da cor, variando entre 0 (preto) e +100 (branco). Os valores de a^* demonstram a variação entre -100 (verde) e +100 (vermelho). Os valores de b^* demonstram uma variação das amostras entre -100 (azul) e +100 (amarelo). Além destes parâmetros, determinaram-se ainda o croma ou saturação ($c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$), relacionado com a pureza ou intensidade da cor, e a tonalidade (hue) ($h^*_{ab} = \arctan(b^*/a^*)$), referente à cor propriamente dita.

Ao avaliar a cor das amostras de feijão em bom estado de conservação (Tabela 11), constatou-se que os valores do parâmetro L^* variou entre $35,19 \pm 4,68$ e $76,49 \pm 0,91$, tendo as amostras Cércio A1, Cércio A2 e Milhão A3 ($76,49 \pm 0,91$; $72,87 \pm 4,20$; $74,14 \pm 4,94$) sido aquelas que apresentaram a maior luminosidade. A amostra Frieira A3 foi a que apresentou menor luminosidade, com um valor de L^* de $35,19 \pm 4,68$ (Tabela 11).

Em relação aos valores médios do parâmetro a^* , a amostra Frieira A3 foi aquela que apresentou os maiores valores ($19,00 \pm 3,51$), originando uma cor vermelha, tal como pode ser visualizado na Tabela 5. Pelo contrário, as amostras Cércio A1, Cércio A2 e Milhão A3 ($0,38 \pm 0,46$; $0,19 \pm 0,28$; $0,40 \pm 0,32$) foram as amostras com os menores valores de a^* , apresentando uma tonalidade mais branca. Relativamente aos valores médios do parâmetro b^* , a amostra Frieira A1 ($24,44 \pm 5,99$) foi a que apresentou maior valor, destacando-se das restantes. As amostras Cércio A1, Cércio A2, Frieira A2, Génísio, Gimonde, Milhão A2, Milhão A3 e Vale de Nogueira apresentaram valores de b^* muito semelhantes (Tabela 11). Os valores médios de croma (c^*) variaram entre $11,32 \pm 1,20$ e $25,67 \pm 6,10$, tendo os maiores valores sido determinados na amostra de Frieira A1 ($25,67 \pm 6,10$) e os de menor valor em Milhão A3 ($11,32 \pm 1,20$).

Em relação aos valores médios de h^*_{ab} , observou-se uma grande variabilidade, variando entre $22,33 \pm 3,53$ e $89,02 \pm 1,39$, indicando que as amostras apresentaram tonalidades muito diferentes, tal como constatado na Tabela 5. As amostras Cércio A1, Cércio A2 e Milhão A3 ($88,46 \pm 1,83$; $89,02 \pm 1,39$; $87,93 \pm 1,64$) foram as que apresentaram valores próximos de 90° , indicativo de uma tonalidade amarelada (Tabela 5). Pelo contrário, os menores valores foram observados em Frieira A3 ($22,33 \pm 3,53$) com uma tonalidade mais avermelhada (Tabelas 5 e 11).

Tabela 11: Cor do feijão em bom estado de conservação. Resultados expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).

Local	Amostra	L*		a*		b*		c*		h* _{ab}	
Cércio	A1	76,49 \pm 0,91 ^a	76,56 (75,37-77,68)	0,38 \pm 0,46 ^a	0,42 (-0,27-0,94)	14,22 \pm 1,42 ^a	14,26 (12,27-15,65)	14,23 \pm 1,42 ^{a,b}	14,26 (12,28-15,65)	88,46 \pm 1,83 ^a	88,22 (86,51-91,08)
Cércio	A2	72,87 \pm 4,20 ^a	74,02 (66,10-79,07)	0,19 \pm 0,28 ^a	0,22 (-0,30-0,63)	12,22 \pm 1,64 ^a	12,54 (9,23-14,57)	12,22 \pm 1,64 ^{a,b}	12,54 (9,24-14,57)	89,02 \pm 1,39 ^a	89,02 (86,48-91,32)
Frieira	A1	52,52 \pm 3,41 ^{b,c}	52,18 (46,93-59,93)	7,79 \pm 1,58 ^b	8,18 (2,98-9,92)	24,44 \pm 5,99 ^b	25,70 (7,68-32,13)	25,67 \pm 6,10 ^c	26,96 (8,24-33,62)	71,92 \pm 2,75 ^{b,c}	73,06 (65,92-74,50)
Frieira	V2	50,55 \pm 3,18 ^{b,c}	49,53 (47,72-55,48)	5,49 \pm 1,67 ^c	5,93 (3,64-7,51)	15,21 \pm 2,20 ^a	15,64 (12,32-18,00)	16,22 \pm 2,30 ^{b,d}	16,12 (12,85-19,12)	70,25 \pm 5,50 ^{c,d}	70,29 (61,46-75,98)
Frieira	A3	35,19 \pm 4,68 ^d	35,18 (28,28-41,81)	19,00 \pm 3,51 ^d	18,22 (15,14-26,15)	7,87 \pm 2,08 ^c	7,38 (4,96-10,84)	20,60 \pm 3,89 ^e	19,28 (16,10-27,98)	22,33 \pm 3,53 ^e	22,89 (16,12-28,63)
Genísio	A1	51,57 \pm 2,93 ^{b,c}	51,79 (46,54-56,78)	5,18 \pm 0,80 ^c	5,20 (3,42-6,38)	14,03 \pm 1,09 ^a	14,18 (11,45-15,60)	14,98 \pm 1,16 ^{a,b}	14,97 (12,48-16,61)	69,75 \pm 2,74 ^{c,d,f}	69,80 (64,43-75,76)
Gimonde	A1	50,01 \pm 5,03 ^b	50,37 (43,02-58,15)	6,07 \pm 0,77 ^{b,c}	6,09 (5,01-7,92)	13,97 \pm 2,20 ^a	14,01 (10,23-17,64)	15,24 \pm 2,27 ^{a,b}	15,23 (11,39-19,34)	66,36 \pm 1,97 ^{f,g}	66,19 (62,28-69,96)
Milhão	A1	55,60 \pm 2,51 ^c	56,01 (50,50-59,05)	5,18 \pm 1,03 ^c	5,52 (3,03-6,88)	19,26 \pm 3,24 ^d	20,06 (7,93-21,42)	19,96 \pm 3,28 ^{d,e}	20,57 (8,49-22,21)	74,70 \pm 2,83 ^b	74,63 (69,12-79,70)
Milhão	A2	44,50 \pm 3,52 ^e	43,90 (39,77-50,61)	6,68 \pm 0,52 ^{b,c}	6,68 (5,52-7,46)	13,62 \pm 1,83 ^a	13,28 (10,81-17,21)	15,19 \pm 1,74 ^{a,b}	15,23 (12,45-18,39)	63,64 \pm 2,78 ^g	63,88 (60,19-69,32)
Milhão	A3	74,14 \pm 4,94 ^a	73,09 (63,85-82,42)	0,40 \pm 0,32 ^a	0,34 (-0,06-0,89)	11,31 \pm 1,20 ^{a,c}	11,58 (8,92-13,31)	11,32 \pm 1,20 ^a	11,58 (8,92-13,32)	87,93 \pm 1,64 ^a	88,26 (85,36-90,30)
Vale de Nogueira	A1	51,58 \pm 2,94 ^{b,c}	50,72 (47,29-56,66)	5,03 \pm 1,22 ^c	4,66 (3,58-8,69)	12,39 \pm 2,28 ^a	12,12 (7,62-16,72)	13,39 \pm 2,52 ^{a,b}	13,01 (8,42-18,84)	67,91 \pm 2,48 ^{d,f}	68,11 (62,54-71,87)
<i>p-value</i>		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01	

Ao avaliar a cor dos feijões em mau estado de conservação (Tabela 12), constatou-se que na maioria das situações os valores médios do parâmetro L^* foram ligeiramente inferiores aos determinados nos feijões sãos. A amostra Frieira A3 foi a que apresentou a menor luminosidade ($39,21 \pm 7,56$), ao contrário da Cércio A1 ($72,48 \pm 1,86$). Em relação aos valores médios do parâmetro a^* , a amostra Cércio A1 ($-0,15 \pm 0,86$) foi aquela que exibiu o menor valor, ao contrário da amostra Frieira A3 ($17,13 \pm 4,02$). Quanto aos valores médios do parâmetro b^* , a amostra com maior valor foi novamente a Frieira A1 ($22,29 \pm 5,27$) e a com menor valor a Milhão A2 ($10,70 \pm 1,96$).

No que aos valores médios de croma (c^*) diz respeito, observou-se que os maiores valores foram determinados nas amostras Frieira A1 ($23,55 \pm 5,24$), Gimonde ($21,27 \pm 6,12$) e Milhão A1 ($19,66 \pm 2,88$). A observação dos valores médios de h^*_{ab} demonstrou a existência de alguma variabilidade entre os valores ($38,63 \pm 12,08$ e $90,71 \pm 2,94$), indicando novamente a existência de diferentes tonalidades, possivelmente resultando da diferença de cor existente entre as amostras (Tabela 12). Em relação à tonalidade (h^*_{ab}) determinada para os feijões sãos (Tabela 11), os valores médios não foram muito diferentes aos medidos nos feijões em mau estado de conservação, indicando que alguma degradação que possa existir ao longo da conservação não parece alterar significativamente a cor característica dos feijões, afetando-lhes mais o seu aspeto morfológico.

Tabela 12: Cor do feijão em mau estado de conservação. Resultados expressos em média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx).

