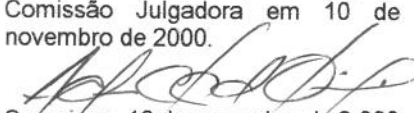


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE PLANEJAMENTO ALIMENTAR E NUTRIÇÃO

AÇÃO DA MACERAÇÃO PRÉVIA AO COZIMENTO DO
FEIJÃO-COMUM (*Phaseolus vulgaris*, L.)
NOS TEORES DE FITATOS E TANINOS
E CONSEQÜÊNCIAS SOBRE O VALOR PROTÉICO

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Elizabete Helbig, aprovada pela Comissão Julgadora em 10 de novembro de 2000.


Campinas, 10 de novembro de 2.000

ELIZABETE HELBIG

Nutricionista

Orientador:

Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira
Presidente da Banca

Prof. Livre Docente Dr. Admar Costa de Oliveira

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em Ciência da Nutrição - Área de Nutrição Básica e Experimental

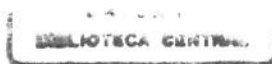
CAMPINAS - SP

2000

i

UNICAMP

BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE



UNIDADE	Be
N.º CHAMADA:	1/Unicamp
	H366a
Ex.	
OMBO BC/	43652
ROC.	16-392/02
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
REC	R\$ 11,00
DATA	08/02/01
N.º CPD	

CM-00154394-4


FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

H366a Helbig, Elizabete
Ação da maceração prévia ao cozimento do feijão-comum
(*Phaseolus vulgaris*, L.) nos teores de fitatos e taninos e
consequências sobre o valor protéico / Elizabete Helbig. –
Campinas, SP: [s.n.], 2000.

Orientador: Admar Costa de Oliveira
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Feijão-comum. 2.Taninos. 3.Processamento. 4.Proteínas.
5.Dietas. 6.Rato. I.Oliveira, Admar Costa de. II.Universidade
Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.
III.Título.

BANCA EXAMINADORA

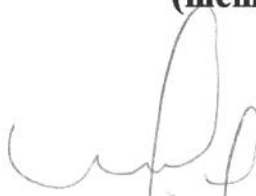


Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira
(orientador)

Prof. Dr. José Fernando Durigan
(membro)



Profa. Dra. Semíramis Martins Álvares Domene
(membro)



Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri
(membro)

Campinas, de novembro de 2000

**Dedico a meu esposo
Alvaro e minha filha Nathalia.**

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira, pela orientação e apoio.

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão da bolsa de estudos e financiamento do Projeto de Pesquisa.

Ao IAC - Instituto Agrônomo, Campinas - SP, especialmente à Dra. Priscila Fratin Medina, Diretora do Centro de Produção de Material Propagativo, pela doação das sementes da cultivar de feijão-comum.

À M. CASSAB Comércio e Indústria Ltda., na pessoa do Prof. Dr. Olavo Rusig, pela doação da mistura vitamínica.

À Corn Products Brasil - Ingredientes Industriais Ltda., pela doação do amido dextrinizado utilizado na elaboração das dietas experimentais.

À Dra. Soely Maria Pissini Reis pela ajuda técnica, pelo profissionalismo, pelo companheirismo e pela amizade durante o Curso.

À Sra. Susana Maria Correia Alves da Cunha, do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição, pelo apoio técnico durante a execução dos ensaios biológicos.

A todas as colegas do Curso, especialmente a Keila da Silva Queiróz e a Flávia Queiroga Aranha Almeida pela amizade e companheirismo.

À minha família, especialmente meu esposo Alvaro e minha filha Nathalia, pelo amor, apoio e compreensão.

SUMÁRIO

	página
ÍNDICE GERAL	xiii
ÍNDICE DE TABELAS	xix
ÍNDICE DE FIGURAS	xxv
RESUMO	xxvii
ABSTRACT	xxxiii
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - OBJETIVOS	4
3 - REVISÃO DA LITERATURA	5
4 - MATERIAL E MÉTODOS	26
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6 - CONCLUSÕES	53
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

ÍNDICE GERAL

	página
Índice de Tabelas	xix
Índice de Figuras	xxv
Resumo	xxvii
Abstract	xxxiii
1 Introdução	1
2 Objetivos	4
2.1 Objetivo Geral	4
2.2 Objetivos Específicos	4
3 Revisão da Literatura	5
3.1 Feijão e Nutrição Humana	5
3.1.1 Feijão-comum	5
3.1.2 Perfil de aminoácidos e digestibilidade de leguminosas	6
3.1.3 Fatores antinutricionais	9
3.1.3.1 Fitatos	10
3.1.3.2 Taninos	17
4 Material e Métodos	26

4.1 Material	26
4.1.1 Fontes protéicas	26
4.1.2 Animais para experimentação	26
4.2 Métodos	27
4.2.1 Químicos	27
4.2.1.1 Caracterização química da matéria-prima	27
4.2.1.2 Determinação de fitatos	28
4.2.1.3 Determinação de taninos	29
4.2.2 Biológicos	30
4.2.2.1 Animais e dietas experimentais	30
4.2.2.2 Ensaio biológico preliminar	31
4.2.2.3 Ensaios biológicos com feijão-comum	32
4.3 Análise Estatística	34
5 Resultados e Discussão	35
5.1 Composição Química da Matéria-Prima	35
5.2 Ensaios Biológicos	39
5.2.1 Ensaio biológico preliminar	39
5.2.2 Ensaios biológicos com feijão-comum	40

6 Conclusões	53
7 Referências Bibliográficas	54

ÍNDICE DE TABELAS

	página
Tabela 1. Composição centesimal de feijão-comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> , L.) cultivar IAC-Carioca lote 06/98, cru (FC) ou cozido e liofilizado com água de maceração (FCCAM), utilizado no ensaio biológico preliminar, média e desvio-padrão	36
Tabela 2. Composição centesimal de feijão-comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> , L.) cultivar IAC-Carioca lote 05/99, cru (FC) ou cozido sem maceração e liofilizado (FCSM), utilizado no ensaio biológico, média e desvio-padrão	37
Tabela 3. Composição centesimal de feijão-comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> , L.), cultivar IAC-Carioca lote 09/99, cru (FC) ou cozido sem maceração e liofilizado (FCSM), utilizado na repetição do ensaio biológico, média e desvio-padrão	38
Tabela 4. Ganho de peso (g), consumo de proteína (g) e quocientes de eficiência protéica (PER) e de eficiência protéica líquida (NPR) das dietas experimentais (média e desvio-padrão) obtidos no ensaio biológico preliminar com ratos Wistar machos recém-desmamados, oito ratos por tratamento	40

Tabela 5. Fitatos e taninos nos diferentes tratamentos de feijão-comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> , L.), cultivar IAC-Carioca, em base seca, e na água de maceração, média e desvio-padrão, com no mínimo n=3	42
Tabela 6. Teor de proteína das diferentes dietas experimentais (n=3, média e desvio-padrão)	43
Tabela 7. Ganho de peso (g), consumo de dieta (g) e NPR das dietas experimentais do ensaio biológico com ratos Wistar machos recém-desmamados, oito ratos por tratamento, cujas fontes protéicas eram caseína e feijão-comum lote 05/99	44
Tabela 8. Ganho de peso (g), consumo de dieta (g) e NPR das dietas experimentais do ensaio biológico com ratos Wistar machos recém-desmamados – feijão-comum lote 09/99	45
Tabela 9. Determinação de nitrogênio fecal (NF), ingerido (NI) e absorvido (NA) do ensaio biológico com ratos Wistar machos recém-desmamados, oito ratos por tratamento, submetidos a diferentes tratamentos cujas fontes protéicas eram caseína e feijão-comum lote 05/99, durante balanço de nitrogênio de 5 dias	46
Tabela 10. Determinação de nitrogênio fecal (NF), ingerido (NI) e absorvido (NA) do ensaio biológico com ratos Wistar machos recém-desmamados, submetidos a diferentes tratamentos cujas fontes protéicas eram caseína e feijão-comum lote 09/99	47

Tabela 11. Digestibilidade aparente e verdadeira (%), após cinco dias de balanço com ratos Wistar machos recém-desmamados alimentados com dietas contendo caseína e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivar IAC-Carioca lotes 05/99 e 09/99, como fontes protéicas

50

ÍNDICE DE FIGURAS

	página
Figura 1. Estrutura do ácido fítico proposta por Anderson (Erdman, 1979)	12
Figura 2. Estrutura química do tanino condensado (Singleton & Kratzer, 1973)	20
Figura 3. Destino de compostos polifenólicos no cozimento (Bressani et al., 1982)	22

RESUMO

No processamento doméstico do feijão, geralmente utiliza-se a maceração como método prévio à cocção. Esta prática traz modificações na constituição e no valor nutritivo do feijão, como em fatores antinutricionais e digestibilidade protéica. Neste trabalho, estudou-se o efeito da maceração no valor nutritivo do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) 'IAC-Carioca' no processamento doméstico. O presente trabalho foi dividido em três ensaios biológicos. Foram utilizados ratos machos Wistar recém-desmamados (21 dias, 45-50g). No primeiro, ensaio biológico preliminar, os ratos tiveram como fonte protéica a caseína contendo 12% de proteína na dieta, onde foram feitos três tratamentos: caseína controle (CC); caseína acrescida dos sólidos solúveis (CSS) encontrados na água não absorvida durante a maceração do feijão; e aprotéica para correção dos dados. Os resultados obtidos para ganho de peso (g), consumo de proteína (g), quociente de eficiência da proteína (PER) e quociente de eficiência protéica líquida (NPR), não apresentaram diferença estatística entre si ($p>0,05$) o que demonstrou que as quantidades extraídas dos fatores antinutricionais fitatos e taninos, através do descarte da água de maceração não absorvida pelos grãos, não foram capazes de afetar a qualidade de uma proteína como a caseína. Os outros dois ensaios foram realizados tendo-se o feijão-comum como fonte protéica. Para isso foram feitos cinco tratamentos com dietas experimentais cujas fontes protéicas (12% de proteína na dieta) eram, respectivamente: feijão cozido sem maceração liofilizado (FCSM), feijão cozido com a água de maceração liofilizado (FCCAM), feijão cozido sem a água não absorvida na maceração liofilizado (FCSAM), dieta

controle de caseína (CC), caseína mais os sólidos solúveis encontrados na água de maceração não absorvida (CSS) e dieta aprotéica (DA). Os teores de fatores antinutricionais, fitatos e taninos foram determinados nos diferentes processamentos do feijão e na água de maceração. Verificou-se que o teor de fitatos nos tratamentos submetidos à maceração e tratamento térmico apresentaram notável redução. Comparando-se os valores de FC e os demais tratamentos, obteve-se redução de 19,0% - 20,9% para o FCSM, 60,8% - 85,2% para FCSAM e 53,0% - 83,4% para o FCCAM. O mesmo foi observado para os valores de taninos; comparando-se os valores de FC e os demais tratamentos, observou-se redução de 83,7% - 86,6% para o FCSM, 88,2% - 88,7% para o FCSAM e 87,4% - 89,0% para o FCCAM. Estes resultados indicaram que a maceração reduziu os teores de fitatos no feijão, mas não interferiu na redução de taninos, e que o processamento térmico, por si só, foi capaz de ocasionar a redução destes compostos. Quanto aos índices de crescimento, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos cuja fonte protéica era o feijão-comum ($p>0,05$). Com relação à digestibilidade verdadeira, encontrou-se valores que variaram entre 94,1% a 94,6% para a caseína, e para o feijão-comum de 57,5% a 74,3%, respectivamente aos lotes 09/99 e 05/99, onde observou-se maior digestibilidade para o tratamento FCSM. Concluiu-se que a maceração não interferiu em índices de crescimento em animais submetidos às dietas contendo feijão-comum como fonte protéica, nem ocasionou redução dos taninos; no entanto, a maceração foi capaz de reduzir o teor de fitatos do feijão-comum. Por outro lado, a maceração não foi capaz de aumentar a

digestibilidade protéica do feijão-comum, visto que o tratamento FCSM obteve maiores valores de digestibilidade.

Palavras-chave: *feijão-comum, Phaseolus vulgaris, taninos, fitatos, processamento, proteínas, dietas, rato.*

ABSTRACT

The soaking of bean before cooking is a common practice in domestic processing. This practice results in changes in the constitution and nutritive value of the beans, for instance, in the antinutritional factors and protein digestibility. In this study, the effect of soaking on the nutritive value of the common bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) "IAC-Carioca" during domestic processing, was studied. The study was divided into three biological assays, using recently weaned male Wistar rats (21 days old, 45-50g). In the first preliminary assay, the protein source of the rats was casein at a level of 12% protein in the diet, applying three treatments: casein control (CC), casein plus the soluble solids found in the water not absorbed during the soaking of the freeze-dried beans (CSS) and a non-protein diet for data correction. The results obtained for weight gain (g), protein consumption (g), protein efficiency ratio (PER) and net protein efficiency ratio (NPR) showed no statistical differences between the treatments ($p>0.05$), demonstrating that the amounts of the antinutritional factors (phytates and tannins) removed by the elimination of the soaking water not absorbed by the beans, were not capable of affecting a good quality protein such as casein. The other two assays were carried out using the common bean as protein source. In this case there were five treatments with experimental diets (12% protein in the diet), using the following protein sources: freeze-dried bean cooked without prior soaking (BCNS), freeze-dried beans cooked with the soaking water (BCWSW), freeze-dried beans cooked without the water not absorbed during soaking (BCNSW), control casein diet (CC), casein plus the soluble solids found in the soaking

water not absorbed during soaking (CSS) and non-protein diet (AD). The levels of the antinutritional factors (phytates and tannins) were determined both in the differently processed beans and in the soaking water. It was shown that the levels of phytate were notably reduced in the treatments involving both soaking and heating. Comparing the values for raw bean (RB) with those for the other treatments, there was a reduction of 19.0% - 20.9% for BCNS, 60.8% - 85.2% for BCNSW and of 53.0% - 83.4% for BCWSW. The same was observed for the tannin levels, comparing the values for RB with those of the other treatments, showing the following reductions: 83.7% - 86.6% for BCNS, 88.2% - 88.7% for BCNSW and 87.4% - 89.0% for BCWSW. These results indicated that soaking considerably reduced the levels of phytate in the beans, but did not interfere in the reduction of tannins, heat processing alone being capable of reducing these compounds. With respect to growth rate, no significant differences were observed between the treatments using the common bean as protein source ($p>0.05$). The true values for digestibility varied from 94.1% to 94.6% for casein, and for the common bean, from 57.5% to 74.3% respectively, for the 09/99 and 05/99 batches, where the greatest digestibility was observed for the treatment BCNS. It was concluded that soaking did not interfere with the growth rate in animals fed on diets containing the common bean as protein source, nor did it reduce the tannin levels, but that soaking was capable of reducing phytate levels in the common bean. On the other hand, soaking was not capable of increasing the protein digestibility of the common bean, since BCNS gave the greatest values for digestibility.