Local	Amostra	L*		a*		b*		c*		h* _{ab}	
Cércio	A1	72,48 \pm 1,86 ^a	71,64 (70,48-75,08)	-0,15 \pm 0,86 ^a	-0,11 (-1,30-0,76)	18,44 \pm 2,29 ^{a,b,c}	18,48 (15,06-20,88)	18,46 \pm 2,27 ^{a,b,c,d}	18,49 (15,12-20,90)	90,71 \pm 2,94 ^a	90,30 (87,92-94,93)
Cércio	A2	70,02 \pm 4,94 ^a	69,15 (61,70-78,42)	0,35 \pm 0,23 ^a	0,31 (-0,03-0,78)	12,61 \pm 1,75 ^{d,e}	12,81 (9,35-15,54)	12,62 \pm 1,75 ^{e,f}	12,82 (9,36-15,54)	88,38 \pm 1,18 ^a	88,76 (85,81-90,15)
Frieira	A1	52,19 \pm 4,00 ^{b,c,d}	52,61 (41,14-57,01)	7,31 \pm 2,04 ^{b,c}	7,11 (5,16-13,42)	22,29 \pm 5,27 ^a	22,86 (8,18-30,12)	23,55 \pm 5,24 ^a	23,66 (9,73-30,86)	71,14 \pm 5,81 ^b	73,13 (57,21-77,43)
Frieira	V2	43,92 \pm 5,02 ^{b,e}	45,70 (35,79-48,29)	6,07 \pm 1,89 ^b	5,76 (4,05-8,10)	13,98 \pm 3,00 ^{b,c,d,e}	15,16 (10,77-17,12)	15,25 \pm 3,47 ^{c,d,e,f}	16,22 (11,54-18,93)	66,87 \pm 2,63 ^{b,c}	67,38 (63,64-69,47)
Frieira	A3	39,21 \pm 7,56 ^e	38,55 (24,29-51,01)	17,13 \pm 4,02 ^d	18,98 (9,30-21,07)	13,57 \pm 3,78 ^{c,d,e}	14,39 (5,75-17,86)	22,24 \pm 3,34 ^{a,b}	23,44 (17,26-26,12)	38,63 \pm 12,08 ^d	38,94 (16,24-58,73)
Genísio	A1	51,46 \pm 6,47 ^{b,c,d}	51,45 (38,03-62,71)	4,92 \pm 1,00 ^b	5,13 (2,72-6,75)	13,23 \pm 3,71 ^{c,d,e}	13,91 (5,70-19,03)	14,15 \pm 3,71 ^{d,e,f}	14,65 (6,31-19,88)	68,90 \pm 4,08 ^{b,c}	69,30 (62,90-75,14)
Gimonde	A1	58,65 \pm 3,82 ^d	56,74 (55,48-64,97)	9,01 \pm 2,74 ^c	10,09 (4,20-10,98)	19,27 \pm 5,48 ^{a,b}	21,40 (9,61-22,98)	21,27 \pm 6,12 ^{a,b}	23,72 (10,48-25,47)	65,12 \pm 0,81 ^{b,c}	64,97 (64,44-66,40)
Milhão	A1	50,25 \pm 3,16 ^{b,c}	51,69 (44,27-54,07)	7,07 \pm 1,14 ^{b,c}	6,96 (5,22-9,77)	18,32 \pm 2,83 ^{a,b,c}	18,59 (11,60-22,67)	19,66 \pm 2,88 ^{a,b,c}	20,22 (13,11-23,86)	68,73 \pm 3,06 ^{b,c}	68,84 (62,21-73,11)
Milhão	A2	49,33 \pm 3,84 ^{b,c}	49,39 (44,62-57,82)	5,62 \pm 0,84 ^b	5,64 (3,80-7,05)	10,70 \pm 1,96 ^e	10,87 (4,98-13,34)	12,10 \pm 1,97 ^f	12,34 (6,26-14,69)	61,87 \pm 4,14 ^c	61,71 (52,69-70,98)
Milhão	A3	71,71 \pm 3,73 ^a	73,25 (65,32-76,98)	0,62 \pm 0,62 ^a	0,54 (-0,10-2,43)	13,75 \pm 4,96 ^{c,d,e}	13,57 (8,65-25,79)	13,77 \pm 4,97 ^{d,e,f}	13,57 (8,68-25,79)	87,46 \pm 1,94 ^a	87,61 (83,23-90,40)
Vale de Nogueira	A1	57,36 \pm 9,36 ^{c,d}	61,42 (37,82-66,36)	7,12 \pm 1,26 ^{b,c}	7,23 (4,87-9,33)	16,41 \pm 2,02 ^{b,c,d}	17,39 (12,81-19,17)	17,92 \pm 2,09 ^{b,c,d,e}	18,24 (14,47-20,82)	66,47 \pm 3,69 ^{b,c}	66,52 (62,06-74,51)
<i>p-value</i>		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01		<0,01	

3.3. Teores de humidade e cinzas das casulas secas

Ao longo da secagem e do armazenamento das casulas, as amostras vão perdendo humidade (Vieira *et al.*, 2001). O teor de humidade médio nas amostras de cascas secas variou entre 9,69 a 12,02 %, existindo diferenças significativas entre elas ($p < 0,01$) (Tabela 13). Os resultados demonstram que a amostra de Vale de Nogueira foi a que apresentou o maior teor de humidade. O teor de matéria seca é a fração do alimento depois de extraída a humidade e onde estão contidos os nutrientes (carboidratos, proteínas, minerais, etc.) (Bressani *et al.*, 1993). Nas amostras sob estudo, os resultados demonstraram que o teor de matéria seca das cascas variou entre 87,98 e 90,31%. Mesmo que as amostras em estudo tenham revelado a existência de diferenças significativas ($p < 0,01$) entre amostras, é de salientar a grande similaridade entre as amostras de Frieira A1, Frieira A2, Frieira A3, Génisio, Gimonde, Milhão A1 e Vale de Nogueira.

O teor de cinzas de um alimento representa o seu conteúdo em minerais, que são importantes para a nutrição humana, exercendo funções em vários processos metabólicos (Mahan, 1994). Observando os resultados do teor de cinzas das cascas, estes variaram entre 9,41 e 10,28%, tendo as amostras diferido significativamente entre si ($p < 0,08$).

Tabela 13: Teores de humidade, matéria seca e cinzas das cascas secas das diferentes amostras estudadas (média ± desvio padrão e mediana (Min - Máx)).

Local	Amostra	TH (%)	TMS (%)	Cinzas (%)	Cinzas (% peso seco)
Cércio	A1	10,35±0,55 ^{a,b} 10,36 (9,80-10,89)	89,65±0,55 ^{a,b} 89,64 (89,11-90,20)	9,97±0,52 10,22 (9,37-0,33)	11,22±0,52 11,40 (10,52-11,45)
Cércio	A2	9,69±0,39 ^a 9,82 (9,26-10,00)	90,31±0,39 ^b 90,17 (90,00-90,74)	10,06±0,12 10,01 (9,99-10,20)	11,14±0,85 11,12 (11,07-11,24)
Frieira	A1	12,01±0,10 ^c 12,00 (11,92-12,13)	87,98±0,10 ^c 88,00 (87,88-88,08)	9,77±0,06 9,80 (9,70-9,81)	11,10±0,80 11,13 (11,02-11,16)
Frieira	V2	12,00±0,15 ^c 12,02 (11,85-12,14)	87,99±0,15 ^c 87,97 (87,86-88,15)	9,96±0,72 9,56 (9,54-10,79)	11,32±0,83 10,86 (10,83-12,29)
Frieira	A3	11,60±0,34 ^c 11,48 (11,33-11,98)	88,40±0,34 ^c 88,52 (88,02-88,67)	10,27±0,40 10,28 (9,87-10,67)	11,62±0,42 11,59 (11,21-12,06)
Genísio	A1	11,25±0,12 ^{b,c} 11,30 (11,12-11,34)	88,75±0,12 ^{a,c} 88,70 (88,66-88,88)	9,41±0,42 9,19 (9,15-9,90)	10,60±0,48 10,36 (10,29-11,16)
Gimonde	A1	11,76±0,15 ^c 11,76 (11,62-11,91)	88,24±0,15 ^c 88,24 (88,09-88,38)	9,58±0,43 9,80 (9,08-9,86)	10,86±0,48 11,09 (10,31-11,18)
Milhão	A1	12,00±0,30 ^c 12,08 (11,68-12,26)	87,99±0,30 ^c 87,92 (87,74-88,32)	10,28±0,26 10,14 (10,11-10,58)	11,68±0,25 11,54 (11,52-11,97)
Milhão	A2	10,57±0,47 ^{a,b} 10,72 (10,04-10,95)	89,43±0,47 ^{a,b} 89,28 (89,05-89,96)	9,55±0,26 9,44 (9,35-9,85)	10,68±0,33 10,50 (10,47-11,06)
Milhão	A3	10,52±0,49 ^{a,b} 10,67 (9,97-10,90)	89,48±0,49 ^{a,b} 89,32 (89,10-90,03)	9,64±0,23 9,62 (9,41-9,88)	10,77±0,20 10,77 (10,57-10,97)
Vale de Nogueira	A1	12,02±0,40 ^c 12,20 (11,56-12,29)	87,98±0,40 ^c 87,80 (87,71-88,44)	9,51±0,15 9,56 (9,33-9,62)	10,80±0,14 10,88 (10,64-10,89)
<i>p-value</i>		<0,01	<0,01	0,08	0,045

Nas amostras de casulas adquiridas durante o ano de 2009, as cascas secas apresentaram teores de humidade entre 8,43 e 19,92%, existindo diferenças significativas entre amostras ($p < 0,01$) (Tabela 14). No entanto, refira-se que um elevado teor de humidade foi observado na amostra de Sanceriz A1, demonstrando as restantes amostras uma grande similaridade de valores. Estes últimos valores foram semelhantes aos determinados nas amostras do ano de 2013.

Relativamente ao teor de matéria seca, este variou entre 80,08 e 91,57%, tendo novamente a amostra de Sanceriz A1 apresentado o menor valor.

Em termos gerais, os resultados obtidos para as amostras de 2009 e 2013 em termos do teor de matéria seca e do teor de humidade foram semelhantes.

Tabela 14: Teores de humidade e matéria seca das cascas das amostras recolhidas no ano de 2009 (média \pm desvio padrão).

Local	Amostra	TH (%)	TMS (%)
Alfaião	A1	12,65 \pm 1,82 ^a	87,35 \pm 1,82 ^a
Pinela	A1	11,63 \pm 0,49 ^a	88,37 \pm 0,49 ^a
Rio Frio	A1	8,43 \pm 2,08 ^a	91,57 \pm 2,08 ^a
Rio Frio	A2	11,97 \pm 0,18 ^a	88,03 \pm 0,18 ^a
Rio Tinto	A3	10,69 \pm 0,07 ^a	89,31 \pm 0,07 ^a
Sanceriz	A1	19,92 \pm 2,34 ^b	80,08 \pm 2,34 ^b
Sanceriz	A2	8,95 \pm 0,81 ^a	91,05 \pm 0,81 ^a
Santulhão	A1	11,34 \pm 0,36 ^a	88,66 \pm 0,36 ^a
Vila Meã	A2	12,64 \pm 0,13 ^a	87,36 \pm 0,13 ^a
<i>p-value</i>		<0,001	<0,01

O teor de humidade dos grãos de feijão das amostras adquiridas no ano de 2013, variou entre 7,26 e 10,97%, observando-se diferenças significativas ($p < 0,01$) entre amostras. As amostras de Frieira A1, Genísio, Gimonde, Milhão A1 e Frieira A2 apresentaram os maiores valores, tendo a amostra Milhão A3 apresentando resultados díspares face às restantes (Tabela 15).

Logo após a colheita do feijão, deve-se proceder à sua secagem (procurando reduzir a humidade para 10 a 11%) em ambiente arejado e de baixa humidade. Para temperaturas mais elevadas, a humidade deve baixar até aos 8% para uma conservação segura (Vieira *et al.*, 2001). O estudo realizado por Bragantini (2005) afirma que os baixos níveis de

humidade (11 a 13%), na etapa de armazenamento, favorecem a manutenção do produto, pois o metabolismo, de acordo com o processo respiratório, é reduzido e há uma inibição do desenvolvimento de microrganismos e insetos. Desse modo, os valores obtidos enquadraram-se nas gamas sugeridas.

Relativamente ao teor em matéria seca dos feijões, este variou entre 88,03 e 92,74%, com diferenças significativas ($p < 0,01$) entre as amostras. Ao compararmos os teores de humidade e de matéria seca das amostras de cascas e dos grãos de feijão, estes foram semelhantes. Os teores de cinzas médios das amostras de feijão de 2013 variaram entre 3,68 e 4,63%, não se tendo denotado diferenças significativas ($p = 0,386$) entre as amostras (Tabela 15). Esta gama é muito próxima do valor médio reportado por Mechi *et al.* (2005) de 4,9%. Mesquita *et al.* (2007) referiram um conteúdo de cinzas de 21 espécies de feijão cru entre 3,0 e 4,9%. Segundo o mesmo autor essas diferenças podem ser inerentes à linhagem ou condições de cultivo, como clima e fertilidade do solo. Além disso, ao comparar os valores de feijão determinados no presente trabalho com os valores determinados nas cascas, denotaram-se diferenças, sendo as cascas mais ricas em minerais do que os feijões.

Tabela 15: Teores de humidade, matéria seca e cinzas dos feijões secos das diferentes amostras sob estudo (média \pm desvio padrão e mediana (Min - Máx)).