Key words: *common bean, Phaseolus vulgaris, tannin, phytate, processing, protein, diets, rat.*

1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.), importante componente da dieta de todas as camadas sociais, detém status de prioridade dentre os produtos da agricultura brasileira. É cultivado por um amplo espectro de agricultores, em diferentes escalas, sistemas de produção, ambientes físicos e socioeconômicos. O Brasil é o maior produtor mundial de feijão, com uma produção estimada em torno de três milhões de toneladas, em uma área de 4,1 milhões de hectares (Reunião...,1999).

O elevado custo para a produção de proteína de origem animal reflete-se no uso de outras fontes protéicas de menor custo, dando ênfase ao uso de vegetais como fonte protéica para o consumo humano. No entanto, proteínas vegetais têm, geralmente, menor qualidade que as proteínas animais, quer seja pela baixa digestibilidade, limitação em aminoácidos essenciais, ou presença de substâncias comprometedoras da biodisponibilidade de proteínas e minerais (Modgil & Mehta, 1997).

De acordo com Khokhar & Chauhan (1986), os processamentos domésticos e os métodos de cocção são conhecidos por reduzirem os fatores antinutricionais, melhorando o valor nutricional das leguminosas. Deshpande e Cheryan em 1983, citados por Barampama & Simard (1994), observaram que a maceração de feijões facilita a cocção, reduzindo o tempo de cozimento. Outros métodos como o descorticamento e cocção, a autoclavagem ou cocção sob pressão e a germinação, têm demonstrado que são eficientes na redução de fatores antinutricionais das leguminosas (Sharma & Sehgal, 1992). Entretanto,

o grupo dos polifenóis apresenta certa atividade que permanece após tratamento térmico (Goycoolea et al., 1990).

Segundo Tezoto & Sgarbieri (1990), as proteínas presentes em plantas do gênero *Phaseolus* têm sido caracterizadas como tendo baixo valor nutritivo devido à limitada quantidade de aminoácidos sulfurados, baixa digestibilidade, baixa biodisponibilidade de aminoácidos essenciais e presença de proteínas tóxicas e de outros fatores antinutricionais. Entretanto, Jood et al. (1989) constataram que a digestibilidade "in vitro" das proteínas de leguminosas cozidas era maior quando os grãos sofriam maceração, o que também foi constatado por Barampama & Simard (1994). Yadav & Khetarpaul (1995) observaram efeito semelhante quando avaliaram o efeito da maceração associada com temperatura e tempo de cocção. Também tem sido relatado que o tratamento térmico, na forma de branqueamento, é um método efetivo na redução de fatores antinutricionais em vegetais verdes (Mosha et al., 1995).

O valor nutritivo de um alimento não deve ser estimado exclusivamente pela sua composição em nutrientes, uma vez que ele é resultado da combinação de fatores como o equilíbrio e interações entre seus constituintes, além das conseqüências deixadas pelo processamento e armazenagem. Para o feijão, estudos demonstraram a existência de compostos que podem atuar como agentes que reduzem a biodisponibilidade de proteínas e minerais, como o ácido fítico e os taninos (Lathia et al., 1987; Sharma & Sehgal, 1992; Barampama & Simard, 1994).

Quanto à utilização ou não da maceração em feijão, a questão é controversa, embora evidências tendam para a utilização. Mais controversa é a questão do descarte ou não da água de maceração não absorvida pelo feijão, antes do cozimento. Observa-se que na vida prática são utilizados os dois procedimentos, os quais se baseiam apenas na experiência, sem caráter científico, sendo que aspectos mais profundos, como a existência de fatores antinutricionais e a relação destes com o processo de maceração prévio à cocção ainda carecem de estudo.

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito da maceração prévia à cocção do feijão, nos teores de fitatos e taninos, e também o efeito destes teores nos índices de crescimento e na digestibilidade da proteína, visando melhorar o aproveitamento desta leguminosa na alimentação humana.

2 OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho foram:

2.1 Objetivo Geral

- Verificar o efeito da maceração, realizada por 16 horas a 20°C, no teor de fitatos, taninos e no valor protéico de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) submetido ao cozimento.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a composição centesimal do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) cultivar IAC-Carioca, utilizado como matéria-prima no presente estudo.
- Determinar os teores de fitatos e taninos na água de maceração, no feijão cru e nos feijões cozidos, macerados e não macerados, com ou sem o uso da água de maceração não absorvida.
- Determinar o valor protéico dos feijões cozidos sem maceração e macerados, cozidos com ou sem a água de maceração não absorvida.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Feijão e Nutrição Humana

3.1.1 Feijão-comum

O cultivo de leguminosas, dentre elas o feijão, é paralelo à civilização humana e ao surgimento da agricultura (Deshpande, 1992). Existe uma enorme diversidade entre as leguminosas (Dickison, 1981). Botanicamente, a família *Leguminosae* abrange aproximadamente 650 gêneros e 18.000 espécies por todo o globo terrestre (Polhill et al., 1981).

No período compreendido entre 1891 a 1894, Laubert descreveu a classificação da família *Leguminosae*, sendo que esta foi subdividida em três subfamílias: *Caesalpinoideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae* (ou *Faboideae*) (Deshpande & Damodaran, 1990). Ainda de acordo com Deshpande & Damodaran (1990), as leguminosas domésticas pertencem a subfamília das *Papilionoideae*, com três tribos diferentes: *Vicieae*, *Phaseolaeae* e *Hedysareae*, pertencendo o feijão a tribo *Phaseolaeae*.

Kaplan (1965), com base em investigações arqueológicas, sugeriu que o feijão-comum teve origem no continente americano, especialmente no sul dos Estados Unidos e no México, particularmente nas regiões de cultura

incaica. A espécie *Phaseolus vulgaris* foi introduzida na Europa no século XVI e rapidamente difundiu-se por várias regiões do mundo.

O feijão-comum é importante fonte energética, especialmente em países em desenvolvimento, onde ele é uma das maiores fontes protéicas da dieta. Os feijões são boa fonte de proteínas, vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina e piridoxina) e certos minerais (Ca, Fe, Cu, Zn, P, K e Mg). Possuem efeitos benéficos para a saúde humana, sendo excelentes fontes de carboidratos complexos e ácidos graxos poliinsaturados - linoléico e linolênico (Martín-Cabrejas et al., 1997) e de fibra alimentar solúvel, que auxilia na redução dos níveis séricos de colesterol e glicose, e fibra alimentar insolúvel, contribuindo na formação do bolo fecal, aumentando o peristaltismo e diminuindo o tempo de trânsito intestinal (Torre et al., 1991).

3.1.2 Perfil de aminoácidos e digestibilidade das proteínas de leguminosas

O valor nutritivo de uma proteína depende de sua composição em aminoácidos, digestibilidade, biodisponibilidade dos aminoácidos essenciais, fatores antinutricionais e ausência de toxicidade. A determinação do valor protéico de um alimento, corresponde à sua capacidade para satisfazer as necessidades do organismo em aminoácidos e assegurar crescimento e manutenção convenientes. Desta forma, a qualidade de uma proteína

dependerá do seu balanço em aminoácidos essenciais, da sua digestibilidade, da sua utilização após a absorção e de uma mínima taxa de oxidação obrigatória (Friedman, 1996).

As proteínas de origem vegetal têm uma composição em aminoácidos que é, de maneira geral, nutricionalmente menos favorável do que a das proteínas animais (Friedman, 1996). Embora as leguminosas tenham um lugar de destaque na alimentação humana, devido ao seu bom teor de proteína, vários estudos têm demonstrado a sua deficiência em aminoácidos sulfurados, metionina e cistina (Deshpande, 1992).

De acordo com Sgarbieri (1989), a biodisponibilidade de aminoácidos é influenciada por vários fatores como a digestibilidade, a estimulação de perdas endógenas, modificações químicas e físicas durante o armazenamento e preparo industrial ou doméstico. A menor biodisponibilidade de metionina na fração albumina e em resíduos insolúveis dos grãos da cultivar Carioca, pode ser atribuída a vários fatores como a reação tipo Maillard e outros tipos que podem ocorrer devido à elevada quantidade de carboidratos presentes na fração albumina e nos resíduos insolúveis. As globulinas, por sua vez representam a maior fração protéica em feijões, cerca de 50% do total protéico; a fração albumina aparece em concentrações que variam de 10% a 30%, apresentam elevadas quantidades de aminoácidos sulfurados, com considerável número de ligações dissulfeto e é a fração caracterizada por apresentar proteínas com atividade enzimática, fatores antinutricionais e proteínas armazenadas (Marquez & Lajolo, 1990).

As leguminosas em seu estado "*in natura*" possuem baixo valor

nutritivo. No entanto melhora na digestibilidade da proteína e do seu potencial nutritivo pode ser obtido, quando os grãos são submetidos aos processos de embeбimento, retirada da casca, germinação, e cozimento em calor úmido ou outras formas de tratamento por aquecimento (Sharma & Sehgal, 1992).

A digestibilidade das leguminosas situa-se na faixa de 72% a 89%, sendo que nos produtos de soja, os níveis mais altos de digestibilidade protéica variam entre 90% e 98% (FAO, 1991) e no feijão em torno de 60% (Sgarbieri, 1996). O escore de aminoácidos, por sua vez, varia de 0,92 a 0,99 corrigido pela digestibilidade (FAO, 1991). A dieta contendo proteína de leguminosas como única fonte protéica falha em sustentar a taxa de crescimento equivalente às proteínas padrões como a caseína e a proteína do ovo integral (Deshpande & Damodaran, 1990). Alguns fatores como a presença de substâncias antinutricionais, a estrutura da proteína e a complexação com amido, hemiceluloses, minerais e outras proteínas limitam a digestibilidade e reduzem a qualidade nutricional das leguminosas (Longstaff & McNab, 1991).

A baixa digestibilidade das proteínas de leguminosas pode ser causada pela interação de aminoácidos e proteínas com componentes da fibra alimentar insolúvel. Melito & Tovar (1995) observaram diferenças na digestibilidade de proteínas de certas leguminosas (79-87%) tratadas termicamente e a caseína (95%). Estes autores sugerem que a ocorrência de paredes celulares envolvendo as frações protéicas, em leguminosas submetidas a tratamento térmico brando, reduz o acesso das enzimas digestivas a estes constituintes.

Deshpande (1992) discorda que as proteínas provenientes de leguminosas são nutricionalmente inferiores, visto que raramente as leguminosas são consumidas como única fonte de nutrientes da dieta, e são ricas fontes de lisina, principal aminoácido deficiente na maioria das proteínas originárias de plantas, apesar de deficientes em aminoácidos sulfurados, metionina e cistina. As proteínas provenientes de cereais são pobres em lisina, mas têm adequada quantidade de aminoácidos sulfurados. A suplementação das leguminosas com aminoácidos sulfurados sua combinação com alimentos complementares como cereais permitem a obtenção de uma alimentação equilibrada em aminoácidos essenciais e minimiza suas deficiências nutricionais. Isto tem sido usado como caminho para combater a desnutrição protéico-energética, problema comum em países em desenvolvimento (Singh, 1991, citado por Chitra et al., 1995).

3.1.3 Fatores antinutricionais

Os grãos de leguminosas contêm um grupo de constituintes conhecidos como fatores antinutricionais, que podem provocar efeitos fisiológicos adversos ou diminuir a biodisponibilidade de certos nutrientes (Wyatt & Triana-Tejas, 1994; Bravo, 1998). Muitos dos fatores antinutricionais presentes em leguminosas podem ser eliminados ou inativados, em grande extensão, por procedimentos como aquecimento,

embebimento, esterilização e cozimento em vapor úmido (Vijayakumari et al., 1998).

A germinação de grãos também tem sido utilizada como tratamento efetivo na remoção de fatores antinutricionais em leguminosas, através da mobilização de compostos metabólicos secundários, que provavelmente funcionam como reserva de nutrientes, como os fitatos e os oligossacarídeos (Chitra et al., 1996).

O papel dos fatores antinutricionais tem sido questionado, quanto ao potencial de algumas destas substâncias em exercer funções benéficas ao organismo humano. A habilidade do ácido fítico em atuar como anticarcinogênico (Shamsuddin, 1992) e antioxidante (Empson et al., 1991) e a possível contribuição nutricional de lectinas e do ácido fítico no tratamento de diabetes, através da ação inibidora de α -amilases, são exemplos da diversidade de atuação destas substâncias.

3.1.3.1 Fitatos

Os fitatos representam uma classe complexa de compostos de ocorrência natural formados durante o processo de maturação das sementes de cereais (Torre et al., 1991). A proporção de ácido fítico é cerca de 1% a 5% em base seca de cereais, leguminosas e oleaginosas (Cheryan, 1980; Burbano et al., 1995). Nas sementes de leguminosas, o ácido fítico faz parte de

aproximadamente 70% do conteúdo de fosfato, sendo estruturalmente integrado com proteínas e/ou minerais na forma de complexos (Zhou & Erdman, 1995). Cerca de 75% do ácido fítico está associado com componentes da fibra solúvel (Torre et al., 1991).

O ácido fítico é normalmente denominado ácido hexafosfórico mio-inositol (IP6) ou 1,2,3,4,5,6 hexaquis (diidrogênio fosfato) mio-inositol (Sandberg et al., 1989). A Figura 1 apresenta a estrutura do ácido fítico proposta por Anderson em 1914 (Erdman, 1979). Diversos autores, desde o início do século, propuseram modelos que pudessem representar a estrutura do ácido hexafosfórico mio-inositol - IP6 como Suzuki et al., em 1907; Neuberg, em 1908; Starkenstein, em 1910; Anderson, em 1914; e Posternak, em 1921, citados por Reddy et al. (1989). Estudos com raios-X e ressonância nuclear magnética demonstraram que o IP6 pode existir em duas conformações, de acordo com o pH da solução. As estruturas propostas por Neuberg, em 1908 e Anderson, em 1914 são as mais aceitas como representativas da maior parte do IP6 encontrado em vegetais, contudo, a hipótese de que existam outras estruturas, com mais hidrogênios também é aceita (Erdman, 1979).

O ácido fítico tem importantes funções fisiológicas, mas a principal é a de servir de reservatório de fósforo, cátions e matéria-prima para a formação das paredes celulares, tanto para a germinação, como para o desenvolvimento e crescimento da planta. Supõe-se que o ácido fítico protege as sementes contra o dano oxidativo durante a armazenagem (Graf, 1983, Lásztity & Lásztity, 1990). Gupta e Venkitasubramanian, em 1975, citados por Cheryan (1980) têm sugerido que o ácido fítico também desempenha um

papel micológico no campo, prevenindo a produção de aflatoxina em grãos pela indisponibilidade de zinco para a matriz.