Local	Amostra	TH (%)		TMS (%)		Cinzas (%)		Cinzas (% peso seco)	
Cércio	A1	9,22 \pm 0,17 ^a	9,30 (9,02-9,33)	90,78 \pm 0,17 ^a	90,70 (90,67-90,98)	4,02 \pm 0,46	4,07 (3,53-4,45)	4,43 \pm 0,26	4,49 (3,89-4,90)
Cércio	A2	8,42 \pm 0,24 ^a	8,52 (8,15-8,60)	91,58 \pm 0,24 ^a	91,48 (91,40-91,85)	4,63 \pm 0,37	4,84 (4,20-4,84)	5,05 \pm 0,42	5,29 (4,57-5,29)
Frieira	A1	10,97 \pm 0,37 ^b	10,78 (10,72-11,40)	89,03 \pm 0,37 ^b	89,22 (88,60-89,28)	4,03 \pm 0,09	4,08 (3,93-4,09)	4,53 \pm 0,83	4,57 (4,43-4,58)
Frieira	A2	10,20 \pm 0,03 ^{b,c}	10,19 (10,17-10,24)	89,80 \pm 0,03 ^{b,c}	89,81 (89,76-89,83)	3,95 \pm 0,31	4,04 (3,61-4,21)	4,40 \pm 0,35	4,49 (4,04-4,69)
Frieira	A3	10,07 \pm 0,24 ^c	9,99 (9,88-10,34)	89,93 \pm 0,24 ^c	90,01 (89,66-90,12)	4,04 \pm 0,06	4,05 (3,98-4,09)	4,49 \pm 0,69	4,49 (4,42-4,56)
Genísio	A1	10,81 \pm 0,31 ^{b,c}	10,91 (10,46-11,06)	89,19 \pm 0,31 ^{b,c}	89,09 (88,94-89,54)	4,10 \pm 0,42	3,97 (3,76-4,57)	4,60 \pm 0,48	4,43 (4,23-5,13)
Gimonde	A1	10,54 \pm 0,40 ^{b,c}	10,41 (10,21-10,99)	89,46 \pm 0,40 ^{b,c}	89,59 (89,01-89,79)	3,68 \pm 0,39	3,70 (3,28-4,06)	4,11 \pm 0,45	4,13 (3,65-4,56)
Milhão	A1	10,89 \pm 0,24 ^b	10,94 (10,63-11,10)	89,11 \pm 0,24 ^b	89,06 (88,90-89,37)	4,14 \pm 0,30	4,02 (3,93-4,48)	4,65 \pm 0,32	4,52 (4,41-5,01)
Milhão	A2	8,49 \pm 0,36 ^a	8,42 (8,17-8,89)	91,51 \pm 0,36 ^a	91,58 (91,11-91,83)	3,82 \pm 0,50	3,88 (3,30-4,28)	4,17 \pm 0,55	4,26 (3,59-4,68)
Milhão	A3	7,26 \pm 0,11 ^d	7,27 (7,15-7,37)	92,74 \pm 0,11 ^d	92,73 (92,63-92,85)	3,94 \pm 0,69	4,02 (3,21-4,58)	4,24 \pm 0,74	4,33 (3,47-4,93)
Vale de Nogueira	A1	8,65 \pm 0,26 ^a	8,65 (8,39-8,92)	91,34 \pm 0,26 ^a	91,35 (91,08-91,61)	4,10 \pm 0,20	4,16 (3,87-4,27)	4,49 \pm 0,22	4,56 (4,24-4,66)
<i>p-value</i>		<0,01		<0,01		0,386		0,406	

O teor de humidade dos grãos de feijão secos das amostras adquiridas em 2009 (Tabela 16) variou entre 10,15 e 10,57%, não se observando diferenças significativas entre amostras ($p=0,439$). Relativamente ao teor de matéria seca, este variou entre 89,43 e 89,44%. Alguns dos teores de humidade dos grãos de feijão das casulas amostradas em 2013 foram inferiores aos dos feijões amostrados em 2009.

Tabela 16: Teores de humidade e matéria seca dos feijões secos das diferentes amostras recolhidas ao longo do ano de 2009 (média \pm desvio padrão).

Local	Amostra	TH (%)	TMS (%)
Alfaião	A1	10,49 \pm 0,04	89,51 \pm 0,04
Pinela	A1	10,53 \pm 0,01	89,47 \pm 0,01
Rio Frio	A1	10,36 \pm 0,35	89,64 \pm 0,35
Rio Frio	A2	10,42 \pm 0,31	89,58 \pm 0,31
Rio Tinto	A1	10,43 \pm 0,06	89,57 \pm 0,06
Sanseriz	A1	10,57 \pm 0,01	89,43 \pm 0,01
Sanceriz	A2	10,15 \pm 0,02	89,84 \pm 0,02
Santulhão	A1	10,44 \pm 0,09	89,56 \pm 0,09
Vila Meã	A1	10,48 \pm 0,06	89,52 \pm 0,06
<i>p-value</i>		0,439	0,439

3.4. Estudo da Cozedura

O cozimento do feijão aumenta a digestibilidade e o valor biológico dos nutrientes, pois assegura a inativação dos elementos antinutricionais e proporciona a qualidade sensorial exigida pelo consumidor, aumentando a aceitabilidade (Tharanathan e Mahadevamma, 2003). Durante o processamento doméstico, torna-se uma prática comum deixar o feijão em demolha durante a noite, em água durante 12 a 16 horas, à temperatura ambiente (Oliveira *et al.*, 2001). Assim, ocorrerá a hidratação dos grãos e o tempo de cozimento será reduzido, representando menos tempo na preparação da refeição e economia de energia (Oliveira *et al.*, 2008). De modo a se proporcionar uma melhor cozedura, no presente trabalho, o processo de demolha ocorreu durante 24 horas, usando um volume de água de acordo com o teor de matéria seca. Ao longo da cozedura, revelou-se necessária a adição de mais água. Em relação ao tempo de cozedura, verificou-se que as amostras de cascas demoraram entre 75 a 195 minutos a

obter as propriedades organoléticas adequadas a serem consumidas (Tabela 17). Observaram-se diferenças significativas ($p < 0,01$) nos tempos de cozedura das amostras. A amostra que apresentou o menor tempo de cozedura foi a Frieira A2, seguida da Cércio A2. Pelo contrário, a amostra de Vale de Nogueira foi a que apresentou o maior tempo de cozedura, seguida das de Frieira A3 e Milhão A3. Como já referido anteriormente, ao longo do cozimento foi necessário adicionar água, tendo o volume médio variado entre 1197 e 2723 mL, observando-se diferenças significativas entre amostras ($p < 0,01$) (Tabela 17).

Ao analisar os resultados obtidos, verificou-se que a água de demolha ou adicionada ao longo da cozedura não foi diretamente proporcional ao tempo cozedura, demonstrando que as amostras de cascas apresentaram comportamentos distintos no cozimento.

Tabela 17: Volume de água da demolha e adicionada durante a cozedura (mL) e o tempo de cozedura (min) das amostras de cascas amostradas em 2013 (média \pm desvio padrão).

Local	Amostra	V água adicionado durante a cozedura (mL)	Tempo de cozedura (min)
Cércio	A1	1197 \pm 1 ^a	120 \pm 1 ^{a,b}
Cércio	A2	1326 \pm 8 ^b	103 \pm 4 ^{a,c}
Frieira	A1	1490 \pm 7 ^c	135 \pm 7 ^{a,b,d}
Frieira	A2	1278 \pm 1 ^d	75 \pm 1 ^c
Frieira	A3	1911 \pm 1 ^e	190 \pm 1 ^e
Genísio	A1	1700 \pm 15 ^f	138 \pm 4 ^{b,d}
Gimonde	A1	1693 \pm 7 ^f	125 \pm 7 ^{a,b,d}
Milhão	A1	1712 \pm 4 ^f	155 \pm 7 ^{d,f}
Milhão	A2	2723 \pm 1 ^h	113 \pm 18 ^g
Milhão	A3	2118 \pm 1 ^g	188 \pm 11 ^{e,f}
Vale de Nogueira	A1	2107 \pm 12 ^g	195 \pm 14 ^e
<i>p-value</i>		<0,01	<0,01

Ao nível dos grãos de feijão (Tabela 18), a cozedura demorou entre 83 e 169 minutos, com diferenças significativas entre amostras ($p < 0,01$). As amostras Cércio A1, Cércio A2 e Frieira A3 apresentaram tempos de cozedura similares. Mesmo com a realização da demolha dos grãos de feijão, foi necessário adicionar água entre os 1298 e

1730 mL. Os volumes de água adicionados durante a cozedura demonstraram diferenças significativas entre si ($p < 0,01$) (Tabela 18). No entanto, o volume de água adicionado, não foi novamente proporcional ao tempo de cozedura.

Tabela 18: Volume de água (mL) adicionado durante a cozedura e o respetivo tempo de cozedura (min) das amostras de feijão (média \pm desvio padrão).

Local	Amostra	V água adicionado durante a cozedura (mL)	Tempo de cozedura (min)
Cércio	A1	1311 \pm 9 ^a	84 \pm 1 ^a
Cércio	A2	1320 \pm 1 ^{a,b}	83 \pm 1 ^a
Frieira	A1	1730 \pm 1 ^c	128 \pm 4 ^{b,c}
Frieira	A2	1298 \pm 15 ^a	128 \pm 4 ^{b,c}
Frieira	A3	1560 \pm 1 ^d	108 \pm 14 ^{a,b}
Genísio	A1	1499 \pm 7 ^e	165 \pm 7 ^d
Gimonde	A1	1503 \pm 2 ^{e,f}	145 \pm 1 ^{c,d}
Milhão	A1	1406 \pm 3 ^g	131 \pm 7 ^{b,c}
Milhão	A2	1417 \pm 3 ^g	133 \pm 4 ^{b,c}
Milhão	A3	1336 \pm 3 ^b	136 \pm 1 ^c
Vale de Nogueira	A1	1523 \pm 3 ^f	169 \pm 13 ^d
<i>p-value</i>		<0,01	<0,01

3.5. Avaliação nutricional

Tendo em conta a avaliação nutricional das cascas (Tabela 19), estas depois de cozidas são maioritariamente constituídas por água, tendo os teores de humidade variado entre 85,5 e 92,0%. O teor médio de cinzas das 11 amostras de cascas cozidas em peso seco, variou entre 4,80 e 6,88%, demonstrando existir diferenças significativas ($p < 0,001$) entre as diferentes amostras. As duas amostras provenientes da localidade de Cércio (A1 e A2) foram as que apresentaram os maiores teores de cinzas. Ao expressar o teor de cinzas em peso húmido, este variou entre 0,43 e 0,74%, com diferenças significativas entre amostras ($p = 0,008$). Além disso, ao comparar os teores de cinzas antes e após cozimento (Tabelas 13 e 19), expresso em peso seco, o cozimento das amostras levou a uma diminuição significativa no teor de cinzas totais, indicando a existência de lixiviação de minerais para a água de cozedura. De referir que amostras com os maiores teores de cinzas expressos em peso húmido não foram as que

apresentaram os teores de cinzas expressos em peso seco mais elevados, indicando que as amostras de cascas após cozimento absorveram quantidades de água distintas.

A determinação do teor de proteínas nas cascas cozidas, expresso em peso seco, variou entre 1,88 e 11,91%, com diferenças significativas ($p < 0,001$) entre as amostras. A amostra Milhão A2 destacou-se das restantes, devido ao seu elevado teor de proteína. Os teores de proteína das cascas depois de cozidas expresso em peso húmido variaram entre 0,18 e 1,11%, continuando as amostras a demonstrar diferenças significativas entre si ($p < 0,001$) (Tabela 19). Ao comparar os teores de proteína expressos em peso seco e peso húmido, verificou-se que as amostras com os maiores teores em peso seco foram as que apresentaram os maiores teores de peso húmido.