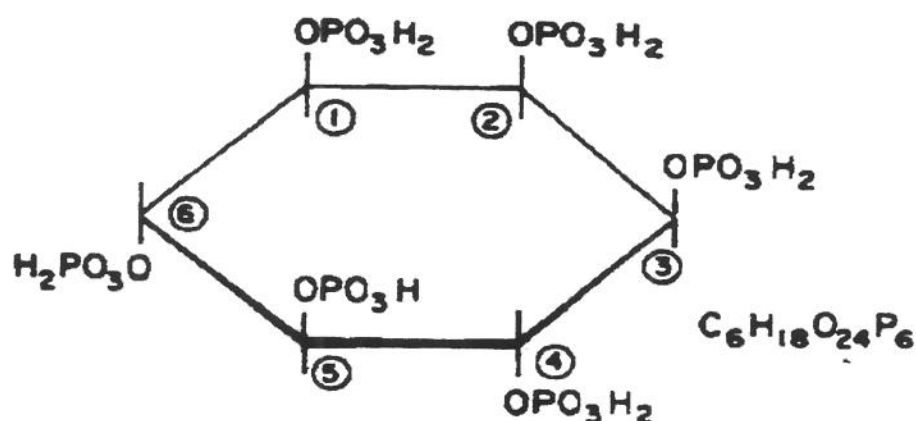


Figura 1. Estrutura do ácido fítico proposta por Anderson (Erdman, 1979)

O ácido fítico tem seis prótons fortemente dissociados com pK's menor do que 3,5 e seis prótons fracamente dissociados com pK's entre 4,6 e 10,0 sugerindo forte potencial quelante a estrutura.

Durante a estocagem, fermentação, germinação, processamento e digestão dos grãos e sementes, o ácido fítico pode ser parcialmente defosforilado para produzir compostos pentafofato (IP_5), tetrafofato (IP_4),

trifosfato (IP_3) e possivelmente inositol difosfato (IP_2) e monofosfato (IP_1), por ação de fitases endógenas (Zhou & Erdman, 1995; Burbano et al., 1995). A fitase naturalmente presente nos grãos é a mais importante forma de diminuição do conteúdo de ácido fítico; a maceração, a germinação e a fermentação são apontadas como formas efetivas de hidrólise do ácido fítico (Tangendjaja et al., 1981; Khan et al., 1986; Sandberg & Svanberg, 1991).

Segundo Sandberg et al. (1989) somente IP_6 e IP_5 têm efeito negativo na biodisponibilidade de minerais, visto que, ou os outros compostos formados têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou estes complexos formados são mais insolúveis. Alguns fatores, tais como, pH, concentração e presença de outros minerais influenciam a ligação de minerais com fitato (Wyatt & Triana-Tejas, 1994).

Nos alimentos, sob condições naturais, o ácido fítico encontra-se fortemente carregado negativamente, o que lhe confere alto potencial para complexação com moléculas carregadas positivamente como cátions e proteínas. O ácido fítico pode formar complexos com proteínas em pH ácido ou alcalino, desde que as proteínas estejam abaixo ou acima do pH isoelétrico. Estudos indicam que os complexos fitato-proteína são formados por interações eletrostáticas que envolvem os grupos α -amino terminal, ϵ -amino da lisina, imidazol da histidina, guanidil da arginina e carboxílico do ácido aspártico e ácido glutâmico. Sob certas concentrações de fitato, ao aumentar-se o pH pode ocorrer, tanto a interação de fitatos com minerais ou proteínas, como também a formação de complexos ternários proteína-metal-fitato. Em baixo pH, o ácido fítico precipita Fe^{3+} quantitativamente e em pH intermediário e alto, o

ácido fítico forma complexos insolúveis com outros cátions polivalentes, reduzindo a biodisponibilidade de vários minerais (Cheryan, 1980).

De acordo com Torre et al. (1991), o ácido fítico sob condições fisiológicas é fortemente ionizado e é capaz de interagir extensivamente com proteínas e íons metálicos. Muitos desses complexos são insolúveis e biologicamente indisponíveis para seres humanos em condições fisiológicas normais. Em pH 7,4 o fitato forma complexos com metais na seguinte ordem decrescente: $\text{Cu}^{++} > \text{Zn}^{++} > \text{Co}^{++} > \text{Mn}^{++} > \text{Fe}^{++} > \text{Ca}^{++}$. A solubilidade dos complexos também está em função da taxa molar mineral:fitato. Hira & Kaur (1993) obtiveram menor relação molar fitato/zinco e fitato/cálcio, em leguminosas e cereais cozidos quando comparados aos grãos crus, devido ao decréscimo do conteúdo de fitato, principalmente nos grãos que foram assados a 250°C.

Zhou & Erdman (1995) observaram que os cátions divalentes, como cálcio, zinco, ferro e cobre, formam com o ácido fítico sais insolúveis penta e hexa substituídos. Complexos insolúveis ácido fítico-cálcio podem contribuir para reduzir a biodisponibilidade de outros minerais. O zinco ou ferro podem ligar-se com o complexo ácido fítico-cálcio para formar complexos ainda menos solúveis.

Em estudos sobre a qualidade de feijões cozidos, Deshpande & Damodaran (1990) encontraram uma correlação negativa entre o tempo de cozimento e o teor de ácido fítico. No entanto, o fitato é geralmente considerado bastante estável ao calor. Vijayakumari et al. (1998) observaram

que a maceração reduzia em 40% o conteúdo de ácido fítico, com 35% de redução após a cocção por 30 minutos; entretanto, a autoclavagem ocasionou menor redução deste componente quando comparado à cocção.

O teor de fósforo orgânico em feijões submetidos ao embeбimento é dependente da dissolução do fitato na água de embeбimento e da atividade da enzima fitase. Os seres humanos possuem capacidade limitada para hidrolisar a molécula de fitato. Entretanto, animais como o rato podem apresentar fitase em seu intestino. Utilizando-se ratos "germ-free", Yoshida & Ohkubo (1984) verificaram a capacidade da flora intestinal em interferir sobre a digestibilidade do ácido fítico, e demonstraram não existir diferença sobre a digestibilidade de dietas com ou sem adição de ácido fítico, em situações de presença de flora intestinal normal ou em sua ausência.

Altos níveis de ingestão de fitato podem estar associados com efeitos nutricionais adversos ao homem (Khokhar & Pushpanjali, 1994; Heaney et al., 1991), visto que estes compostos são conhecidos pela redução na biodisponibilidade de minerais, proteína e inibição de enzimas proteolíticas e amilolíticas (Messina & Barnes, 1991; Vaintraub & Bulmaga, 1991). Embora o ácido fítico seja capaz de precipitar cátions a pH intestinal, somente em raros casos a presença do ácido fítico na dieta pode estar diretamente associada com deficiências de minerais em seres humanos. Kelsay (1987), em revisão de resultados de numerosos estudos com pessoas adultas consumindo dietas variadas, concluiu que não existem efeitos negativos sobre a biodisponibilidade dos minerais em dietas contendo até 2g de ácido fítico por dia.

Messina & Barnes (1991) e Shamsuddin (1992) sugerem um papel positivo dos fitatos com relação a redução do risco de câncer de cólon, prevenção de cálculo renal e ação antioxidante. Em função da propriedade antioxidativa, o ácido fítico pode ser usado como conservante natural, versátil na indústria de alimentos, prevenindo a hidrólise de óleo de soja, a rancidez em carnes e estabilizando agentes que conferem cor aos alimentos (Empson et al., 1991).

A habilidade do fitato em ligar-se a metais, particularmente ao ferro, pode explicar sua ação antioxidante e anticarcinogênica (Messina & Barnes, 1991). O fitato é um poderoso inibidor da produção do radical hidroxila (-OH) mediada pelo ferro por causa de sua capacidade de formar quelato com este mineral tornando-o cataliticamente inativo. Além disso, o ácido fítico altera o potencial redox do ferro mantendo-o na forma ferrosa (Fe^{2+}). Este efeito oferece proteção contra danos oxidativos, visto que o Fe^{3+} causa produção de oxiradicais e peroxidação de lipídios, enquanto o Fe^{2+} é relativamente inerte (Empson et al., 1991).

Estudos "in vitro" demonstraram que o IP_2 e o IP_3 são efetivos em inibir a formação de cristais de hidroxiapatita, prevenindo a mineralização de tecidos. Desta forma, o ácido fítico pode funcionar como inibidor da formação de cálculos renais (Zhou & Erdman, 1995).

3.1.3.2 Taninos

Os polifenóis constituem um dos mais numerosos grupos de metabólitos de plantas, são parte integrante das dietas de humanos e de animais; variam desde simples moléculas fenólicas a compostos altamente polimerizados com peso molecular acima de 30.000Da. A ocorrência deste grupo complexo de substâncias nos alimentos de origem vegetal é extremamente variável (Bravo, 1998).

Os ácidos fenólicos, cumarinas e flavonóides, pertencem a uma classe de metabólitos secundários, contêm pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila, juntamente com outros substituintes, e são largamente distribuídos em plantas. Os polifenóis de leguminosas e cereais são predominantemente taninos de origem flavonóide. O grupo de compostos flavonóides, do qual fazem parte os taninos, possuem uma estrutura básica, $C_6-C_3-C_6$, que incluem os mais diversos e numerosos compostos fenólicos de plantas: pigmentos antocianinas, flavonas, flavonóis, flavanonas e outros menos conhecidos, auronas, chalconas e isoflavonas (Salunkhe et al., 1990).

Os fenóis comuns em plantas não são considerados tóxicos em quantidades e condições normais, com exceção dos fenóis poliméricos denominados taninos, que possuem a habilidade de complexar e precipitar proteínas de soluções aquosas (Salunkhe et al., 1990). Taninos são compostos fenólicos solúveis em água, com peso molecular entre 500Da e 3000Da e habilidade para precipitar proteína, com alto peso molecular, que contém

suficientes grupos hidroxila fenólica, para permitir a formação de ligações cruzadas estáveis com proteínas. Na forma oxidada os taninos reagem com as proteínas através de pontes de hidrogênio e/ou ligações hidrofóbicas. Quando oxidados os taninos se transformam em quinonas, as quais formam ligações covalentes com alguns grupos funcionais das proteínas, principalmente os grupos sulfidrilos da cisteína e epsilon-amino da lisina (Sgarbieri, 1996).

Os taninos podem ser classificados como hidrolisáveis e não hidrolisáveis (Singleton & Kratzer, 1973).

Os taninos hidrolisáveis por hidrólise ácida liberam ácidos fenólicos: gálico, caféico, ou elágico e um açúcar (Sgarbieri, 1996). O ácido tânico é um típico tanino hidrolisável, o qual é quebrado por enzimas ou de forma espontânea, a glicose e ácido gálico (Singleton & Kratzer, 1973).

Os taninos não hidrolisáveis ou condensados (Figura 2), são polímeros de flavonóides, formados predominantemente por unidades de flavan-3-ols (catequina) e flavan 3,4-diols (leucoantocianidina), presentes em maior quantidade nos alimentos normalmente consumidos. Os taninos condensados estão presentes na fração fibra alimentar de diferentes alimentos e podem ser considerados indigeríveis ou pobremente digeríveis. Em leguminosas e cereais, eles têm recebido considerável atenção, devido aos seus efeitos adversos na cor, sabor e qualidade nutricional (Salunkhe et al., 1990).

Os taninos também são considerados potentes inibidores de enzimas devido à sua complexação com proteínas enzimáticas (Naczki et al., 1994).

Estes compostos apresentam habilidade para interagir e precipitar proteínas como a gelatina, e parecem ser responsáveis pela adstringência de muitas plantas.

Os polifenóis são essenciais para a fisiologia da planta, eles contribuem para a morfologia (pigmentação), estão envolvidos no crescimento e reprodução, e oferecem resistência à planta contra patógenos e predadores, pelo aumento da ação de fitoalexinas ou pelo aumento da adstringência, tornando o alimento inapetente (Bravo, 1998).

Os compostos polifenólicos em feijões são primariamente localizados na cobertura da semente e em quantidades baixas ou insignificantes nos cotilédones. As diferenças de coloração entre feijões parece estar associadas à concentração de taninos nos grãos. Chang et al. (1994) obtiveram maiores teores de taninos em grãos de leguminosas coloridos quando comparado com os grãos de cor branca.

A grande tendência dos taninos para formar complexos com proteínas ao invés de carboidratos e outros polímeros, pode explicar a baixa digestibilidade das proteínas, assim como a inibição do crescimento e o aumento da excreção de nitrogênio fecal por animais alimentados com leguminosas (Kaur & Kapoor, 1992; Deshpande & Damodaran, 1990).

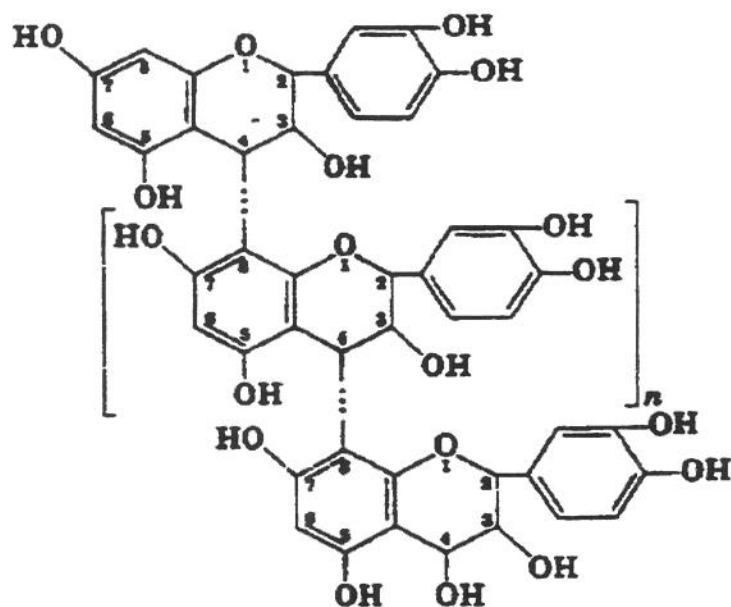


Figura 2. Estrutura química do tanino condensado (Singleton & Kratzer, 1973)

Os polifenóis ou taninos condensados, particularmente os de genótipos coloridos, são mencionados, com freqüência, como sendo os maiores limitantes do valor nutritivo dos grãos de leguminosas, visto que, estudos com animais alimentados com dietas ricas em polifenóis indicam redução na ingestão de alimentos e baixo quociente de eficiência protéica (Deshpande, 1992).

Chang et al. (1994) encontraram aumento da concentração de taninos em feijão-de-corda durante o processo de maturação, ocasionando o

escurecimento das sementes em diferentes graus. Estes autores relataram que a maioria dos taninos estavam presentes na casca; conseqüentemente, o processo de descorticação pode reduzir em 96% o teor deste componente. Também relata que o aquecimento em água, por 30 minutos remove de 38% a 76% dos taninos.