Os teores de gordura das cascas cozidas variam entre 0,54 e 12,20%, expressos em peso seco, demonstrando diferenças significativas ($p < 0,001$) entre as amostras. As amostras de cascas de Vale de Nogueira e Gimonde foram as que apresentaram as maiores percentagens de gordura. O teor de gordura das cascas cozidas, expresso em peso húmido, variou entre 0,06 e 1,17% (Tabela 19), indicando que o feijão cozido é um produto com baixo teor de gordura.

Tabela 19: Teores de cinzas, proteína e gordura em várias amostras de cascas colhidas em 2013 depois de cozidas (média ± desvio padrão).

Local	Amostra	Peso seco			Peso húmido			
		Cinzas (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	TH (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	Gordura (%)
Cércio	A1	6,88±0,34 ^a	5,33±0,47 ^{a,b}	1,48±0,01 ^{a,b}	92,0±0,1 ^a	0,55±0,03 ^{a,b}	0,43±0,04 ^{a,b,c}	0,12±0,01 ^{a,b}
Cércio	A2	6,80±0,09 ^a	7,24±1,05 ^c	0,54±0,03 ^a	89,1±1,0 ^{a,b}	0,71±0,06 ^b	0,74±0,17 ^c	0,06±0,01 ^a
Frieira	A1	5,62±0,41 ^{a,b,c}	2,67±0,09 ^{d,e}	2,02±0,14 ^{a,b,c}	89,4±0,3 ^{a,b}	0,60±0,03 ^{a,b}	0,28±0,01 ^{a,b}	0,21±0,01 ^{a,b,c}
Frieira	A2	6,26±0,66 ^{a,b}	5,19±0,08 ^{a,b,f}	6,12±0,01 ^d	91,9±0,1 ^a	0,51±0,05 ^{a,b}	0,42±0,01 ^{a,b,c}	0,50±0,01 ^{c,d}
Frieira	A3	5,17±0,45 ^{b,c}	3,44±0,01 ^{d,e,f}	5,60±0,01 ^d	87,7±0,1 ^{a,b}	0,64±0,06 ^{a,b}	0,42±0,01 ^{a,b,c}	0,69±0,01 ^{d,e}
Genísio	A1	5,68±0,40 ^{a,b,c}	2,61±0,30 ^{d,e}	9,46±0,14 ^e	88,1±1,7 ^{a,b}	0,65±0,08 ^{a,b}	0,31±0,01 ^{a,b}	1,13±0,18 ^{f,g}
Gimonde	A1	4,95±0,16 ^{b,c}	3,10±0,17 ^{d,e}	10,80±0,96 ^{e,f}	91,7±1,8 ^a	0,43±0,06 ^a	0,26±0,06 ^{a,b}	0,88±0,11 ^{e,f}
Milhão	A1	4,80±0,89 ^c	3,71±1,04 ^{a,e,f}	0,92±0,06 ^a	85,5±3,0 ^b	0,74±0,22 ^b	0,56±0,24 ^{b,c}	0,13±0,04 ^{a,b}
Milhão	A2	6,24±0,15 ^{a,b}	11,91±0,28 ^g	2,78±0,82 ^{b,c}	90,6±1,1 ^{a,b}	0,60±0,05 ^{a,b}	1,11±0,10 ^d	0,25±0,04 ^{a,b,c}
Milhão	A3	5,52±0,64 ^{a,b,c}	6,27±1,05 ^{b,c}	3,56±0,17 ^c	89,1±1,0 ^{a,b}	0,59±0,08 ^{a,b}	0,69±0,17 ^c	0,39±0,02 ^{b,c}
Vale de Nogueira	A1	5,24±0,44 ^{b,c}	1,88±0,38 ^d	12,20±0,06 ^f	90,4±0,7 ^{a,b}	0,49±0,04 ^{a,b}	0,18±0,04 ^a	1,17±0,09 ^g
<i>p-value</i>		<0,001	<0,001	<0,001	0,009	0,008	<0,001	<0,001

O teor de cinzas total das amostras de feijão cozido, expresso em peso seco, encontra-se dentro do intervalo de 2,77 e 3,73%, com uma variação significativa ($p=0,001$) entre as amostras (Tabela 20). Ao expressar o teor de cinzas em peso húmido, este variou entre 0,85 e 1,23%. Estes resultados são similares aos indicados por Afonso (2010) de 1,02% em matéria fresca e 3,18% em matéria seca para feijões, Barampama e Simard (1993) de 3,8 a 4,5% em peso seco, Esteves (2000) de 3,98 a 4,47% para diferentes variedades de feijões, Ramirez – Cárdenas *et al.* (2008) entre 3,61 e 4,23% em peso seco, Maldonado e Sammám (2000) de 3,45 a 5,26 % em peso seco e os indicados por Pires *et al.* (2005), 3,36 a 4,17% em peso seco. Ramirez-Cárdenas *et al.* (2008) verificaram que o conteúdo de cinzas no feijão cru e cozido foram semelhantes. Contudo, no presente trabalho observou-se que após cozedura os teores de cinzas nos feijões diminuíram (Tabelas 15 e 20), resultado de possível lixiviação, tal como observado anteriormente para as cascas.

Os teores de cinzas dos grãos de feijão cozidos, expressos em peso húmido, variaram entre 0,85 e 1,23%, observando-se diferenças significativas ($p=0,001$) entre amostras (Tabela 20). Estes resultados são ligeiramente superiores aos indicados por Rios *et al.* (2003) que referem valores de 0,7% para grãos de feijão cozidos sem maceração.

Os resultados obtidos demonstraram um teor de proteína médio nos grãos de feijão cozidos, expresso em peso seco, que variaram entre os 20,96 e 27,34%, diferindo as amostras significativamente entre si ($p<0,001$). As amostras Cércio A2 e Milhão A2 foram as que apresentaram teores de proteínas superiores a 27%. Pelo contrário, a amostra Frieira A1 foi a que apresentou o menor valor de proteína (Tabela 20). Os valores obtidos no presente trabalho estão dentro dos valores referidos por Ramirez-Cárdenas *et al.* (2008), que oscilaram entre os 23,25 e 26,29%, Pires *et al.* (2005) com valores entre os 18,17 e 25,93%, e Siddiq *et al.* (2009) que referiram valores entre os 20,93 e 23,32%. Mesquita *et al.* (2007), ao avaliar o teor de proteínas em variedades de feijão cozidas, encontrou valores semelhantes aos encontrados neste estudo, variando entre os 22,34 a 36,28 g/ 100 g de matéria seca. Ramirez-Cárdenas *et al.* (2008) também encontraram valores de proteína muito semelhantes aos do presente estudo, entre os 22,57 a 24,42 g/ 100 g de matéria seca.

O feijão cozido é maioritariamente constituído por água, variando o teor de humidade entre os 63,19 a 70,39%. Durante a cozedura o tegumento do feijão encontra-se diretamente 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). No entanto, no presente trabalho não se verificou qualquer relação entre o tempo de cozedura e o teor de humidade do feijão cozido. Adicionalmente, os resultados demonstraram que depois de cozidas, as cascas exibiram um teor de humidade superior aos dos feijões (Tabela 19 e 20).

O teor médio de proteínas dos grãos de feijão cozidos por 100 g de peso húmido variou entre os 6,41 e 9,32%, variando significativamente ($p < 0,001$) entre as amostras (Tabela 20). De modo a comparar a composição nutricional destas amostras de casulas com amostras de feijão vendidas em superfícies comerciais, recorreu-se à comparação dos presentes valores como os mencionados nos rótulos de duas marcas brancas e uma marca de renome no mercado. Verificou-se que o teor de proteína dos feijões com coloração vermelha de marca branca foi de 6,4 g e os da marca de renome de 6,1 g por 100 g de produto cozido. Nos feijões de marca branca com coloração branca o teor de proteína foi de 7,1 g e nos da marca de renome de 5,7 g por 100 g de produto cozido. Os valores de proteína nos feijões manteiga da marca branca foi de 7,3 g e nos da marca de renome de 6,5 g por 100 g de produto cozido. O feijão preto da marca branca foi de 6,0 g e nos da marca de renome de 6,7 g por 100 g de produto cozido. Desse modo, os valores variaram entre 5,7 e 7,3 g de proteína por 100 g de produto cozido. Ao comparar estes valores com os determinados nos feijões das casulas analisadas no presente trabalho, os resultados foram idênticos, com exceção das amostras Milhão A1, Milhão A2 e Frieira A2 que apresentaram valores ligeiramente superiores, em torno dos 9,0%, peso húmido. Ao comparar o teor de proteínas das cascas e dos feijões, verificou-se que o feijão é mais rico em proteínas do que as cascas.

O teor em gordura dos grãos de feijão cozidos em peso seco variaram entre 4,3 e 24,7% (Tabela 20), enquanto as cascas apresentaram teores de gordura entre 0,54 e 12,20%. Estas amostras de feijão apresentaram valores superiores aos referidos em vários trabalhos, tais como Siddiq *et al.* (2009) que referiram valores entre os 3,14 e 3,53%, enquanto Pires *et al.* (2005) e Rámirez-Cárdenas *et al.* (2008) determinaram teores inferiores que oscilaram entre os 0,98 e os 1,35%, e 1,27 a 2,44%, respetivamente. Maldonado e Sammám (2000), ao analisar diferentes variedades de

feijão cozidas, verificaram que os teores de lípidos variaram entre os 0,54 e 1,22 g/ 100 g.

Nos rótulos de amostras de feijão existentes no mercado, o teor de lípidos (gordura) variou entre 0,3 e 0,8 g por 100 g de peso húmido. Os resultados determinados para os feijões das casulas analisadas no presente trabalho demonstraram uma maior concentração de gordura. Comparativamente com as cascas, os teores de gordura do feijão foram superiores.

Em termos gerais, o feijão é um alimento rico em nutrientes, sendo um complemento importante para a dieta. Os presentes resultados demonstraram que os feijões presentes nas casulas são uma fonte de proteínas interessante. É importante salientar que o custo de fontes proteicas de origem animal é superior relativamente à produção de fontes de origem vegetal. Como também evidenciado, o teor de gordura do feijão é muito baixo, sendo a sua ingestão apropriada em dietas com baixo teor de gordura.

Tabela 20: Teores de cinzas, proteína e gordura das várias amostras de feijão colhidas em 2013 depois de cozidas (média ± desvio padrão).