Ao investigar o destino dos polifenóis durante o processo de cozimento de feijões, Bressani et al. (1982) encontraram que com a elevação da temperatura, os polifenóis podem ligarem-se com algumas proteínas, serem eliminados na água de cozimento, permanecerem livres ou sofrerem polimerização (Figura 3). Ainda foram sugeridas as seguintes hipóteses: os polifenóis livres podem influenciar indiretamente a digestão das proteínas por inibição da atividade enzimática, ou durante o cozimento, os polifenóis podem penetrar no cotilédono e reagir com suas proteínas, tornando-as menos suscetíveis à hidrólise enzimática.

No processo de detoxificação de taninos em animais, a metionina e a colina reagem com taninos para formar monometil éteres, o que pode resultar em depleção de doadores de metil metionina e colina no organismo (Reddy et al., 1985).

Marquez & Lajolo (1990) observaram baixa digestibilidade (62,8%) e excreção fecal de nitrogênio superior a 30%, em estudo realizado com ratos alimentados com feijão (*Phaseolus vulgaris*) autoclavados a 121°C por 30 minutos. Os autores atribuem esses resultados a provável ação de polifenóis, a interação de fibras com a mucosa intestinal ou a reações

induzidas pelo aquecimento.

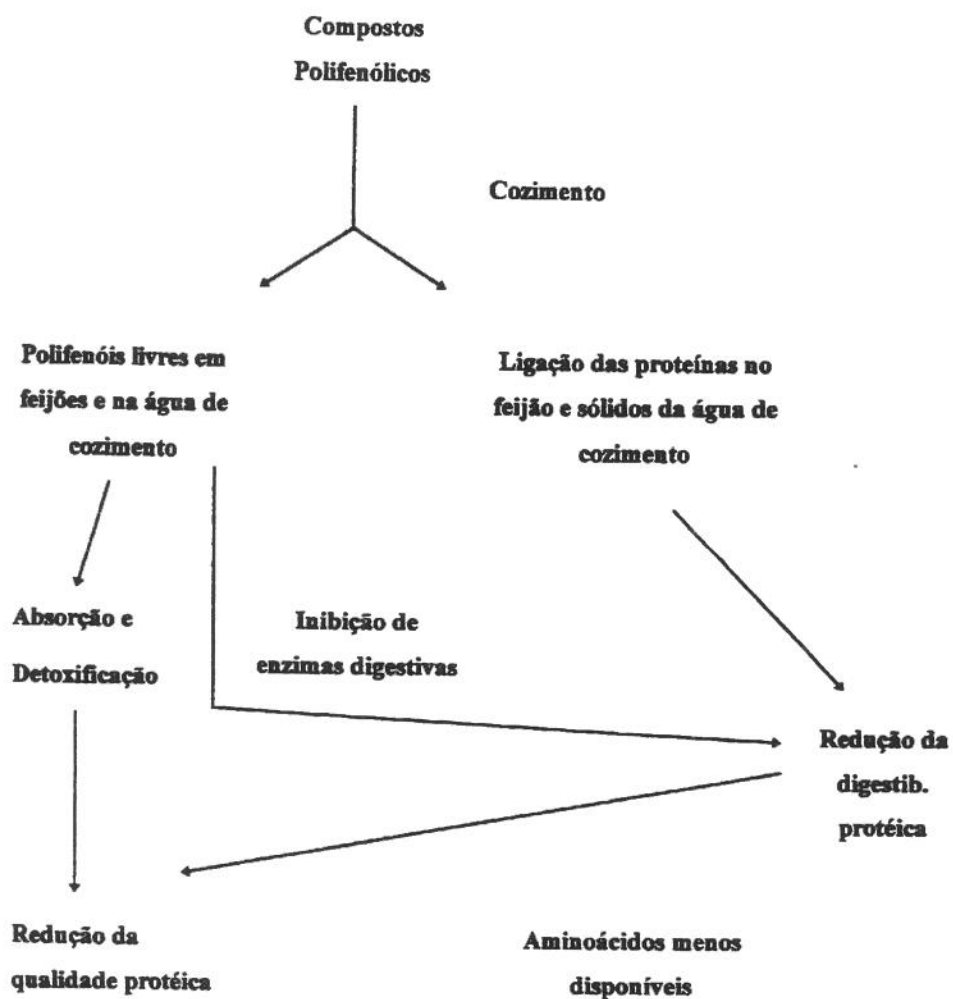


Figura 3. Destino de compostos polifenólicos durante o cozimento de feijões (Bressani et al., 1982)

taninos. Quando investigou-se o efeito dos polifenóis da casca de "field bean", de variedades de alto e baixo conteúdo de taninos, na atividade de enzimas do intestino de ratos, os resultados mostraram que a atividade da tripsina e da α -amilase foram significativamente reduzidas nos ratos alimentados com a dieta contendo feijões com alto teor de tanino, indicando que a inibição enzimática pode também contribuir para a redução do valor nutritivo "in vivo" observada em dietas com alto teor de tanino. Entretanto, não houve inibição da atividade da lipase (Reddy et al., 1985)

O embebimento de grãos de leguminosas em água resulta em redução do teor de taninos. Sem o embebimento, 70% dos taninos originais permanecem no feijão, mesmo após o cozimento por 60 minutos. Deste modo, os taninos residuais em feijões cozidos podem atuar como inibidor de tripsina resistente ao calor (Jood et al., 1989).

As evidências experimentais dos estudos de Siegenberg et al. (1991) confirmam prévias observações de que os compostos polifenólicos inibem significativamente a absorção de ferro. Para este autor, o efeito negativo do tanino na absorção de ferro pode ser efetivamente prevenido pela administração simultânea de ácido ascórbico.

Proulx et al. (1993) não observaram, em ratos, efeito negativo de taninos na absorção de ^{45}Ca , nos grãos de três variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris*) crus ou cozidos. Para os autores, a explicação dos resultados não é clara, entretanto, os taninos podem ligar-se preferencialmente ao ferro deixando o cálcio livre.

A dieta do ser humano, de maneira geral, possui vários alimentos contendo considerável quantidade de taninos, tais como: feijões secos, ervilhas, cereais, folhas e vegetais verdes, café, chá, cidra e alguns tipos de vinhos. Os efeitos de taninos em seres humanos são desconhecidos, embora seja consenso que substâncias que formam complexos com compostos nitrogenados provavelmente devem influenciar a digestão e a absorção de nutrientes (Chang et al., 1994).

Sabe-se também que o efeito dos polifenóis presentes em grãos de leguminosas, na digestibilidade das suas proteínas é relativamente pequeno, visto que, somente influenciam 7% da digestibilidade de suas proteínas, enquanto outros fatores como o inibidor de tripsina podem influenciar a digestibilidade das proteínas em 25% (Bressani et al., 1982). Contudo, algumas considerações epidemiológicas indicam alguma evidência da relação entre câncer esofágico e ingestão elevada de taninos (Singleton & Kratzer, 1973; Deshpande & Damodaran, 1990).

Durán & Padilha (1993) revisaram os inconvenientes de antioxidantes sintéticos em alimentos e a atividade antioxidante natural de compostos fenólicos. Para estes autores, perante a crescente oposição do emprego de antioxidantes sintéticos na alimentação, é aconselhável a substituição dos mesmos por compostos naturais com atividade antioxidante, como os compostos fenólicos que apresentam atividade antioxidante para muitos compostos facilmente oxidáveis.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Fontes protéicas

Utilizou-se feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), da cultivar IAC-Carioca, lotes 06/98, 05/99 e 09/99, proveniente do Centro de Produção de Material Propagativo do Instituto Agrônomo, Campinas - SP (IAC) e caseína comercial (M. CASSAB Comércio e Indústria Ltda., SP) utilizada como controle.