Local	Amostra	Peso seco			Peso húmido			
		Cinzas (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	TH (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	Gordura (%)
Cércio	A1	3,57±0,27 ^a	21,65±0,52 ^{a,b}	6,3±0,1 ^{a,b}	70,39±0,42 ^a	1,06±0,09 ^{a,b,c}	6,41±0,23 ^a	1,9±0,1 ^{a,b}
Cércio	A2	3,22±0,11 ^{a,b}	27,34±0,18 ^c	24,7±1,2 ^c	70,28±0,85 ^a	0,96±0,05 ^{a,b}	8,13±0,16 ^{a,b,c}	7,3±0,6 ^c
Frieira	A1	3,37±0,33 ^{a,b}	20,96±2,97 ^a	10,3±0,6 ^{d,e}	66,05±1,29 ^{a,b,c}	1,13±0,10 ^{b,c}	7,14±1,23 ^{a,b}	3,5±0,3 ^{d,e}
Frieira	A2	3,27±0,13 ^{a,b}	25,13±1,71 ^{a,b,c}	5,0±0,1 ^a	63,19±3,41 ^c	1,23±0,12 ^c	9,21±0,09 ^c	1,8±0,2 ^{a,b}
Frieira	A3	2,77±0,28 ^b	26,89±0,37 ^c	14,2±0,3 ^f	69,12±0,42 ^{a,b}	0,85±0,09 ^a	8,30±0,12 ^{b,c}	4,4±0,1 ^e
Genísio	A1	3,24±0,32 ^{a,b}	21,58±0,97 ^{a,b}	11,5±0,6 ^c	64,31±1,08 ^{b,c}	1,15±0,12 ^{b,c}	7,71±0,49 ^{a,b,c}	4,1±0,1 ^e
Gimonde	A1	3,31±0,32 ^{a,b}	23,22±0,43 ^{a,b,c}	4,3±0,1 ^a	64,52±0,26 ^{b,c}	1,18±0,12 ^{b,c}	8,24±0,11 ^{b,c}	1,5±0,1 ^a
Milhão	A1	2,83±0,11 ^b	26,14±1,26 ^{b,c}	8,8±0,7 ^{d,g}	65,19±0,52 ^{a,b,c}	0,99±0,03 ^{a,b,c}	9,10±0,33 ^{a,c}	3,1±0,2 ^{d,f}
Milhão	A2	2,85±0,19 ^b	27,24±2,27 ^c	7,3±0,5 ^{b,g}	65,82±0,87 ^{a,b,c}	0,98±0,08 ^{a,b,c}	9,32±0,97 ^c	2,5±0,2 ^{b,f}
Milhão	A3	3,73±0,07 ^a	24,45±0,38 ^{a,b,c}	5,1±0,2 ^a	67,75±1,98 ^{a,b,c}	1,18±0,08 ^{b,c}	7,88±0,29 ^{b,c}	1,6±0,1 ^{a,b}
Vale de Nogueira	A1	3,12±0,17 ^{a,b}	23,15±5,07 ^{a,b,c}	6,3±0,1 ^{a,b}	63,35±1,12 ^c	1,15±0,08 ^{b,c}	8,45±1,65 ^{b,c}	2,3±0,1 ^{a,b,f}
<i>p-value</i>		0,001	<0,001	<0,001	0,002	0,001	<0,001	<0,001

3.6. Análise da atividade antioxidante da água de cozedura

Como os compostos fenólicos são solúveis em água, alguns estudos indicam que durante a demolha e a cozedura dos feijões, estes são libertados respetivamente para a água de demolha e cozedura (Barampama e Simard, 1995; Bennink e Barret, 2004; Ramírez-Cárdenas *et al.*, 2008).

No que respeita à capacidade redutora total dos extratos obtidos a partir da água de cozedura das cascas, este variou de acordo com as amostras, independentemente do local de cultivo (Figura 1).

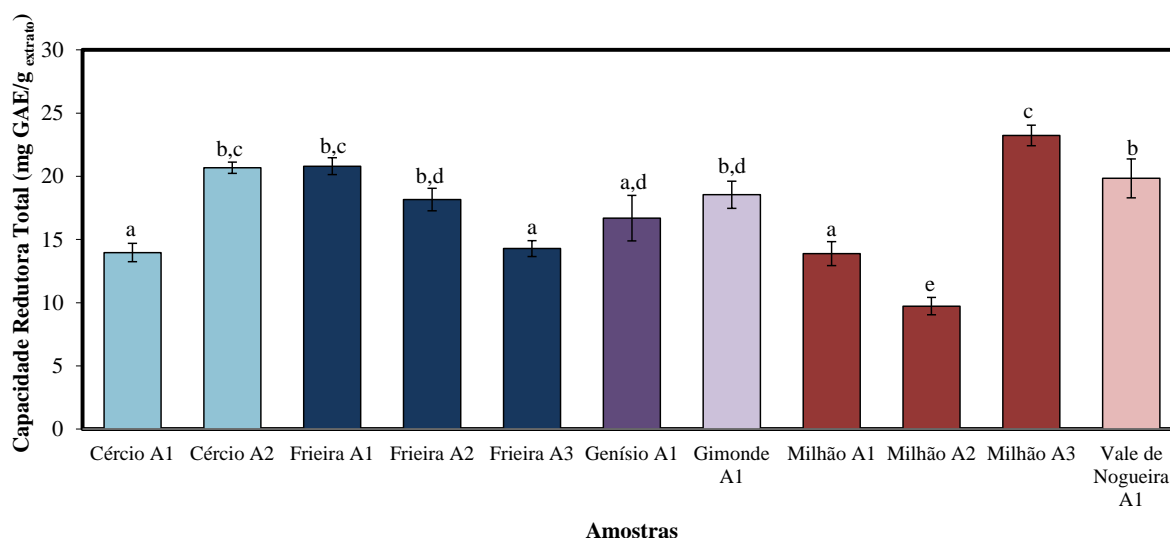


Figura 1: Capacidade redutora total (mg GAE/ g extrato) dos diferentes extratos de cascas sob estudo.

O teor mais elevado foi determinado na amostra Milhão A3 (23,23 mg GAE/ g extrato), enquanto o mais baixo foi em Milhão A2 (9,73 mg GAE/ g extrato). Os extratos das amostras de cascas das localidades de Cércio A2, Frieira A1, Frieira A2, Gimonde e Vale de Nogueira encontram-se incluídos no mesmo grupo, demonstrando entre si uma elevada homogeneidade na presença de fenóis totais. Também com um grau de homogeneidade semelhante encontramos as amostras Cércio A1, Frieira A3, Genísio e Milhão A1 (Figura 1). Em relação ao tempo de cozedura, este não pareceu influenciar a capacidade redutora total porque as cascas que demoraram mais tempo a cozer foram as de Vale de Nogueira (195 min), enquanto as que demoraram um tempo menor, foram as de Frieira A2 e Cércio A2 (75 e 103 min, respetivamente), todas elas com capacidades redutoras totais semelhantes.

Relativamente à capacidade redutora total dos extratos obtidos da água de cozedura do feijão das várias amostras sob estudo, a menor foi determinada em Frieira A1 (7,59

mg GAE/ g extrato). As amostras com os maiores valores de capacidade redutora total foram as de Gimonde A1 (20,08 mg GAE/ g extrato), Milhão A1 (18,43 mg GAE/ g extrato), Milhão A2 (20,19 mg GAE/ g extrato) e Vale de Nogueira (20,40 mg GAE/ g extrato) (Figura 2).

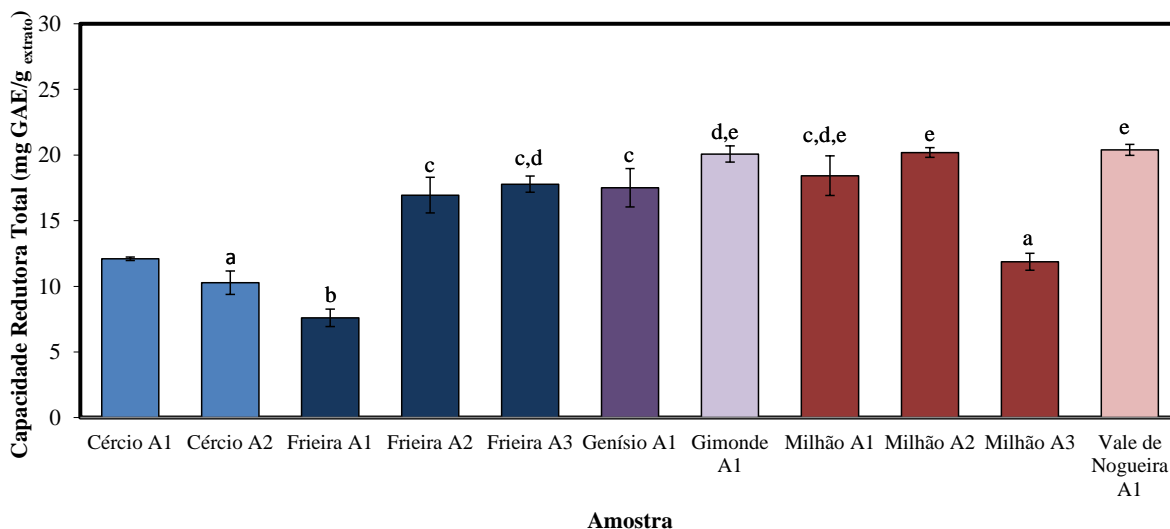


Figura 2: Capacidade redutora total (mg GAE/ g extrato) dos diferentes extratos de feijão sob estudo.

A amostra que apresentou a maior capacidade redutora total foi a que demorou mais tempo a cozer, nomeadamente a de Vale de Nogueira (169 min), podendo supor-se que um maior tempo de cozedura poderá permitir a extração de uma maior quantidade de compostos com capacidade redutora. Já a que apresentou o menor tempo de cozedura foi a amostra Cércio A2 (83 min), não sendo, contudo, a que originou menor capacidade redutora total.

Os resultados obtidos demonstram que durante a cozedura das cascas e feijão, alguns compostos fenólicos passam para a água de cozedura, explicando os resultados obtidos, e indicando que o aproveitamento da água deve ser promovido. Bennink e Barret (2004) ao quantificar o teor fenólico na água de cozedura e no feijão após a cozedura, observaram que no feijão existe uma grande quantidade de compostos fenólicos, no entanto, mais de 50% desses compostos são eliminados para a água de cozedura.

O poder antioxidante dos extratos, em termos do efeito bloqueador de radicais livres DPPH, das diferentes amostras de cascas e feijão aumentou à medida que a concentração de extrato também aumentou (Figuras 3 e 4). As amostras com maior poder antioxidante nos extratos das águas de cozedura das cascas foram Cércio A2, Frieira A2, Gimonde, Milhão A3 e Vale de Nogueira.

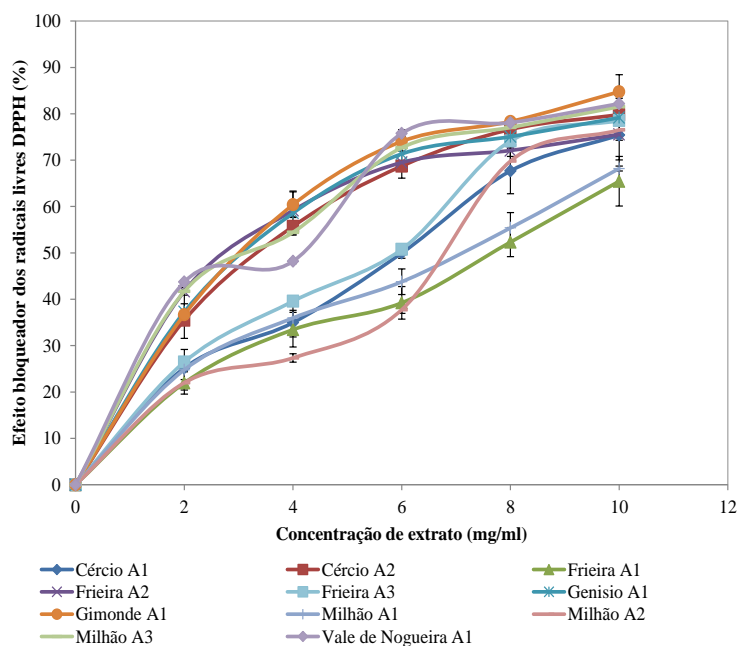


Figura 3: Valor do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH obtidos para os extratos das águas de cozedura das amostras de cascas.

Em relação ao feijão, as amostras Cércio A1, Cércio A2, Frieira A1 e Milhão A3 apresentaram os menores efeitos bloqueadores de radicais livres DPPH. Refira-se que estas amostras foram as relativas ao feijão branco ou ligeiramente amarelado. Verificou-se ainda que as amostras de feijão com mais cor apresentaram um maior poder bloqueador que as cascas (Figuras 3 e 4).

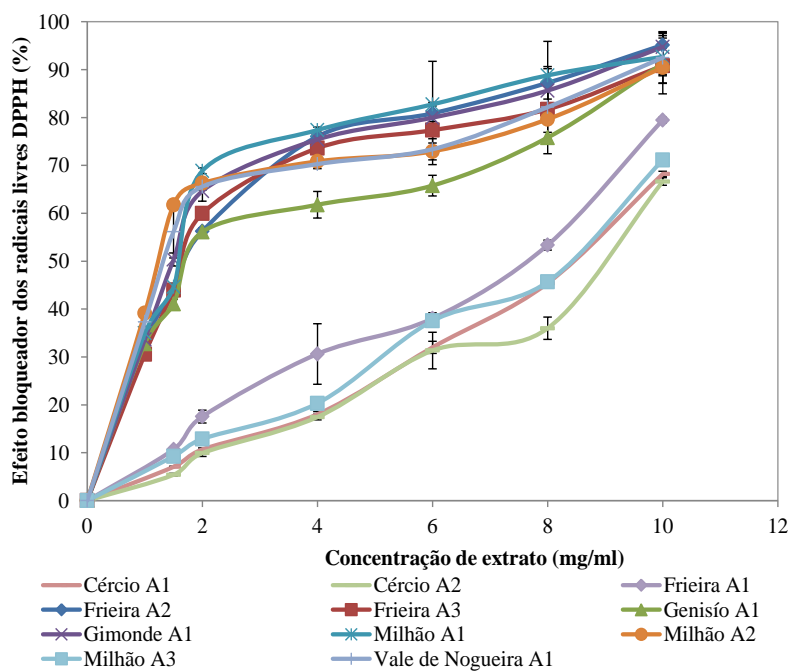


Figura 4: Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH obtidos para os extratos das águas de cozedura das amostras de feijão.

A atividade antioxidante dos extratos de todas as amostras de cascas e feijão determinada pelo método do poder redutor, também aumentou em função da concentração de extrato (Figuras 5 e 6). As amostras de cascas que apresentaram os valores mais baixos de poder redutor foram as de Cércio A1 e Frieira A1 (Figura 5).

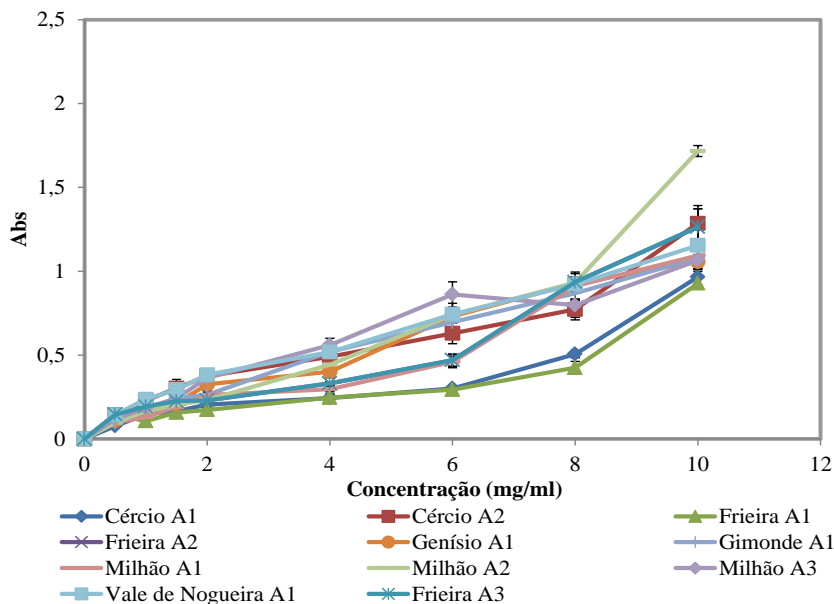


Figura 5: Valores do poder redutor obtidos para os extratos das águas de cozedura das amostras de cascas.

Já em relação às amostras de feijão, aquelas que apresentaram valores mais baixos de poder redutor foram as de Cércio A1, Cércio A2 e Milhão A3, seguidas das de Frieira A1 (Figura 6).

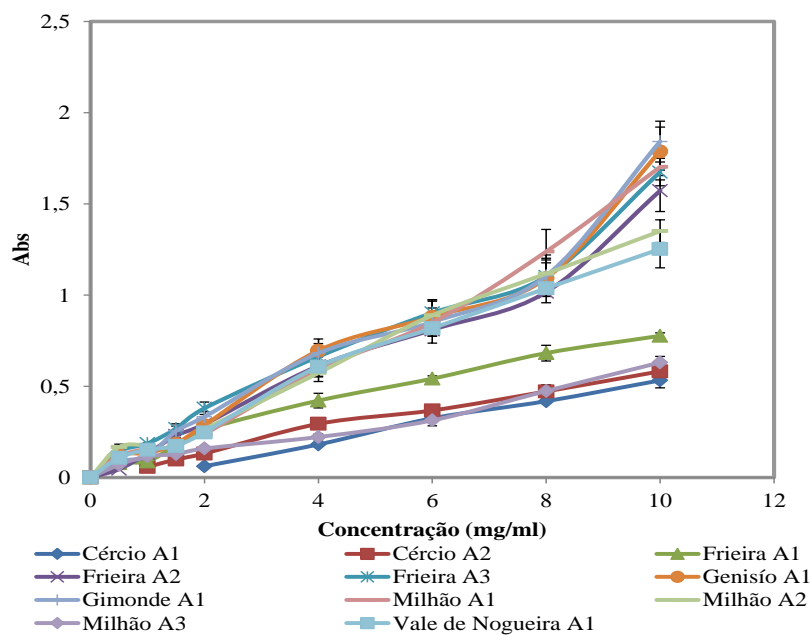


Figura 6: Valores do poder redutor obtidos para os extratos das águas de cozedura das amostras de feijões.

Os valores de concentração de extrato necessários para bloquear 50% dos radicais livres de DPPH (EC₅₀) encontram-se descritos na Tabela 21, tendo-se observado diferenças significativas entre as amostras de feijão e cascas. A água de cozedura da amostra de feijão Milhão A2 foi a que apresentou o valor de EC₅₀ mais baixo, ao contrário da Cércio A2 que apresentou o maior valor (8,91 mg extrato/ mL), e, portanto indicativo de uma menor atividade antioxidante. Amostras de feijão provenientes da mesma localidade também apresentaram valores de EC₅₀ distintos. Os extratos das águas de cozedura das cascas das amostras Cércio A2, Frieira A2, Génísio, Gimonde e Milhão A3, foram as que apresentaram os menores valores de EC₅₀, com concentrações de extrato na ordem das 3,00 mg/ mL.

Tabela 21: EC₅₀ (mg/mL) dos diferentes extratos obtidos a partir da água de cozedura de cascas e feijão em relação ao efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e poder redutor (média ± desvio padrão).

Local	Amostras	EC ₅₀ DPPH		EC ₅₀ Poder Redutor	
		Cascas	Feijão	Cascas	Feijão
Cércio	A1	5,62±0,78 ^a	8,40±0,03 ^a	7,95±0,20 ^a	9,54±0,52 ^a
Cércio	A2	3,44±0,07 ^b	8,91±0,09 ^b	4,15±0,34 ^{b,c}	8,53±0,32 ^b
Frieira	A1	7,64±0,50 ^c	7,56±0,09 ^c	8,29±0,14 ^a	5,17±0,61 ^c
Frieira	A2	2,95±0,06 ^b	1,74±0,03 ^d	6,12±0,13 ^d	3,30±0,09 ^{d,e,f}
Frieira	A3	5,86±0,08 ^a	1,69±0,02 ^d	4,56±0,30 ^b	2,88±0,18 ^f
Génísio	A1	3,23±0,33 ^b	1,80±0,02 ^d	4,58±0,17 ^b	3,06±0,18 ^{d,e,f}
Gimonde	A1	3,10±0,28 ^b	1,49±0,05 ^{e,f}	3,86±0,20 ^{c,e}	2,90±0,19 ^{e,f}
Milhão	A1	7,11±0,22 ^d	1,61±0,01 ^{e,f}	6,19±0,18 ^{d,e}	3,50±0,19 ^{d,e}
Milhão	A2	6,77±0,05 ^d	1,24±0,01 ^g	4,37±0,12 ^c	3,56±0,27 ^d
Milhão	A3	3,30±0,06 ^b	8,34±0,06 ^a	3,42±0,34 ^b	8,25±0,31 ^b
Vale de Nogueira	A1	4,13±0,03 ^e	1,36±0,10 ^h	3,80±0,62 ^{c,e}	3,43±0,19 ^{d,e,f}
<i>p-value</i>		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Em relação ao poder redutor, também se observaram diferenças significativas entre amostras. A amostra de cascas com maior poder redutor foi a Milhão A3, com o menor valor de EC₅₀ (3,42 mg/ mL). Pelo contrário, as cascas das amostras Cércio A1 e Frieira A1 foram as que apresentaram maiores valores de EC₅₀ e, portanto, menor poder redutor. As amostras de feijão com valores de EC₅₀ menores foram Frieira A3,

Gimonde, Genísio, Frieira A2 e Vale de Nogueira, denotando-se uma diferença significativa no poder redutor entre as amostras mais brancas e mais escuras (Frieira A2, Frieira A3, Genísio, Gimonde, Milhão A1, Milhão A2 e Vale de Nogueira) (Tabela 21). Este facto pode dever-se aos feijões coloridos terem um teor de compostos fenólicos superior aos dos feijões brancos e, em geral, os feijões coloridos contêm um maior teor de flavonóides. Vários trabalhos referem que o teor de taninos é superior nos feijões coloridos comparativamente aos mais claros, tendo assim uma atividade antioxidante mais elevada (Rámirez-Cárdenas *et al.*, 2008; Pellegrini *et al.*, 2006; Esteves *et al.*, 2002; Silva, 2010; Beninger e Hosfield, 2003).

Os resultados do presente trabalho indicam que mesmo que o feijão já faça parte integrante das dietas da população mundial, os efeitos benéficos que esta leguminosa proporciona à saúde ainda são fortemente ignorados. De um modo geral, as várias amostras estudadas apresentaram uma atividade antioxidante elevada, estando de acordo com vários estudos que reportam o elevado contributo do feijão enquanto alimento bioativo, rico em antioxidantes. Este aspeto é importante na promoção da saúde e da 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. A caracterização e conhecimento dos genes que controlam a formação de compostos fenólicos, assim como o conhecimento da sua atividade antioxidante permitem aos investigadores selecionar e desenvolver variedades de feijão com maior atividade antioxidante.

3.7. Correlação

A correlação demonstra-nos a interdependência entre duas variáveis aleatórias. Neste trabalho estudaram-se as correlações entre a capacidade redutora total, EC_{50} do ensaio do DPPH e o EC_{50} do poder redutor obtidos para as cascas e feijões, bem como as variáveis como a cor do feijão (L^* , a^* , b^* , c^* , h^*_{ab}).

Os coeficientes de correlação negativos obtidos (Tabela 22) para as amostras de cascas apontam que a uma maior capacidade redutora total corresponderam menores valores de EC_{50} no ensaio do DPPH, bem como uma menor capacidade redutora total do feijão.

As maiores correlações obtidas (negativas) foram entre a tonalidade (h^*_{ab}) e o a^* (-0,980), a capacidade redutora total do feijão e os valores de EC_{50} do DPPH (-0,926) e entre a luminosidade e o parâmetro a^* (-0,866), denotando a importância da cor

vermelha dos feijões e a relação inversa entre a capacidade redutora total e a atividade antioxidante avaliada pelos valores de EC_{50} dos ensaios do radical livre DPPH, e poder redutor. Também se observaram correlações negativas entre a capacidade redutora total do feijão e os valores de EC_{50} do poder redutor do feijão, indicando a presença de compostos redutores. Os resultados obtidos estão de acordo com o verificado em algumas leguminosas em que se verificou uma forte correlação entre o teor de fenólicos totais dos extratos e a actividade antioxidante (Sun *et al.*, 2006; Kuskoski *et al.*, 2006). Um outro facto observado foi a correlação negativa significativa (-0,657) encontrada entre a cor vermelha do feijão e o valor de EC_{50} do poder redutor, sugerindo que estes compostos são em parte responsáveis pelas suas propriedades antioxidantes.

Tabela 22: Coeficientes de correlação determinados entre os parâmetros de cor do feijão e a capacidade redutora total, efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e o poder redutor para as amostras de cascas e feijão.

	Capacidade redutora total das cascas	EC ₅₀ do DPPH das cascas	Capacidade redutora total do feijão	EC ₅₀ do DPPH do feijão	EC ₅₀ do poder redutor das cascas	EC ₅₀ do poder redutor do feijão	L* do feijão	a* do feijão	b* do feijão	c* do feijão	h* _{ab} do feijão
Capacidade redutora total das cascas	1	-0,515***		n. s.	-0,174***	n. s.	n. s.	-0,349***	n. s.	-0,171***	n. s.
EC ₅₀ do DPPH das cascas		1	-0,139***	0,013*	n. s.	-0,075***	-0,249***	n. s.	n. s.	n. s.	-0,233***
Capacidade redutora total do feijão			1	-0,926***	-0,492***	-0,755***	-0,621***	n. s.	-0,371***	-0,180***	-0,479***
EC ₅₀ do DPPH do feijão				1	n. s.	n. s.	n. s.	-0,539***	n. s.	-0,135***	n. s.
EC ₅₀ do poder redutor das cascas					1	n. s.	n. s.	-0,025***	n. s.	n. s.	n. s.
EC ₅₀ do poder redutor do feijão						1	n. s.	-0,657***	-0,050***	-0,384***	n. s.
L* do feijão							1	-0,866***	0,036*	-0,519***	n. s.
a* do feijão								1	-0,172***	n. s.	-0,980***
b* do feijão									1	n. s.	n. s.
C* do feijão										1	-0,461***
H* do feijão											1

3.8. Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada com o objetivo de encontrar relações entre variáveis e grupos de amostras com características semelhantes. Em relação às cascas e aos teores de humidade, cinzas, proteína e gordura, foi possível extrair duas componentes principais que explicaram 94,88% da variância total (PC1=65,90% e PC2=28,98%, respetivamente) (Figura 7). A PC1 foi constituída pelos teores de proteína e cinzas, enquanto a PC2 foi formada positivamente pelo teor de humidade (TH) e negativamente pelo teor de gordura. Três amostras se distinguiram das restantes, designadamente: Gimonde, Genísio e Vale de Nogueira. A amostra de Vale de Nogueira foi a que apresentou o maior teor de gordura. A amostra de Gimonde apresentou o menor teor de cinzas e a de Genísio o teor de humidade mais baixo, ao contrário do teor de gordura.

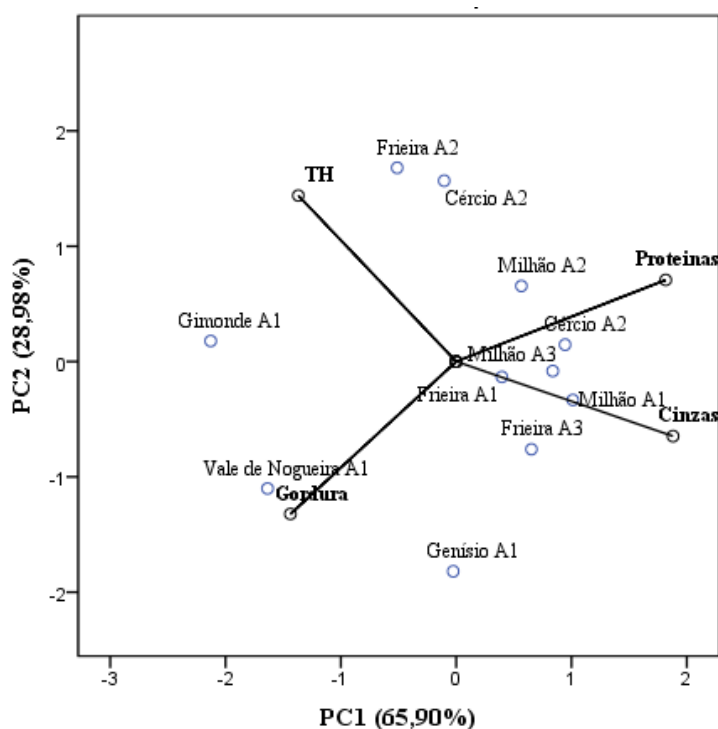


Figura 7: Análise de componentes principais aplicada às cascas, tendo em conta os teores de gordura, cinzas, humidade (TH) e proteína.

Tendo em conta os valores da atividade antioxidante determinados para a água de cozedura das cascas, extraíram-se dois componentes principais que explicaram 96,76% da variância total (PC1=60,36% e PC2=36,40%) (Figura 8). A PC1 é constituída positivamente pelos valores de EC₅₀ do efeito bloqueador dos radicais livres DPPH e negativamente pela capacidade redutora total. A PC2 é explicada positivamente pelo EC₅₀ do poder redutor. Identificaram-se três grupos de amostras, um formado pelas

amostras Milhão A1 e Milhão A2, resultado dos seus valores elevados de EC_{50} do efeito bloqueador dos radicais livres DPPH, significando uma menor atividade antioxidante. O segundo grupo, constituído pelas amostras Frieira A1 e Cércio A1, apresentaram os maiores valores de EC_{50} de poder redutor, indicando novamente uma menor atividade antioxidante.

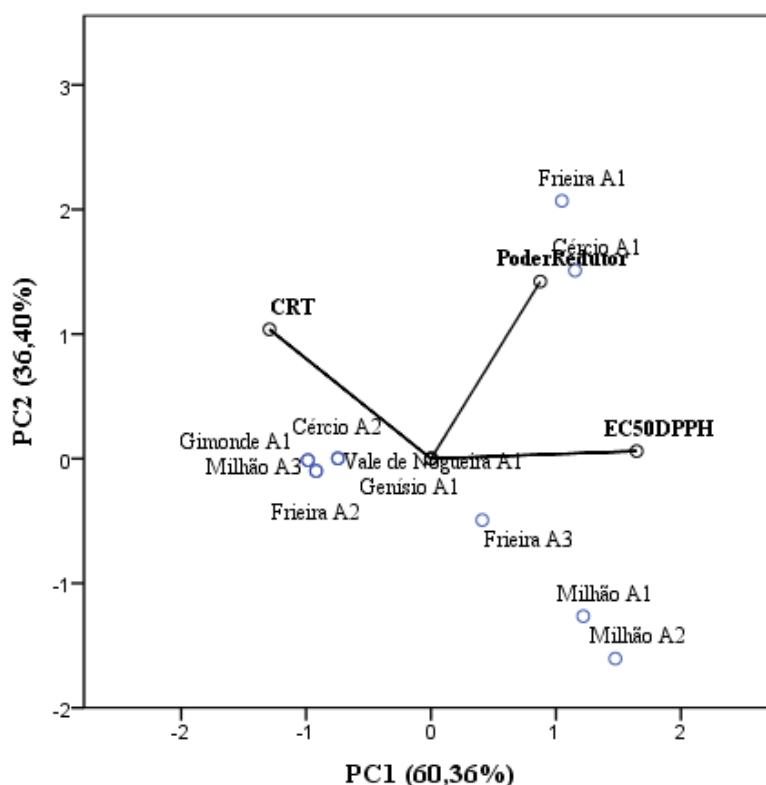


Figura 8: Análise de componentes principais aplicada às cascas, tendo em conta a capacidade redutora total (CRT), EC_{50} do poder redutor e EC_{50} do efeito bloqueador dos radicais livres DPPH.

Relativamente aos feijões e tendo em conta os teores de humidade, proteína, gordura e cinzas, duas componentes principais foram também extraídas, explicando 92,12% da variância total (PC1=59,12% e PC2=33,00%). A PC1 foi constituída positivamente pelos teores de gordura e humidade, e negativamente pelo teor de cinzas. A PC2 foi constituída positivamente pelo teor de proteína. Observaram-se três grupos de amostras, designadamente os constituídos por Cércio A1, Cércio A2 conjuntamente com Frieira A3, e as restantes amostras. A amostra Cércio A1 apresentou o menor teor em proteína em peso húmido, enquanto as amostras Cércio A2 e Frieira A3 apresentaram dos maiores teores de gordura e de humidade.

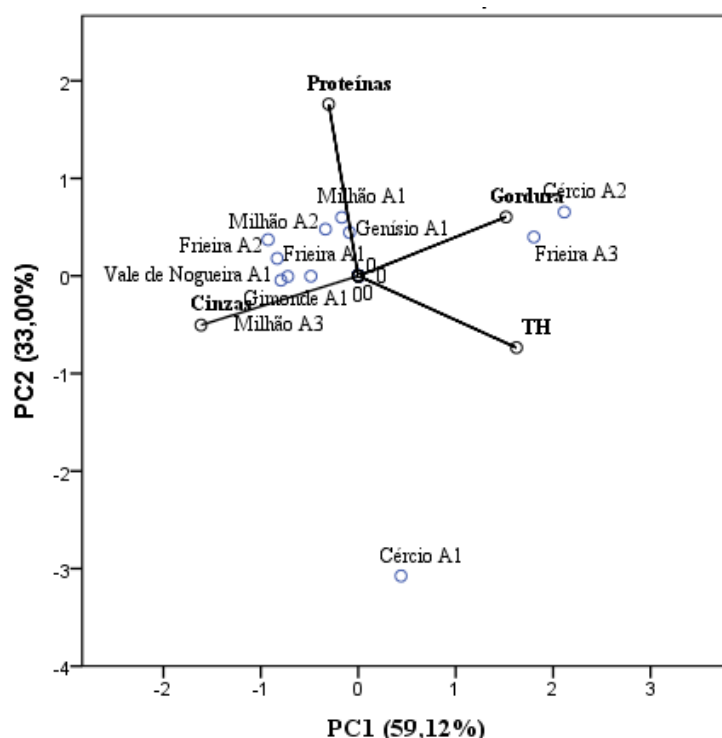


Figura 9: Análise de componentes principais aplicada aos feijões, tendo em conta os teores de gordura, cinzas, humidade (TH) e proteínas.

Relativamente a análise de componentes principais aplicada às propriedades antioxidantes das águas de cozedura do feijão e à cor dos grãos, extraíram-se duas componentes principais que explicaram 99,77% da variância total (PC1=58,70% e PC2=41,07%). A PC1 foi constituída positivamente pelos valores de L^* , h^*_{ab} , EC_{50} do ensaio do DPPH e EC_{50} do poder redutor e negativamente pelo parâmetro a^* , indicando que os feijões com uma coloração vermelha apresentarão uma maior atividade antioxidante. A PC2 foi constituída positivamente pelos componentes b^* e c^* de cor e negativamente pela capacidade redutora total. Identificaram-se três grupos de amostras. O primeiro grupo é apenas formado pela amostra Frieira A1, resultado dos seus elevados valores de b^* e c^* , e baixa capacidade redutora total. O segundo grupo é constituído pelas amostras Cércio A1, Cércio A2 e Milhão A3, as quais apresentaram os maiores valores de h^*_{ab} e de EC_{50} nos ensaios do DPPH e poder redutor, e os menores valores de a^* . O terceiro grupo é formado pelas restantes amostras.

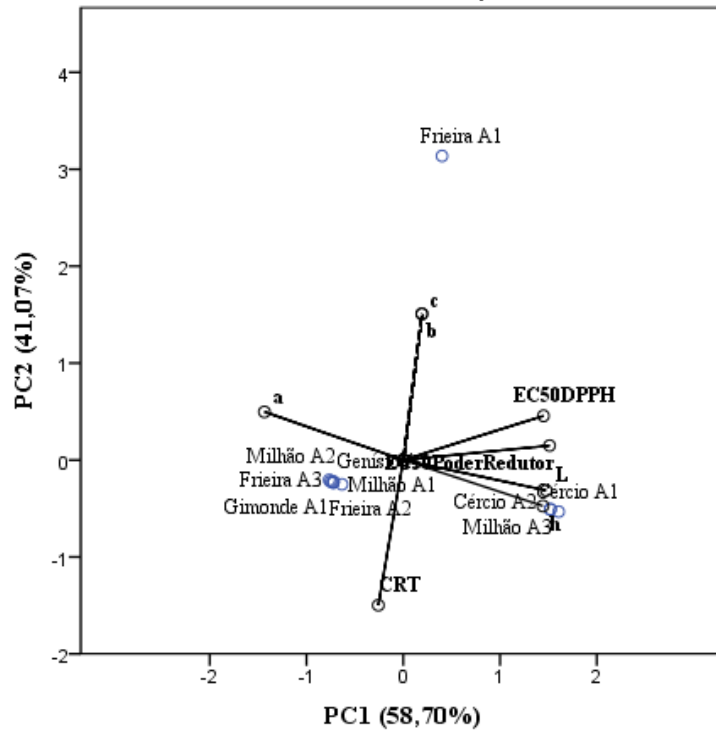


Figura 10: Análise de componentes principais aplicada aos feijões, tendo em conta a capacidade redutora total (CRT), EC₅₀ do poder redutor, EC₅₀ do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH na água de cozedura e as características de cor do grão.

Estes resultados permitem a seleção de casulas com características específicas de qualidade (composição química e propriedades antioxidantes) para a indústria alimentar, podendo este produto ser mais valorizado. Além disso, esta técnica estatística pode ser utilizada na identificação de variedades de casulas, uma vez que pode ser utilizada como uma ferramenta de classificação das casulas vendidas no mercado.

CAPÍTULO IV

Conclusões

Ao analisar os resultados obtidos para as diversas amostras de casulas estudadas no presente trabalho concluiu-se que os grãos de feijão sob estudo variaram em termos de dimensões, forma e cor.

Após cozimento, tanto para as cascas como para os feijões, a água passou a ser o componente maioritário. O cozimento das amostras de cascas e feijões acarretou uma diminuição nos teores de cinzas (minerais), sugerindo que as águas de cozedura devem ser aproveitadas. A amostra Milhão A2 (cascas e feijão) foi a que apresentou os maiores teores de proteína em peso húmido. Já as amostras de Vale de Nogueira (cascas) e Cércio A2 (feijão) foram as que apresentaram os maiores teores de gordura em peso húmido, indicando a existência de diferenças na composição das casulas.

Em relação às propriedades antioxidantes da água de cozedura dos feijões e das cascas, também se observaram diferenças significativas entre as amostras. No caso dos feijões, os de tonalidade menos avermelhada (menores valores de a^*) foram os que apresentaram menor atividade antioxidante. De facto, as amostras brancas (Cércio A1, Cércio A2 e Milhão A3), bem com a amostra Frieira A1, apresentaram os menores valores de capacidade redutora total e os maiores valores de EC_{50} do efeito bloqueador do radical livre DPPH e poder redutor. Já em relação às cascas, este comportamento não foi observado, possivelmente devido à não existência de tão elevada variedade de cor.

Após tratamentos dos resultados obtidos pela análise de componentes principais e tendo em conta as propriedades físicas (cor) e químicas das casulas, foi possível distinguir grupos de amostras com propriedades semelhantes.

CAPÍTULO V

Referências

Almeida, C., Canéchio, V., (1987). Principais Culturas. *Instituto Campineiro de Ensino Agrícola*, Vol. 2, 2nd ed.

Afonso, S. (2010). Caracterização Físico-Química e Actividade Antioxidante de Novas Variedades de Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Dissertação de Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar. Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, 19-32.

AOAC (2000), Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Ed.; Horwitz, W.; AOAC: Arlington, VA, Vol, II (1-3).

Barampama, Z., and Simard, R. (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.

Barampama, Z., and 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.

Barroso, M., Magalhães, M., Carnide, V., Martins, S., Vegas, C., Cachón., M. (2007). Caracterização e avaliação de diferentes espécies de leguminosas grão na região de Trás-os-Montes. *Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Norte*.

Benninger, C., and Hosfield, G. (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.

Beninger, C., and Hosfield, G. (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., and Hosfield, G. (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.

Bennink, M., and Barrett, K. (2004). Total phenolic content in canned beans. *Bean Improvement Cooperative*, 47, 211-212.

Boateng, J., Verghese, M., Walker L.T., Shackeford, L., Chawan, C. (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.

Bodinham, C., Frost, G., Robertson, M. (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 cholecistokinin and apolipoprotein B48 response to test meal in men. *Journal of Nutrition*, 13, 1485-1490.

Bragantini, C. (2005). Alguns aspectos de armazenamento de sementes e grãos de feijão. *Embrapa Arroz de Feijão*, 187, 28.

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

Bressani, R., Elías, G., Braham, E. (1993). Reduction of legume proteins by tannins. *Journal of Plant Foods For Human Nutrition*, 4, 43-55.

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

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

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

Corrêa, B., and Azevedo, J. (2002). Soybean seed damage by different species of stink bugs. *Agricultural and Forest Entomology*, 4, 145-150.

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.

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

Esteves, A., Abreu, C., Santos, C., Corrêa, A. (2002). Comparação química e enzimática de seis linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, 26, 999-1005.

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

Finley, J., Burrell, J., Reeves, P. (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.

Folin, O., and Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determination in proteins. *Journal of Biology and Chemistry*, 73, 424 - 427.

Fortes, M., Okos, M. (1980). Drying Theories: Their Bases and Limitations Applied to Food and Grain, *Advances in Drying*. Arun S. Mujumdar, 1, 119-154.

Foti, M1., Granucci, F., Ricciardi-Castagnoli, P. (2004). A central role for tissue-resident dendritic cells in innate responses. *Trends in Immunology*, 25, 650-654.

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., Anderson, J. (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.

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

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

INE, 2006. Estatísticas Demográficas. *Instituto Nacional de Estatística*.

INE, 2004. Estatísticas Demográficas. *Instituto Nacional de Estatística*.

Kaleemullah, S., and Gunasekar, J. (2002). Moisture-dependent physical properties of arecanut kernels. *Biosystems Engineering*, 82, 331-338.

Knabben, C., Costa, J. (2008). Manual de Classificação do Feijão. *Embrapa*, 12.

Kuskoski, E., Assuero, A., Morales, M., Fett, R. (2006). Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural*, 36,1283-1287.

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.

Lee, J., Umano, K., Shibamoto, T., Lee, G. (2005). Identification of volatile componentes in basil (*Ocimum basilicum*) and thyme leaves (*Thymes vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91, 131-137.

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

Machado, C., Ferruzzi, M., Nielsen, 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., Rivas-Gonzalo, J., Pérez-Alonso, J., González-Paramás, A., (2006). Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 94, 448-456.

Mahan, L., and Arlin, M. (1994). Alimentos, nutrição e dietoterapia. Roca.

Maldonado, S., and Sarmán, N. (2000). Composición química y contenido de minerales de leguminosas y cereales producidos en el noroeste argentino. *Archives Latinoamericanas de Nutrición*, 50, 195-199.

Mechi, R., Brazaca, C., Arthur, V. (2005). Avaliação química, nutricional e factores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25, 109 - 114.

Messina, M. (1999). Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 439-450.

Mesquita, R., Corrêa, A., Abreu, C., Lima, R., Abreu, A. (2007). Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. *Ciência e Agrotecnologia*, 31, 1114-1121.

Nacz, M., and 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., and 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., Zhang, T., Jiang, B, (2008). The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* α -amylase inhibitor. *British Journal of Nutrition*, 100, 1-12

Oliveira, V., Ribeiro, N., Jost, E., Londero, P. (2008). Qualidade nutricional e microbiológica do feijão cozido com ou sem água de maceração. *Ciência e Agrotecnologia*, 33, 1912-1918.

Oliveira, A., Queiroz, K., Helbig, E., Reis, S., Carraro, F. (2001). O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51, 276-278.

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, 916-919.

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.

Paula, J., Vieira, R., Zambolim, L. (2004). Manejo integrado de doenças do feijoeiro. *Informe Agropecuário*, 223, 99-112.

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.

Pires, C., Oliveira, M., Cruz, G., Mendes, F., De Rezende, S., Moreira, M. (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 fração fibra solúvel. Dissertação de mestrado, em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.

Pusztai, A., Grant, G., Buchan, W., Bardocz, S., Ewen, S. (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, 213-221.

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., Costa, N. (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., Shah, W. (2004). Domestic processing effects on some insoluble dietary fibre components of various food legumes. *Food Chemistry*, 87, 613-617.

Rios, A., Abreu, S., Côrrea, A. (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.

Rincon, F., Ros, G., Collins, J. (1993). Mineral loss in cowpeas (*Vigna unguiculata* L.) by pressure heating in water. *Journal of Food Science*, 58, 856-859.

Ripado, M. (1992). O feijão: amostras, cultura, produção. *Publicações Europa-América*.

Roginski, V., and Lissi, E. (2005). Review ou methods to determine chain-breaking antioxidante activity in food. *Food Chemistry*, 92, 235-254.

Sammán, N., Maldonado, S., alfaro, M., 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. (2002). Dry bean protein functionality. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22, 175-223.

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

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

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

Singleton, V., and Rossi, J. (1965). Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

Silva, A., (2010). Genetic variability protein and mineral content in common bean lines (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bean Improvement Cooperative*, 53, 144-145.

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

Sousa, C., Silva, H., Vieira, M., Charlyton, M., Costa, L., Araújo, D., Cavalcante, L., Barros, E., Brandão, M., Chaves, M. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, 30, 351-355.

Sun, B., Ribes, M., Leandro, M., Belchior, A., Spranger, M. (2006). Stilbenes quantitative extraction from grape skins contribution of grape solids to wine and variation during wine maturation. *Analytica Chimica Acta*, 563, 382-390.

Tharanathan, R., e Mahadevamma, S. (2003). Grain legumes – a boon to human nutrition. *Trends in Food Science e Technology*, 14, 507-518.

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

Thompson, M., Thompson, H., Brick, M., McGinley J., 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. and Canniatti-Brazaca1, S. (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., Gil, I., Romero, A., Campillo J. (2006). White bean amylase inhibitor administered orally reduces glycaemia in type 2 diabetic rats. *British Journal of Nutrition*, 96, 539-44.

USDA (2010). National Nutrient Database for Standart Reference, Release 23, <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search> (site consultado em 20/09/2014).

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

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

Vieira, F., Vieira, C., Vieira R. F. (2001). Leguminosas graníferas. UFV- Universidade Federal de Viçosa, MG.

Yamaguishi, C. (2008). Processo biotecnológico para a obtenção de caldo de feijão em pó. Dissertação de Pós-graduação em processos biotecnológicos Universidade Federal de Paraíba.

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