4.1.2 Animais para experimentação

Utilizou-se ratos albinos machos, recém-desmamados (21 dias), da linhagem Wistar, com peso médio de 45-50g, provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas, SP.

4.2 Métodos

4.2.1 Químicos

4.2.1.1 Caracterização química da matéria-prima

Nos feijões crus e cozidos, com e sem maceração, foram determinadas as seguintes características composicionais, segundo A.O.A.C. (1995): umidade, proteína total pelo método de Kjeldahl (Williams, 1973), utilizando 5,4 como fator de conversão para a proteína de feijão (Mossé, 1990) e 6,38 para a caseína, lipídeos totais (Bligh & Dyer, 1959), cinzas (Lees, 1979), fibra bruta (Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, 1987) e carboidratos determinados por diferença, usando a fórmula: $100 - (\text{proteínas} + \text{lipídeos} + \text{fibra bruta} + \text{cinzas} + \text{umidade})$. As análises foram realizadas no mínimo em triplicata e expressas em base seca. Todas as amostras foram adequadamente moídas (70 mesh) e mantidas sob refrigeração até o momento das análises.

4.2.1.2 Determinação de fitatos

A determinação do conteúdo de fitatos seguiu a metodologia proposta por Latta & Eskin (1980). Fitatos foram extraídos de 5 gramas de farinha de feijão cru seco com granulometria 70 mesh, com 100ml HCl a 2,4%, em agitação por 1 hora à temperatura ambiente seguido de centrifugação por 10 minutos a 3.000rpm. Coletou-se 1ml do sobrenadante, em triplicata, que foi diluído em balão volumétrico para 25ml com água destilada. Desta diluição, 10ml foram eluídos em coluna com resina de troca aniônica (AG1-X8), inicialmente com 15ml de solução de NaCl a 0,1M para remoção dos fosfatos inorgânicos e por último com 15ml de solução de NaCl 0,7M para remoção dos fitatos da amostra. Seguido à eluição, 3ml da eluição dos fitatos foram adicionados em tubos de ensaio e combinado a 1ml do reagente de Wade ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a 0,03% e ácido sulfossalicílico a 0,3% em água destilada) para a reação de cor. Posteriormente, as amostras foram deixadas em repouso por 15 minutos e então foram lidas a 500nm em espectrofotômetro Beckman, modelo DU-70. O branco da reação foi realizado utilizando-se 3ml de água destilada e 1ml do solução de Wade. A curva padrão foi elaborada a partir de concentrações crescentes da solução de fitato de sódio (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri).

4.2.1.3 Determinação de taninos

Para determinação do conteúdo de taninos, seguiu-se a metodologia proposta por Deshpande et al. (1986). A extração deu-se a partir de 0,5 gramas de farinha de feijão cru seco com granulometria de 70 mesh, com adição de 20ml de metanol, sob constante agitação por 20 minutos. Em seguida, a amostra foi filtrada em papel filtro de média porosidade e recolhidos 2ml do filtrado; a este acrescentou-se 2,5ml HCl em metanol a 8%, em triplicata; a seguir, adicionou-se 2,5ml de vanilina a 1% em metanol; ao branco adicionou-se 2,5ml de metanol e 2,5ml de vanilina a 1% em metanol. Após 20 minutos a 30°C, foi lida a absorbância a 500nm em espectrofotômetro Beckman, modelo DU-70. A curva padrão foi elaborada com catequina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri), 1mg/ml em metanol. Usou-se diluições 0; 1; 2; 5 e 10mg/ml em solução de metanol para obter-se a curva padrão. A % de taninos foi calculada como sendo aproximadamente 42% do equivalente de catequina, baseando-se na curva padrão. As análises foram feitas em triplicata, com 5 repetições de cada.

4.2.2 Biológicos

4.2.2.1 Animais e dietas experimentais

Ratos machos da linhagem Wistar, recém-desmamados (21 dias), provenientes do Centro de Bioterismo da Unicamp (CEMIB), foram mantidos em gaiolas individuais durante o período de 28 dias para o experimento preliminar e 15 dias para os experimentos com feijão-comum. Durante este período, os animais receberam dieta e água "*ad libitum*", sendo o Laboratório de Ensaio Biológicos mantido com temperatura e umidade relativa de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ e 50-60%, respectivamente, com ciclo claro/escuro de 12 horas. Observou-se o Protocolo da Comissão de Ética na Experimentação Animal do Instituto de Biologia da UNICAMP (CEEI-IB-UNICAMP) para experimentação com animais.

Na formulação das dietas utilizou-se caseína (M. CASSAB Comércio e Indústria Ltda., SP), óleo de soja (Sadia - ADM Exportadora e Importadora S/A), amido de milho (Refinações de Milho Brasil Ltda.), amido dextrinizado (Corn Products Ltda. Brasil - Ingredientes Industriais Ltda.), celulose, açúcar (Dolce - Usina Nova América S. A.), mistura vitamínica (fornecida por M. CASSAB Comércio e Indústria Ltda., SP), sais minerais (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri; Merke) e feijão-comum IAC-Carioca (Instituto Agrônomo de Campinas).

As dietas de feijão foram elaboradas de acordo com a composição da AIN-93G, à exceção do teor protéico (12%) segundo Goena et al. (1989); Santidrián et al. (1988) e Pellet & Young (1980), e da fonte protéica (feijão-comum); todas as dietas foram completadas com carboidratos, para tornarem-se isoprotéicas e isocalóricas.

4.2.2.2 Ensaio biológico preliminar

O ensaio biológico preliminar teve duração de 33 dias, sendo 5 dias de adaptação, 28 dias para cálculo do quociente de eficiência protéica (PER) e 10 dias para o cálculo do quociente de eficiência líquida da proteína (NPR) (Pellet & Young, 1980). Vinte e quatro ratos foram distribuídos em três grupos, com oito animais cada, que receberam os seguintes tratamentos:

- **CC** - (Caseína Controle): dieta elaborada de acordo com a composição da AIN-93G (Reeves et al., 1993), à exceção do teor protéico, que era de 12%, segundo Goena et al. (1989); Santidrián et al. (1988) e Pellet & Young (1980)
- **CSS** - (Caseína + Sólidos Solúveis): dieta elaborada conforme AIN-93G (Reeves et al., 1993), à exceção do teor protéico (12%), adicionada de 8,35g de sólidos solúveis contendo 1,37g de fitatos e 0,61g de taninos, provenientes da água de maceração de feijão liofilizada.
- **DA** - (Dieta Aprotéica): elaborada conforme AIN-93G (Reeves et al., 1993).

4.2.2.3 Ensaios biológicos com feijão-comum

Estes ensaios tiveram a duração de 15 dias, sendo 5 dias de adaptação e 10 dias para o cálculo do quociente de eficiência líquida da proteína (NPR), as fezes dos animais foram coletadas nos primeiros 5 dias posteriores à adaptação conforme metodologia proposta por Pellet & Young (1980), para posterior análise de nitrogênio. Todas as análises de nitrogênio foram determinadas em triplicata para cada rato; registrou-se também o ganho de peso e o consumo dietético no período. Foram realizados dois ensaios biológicos com feijão-comum, tendo cada um quarenta e oito ratos, distribuídos em seis grupos de oito animais cada, que receberam os seguintes tratamentos:

- **CC - Caseína Controle:** dieta elaborada de acordo com a composição da AIN-93G (Reeves et al., 1993), à exceção do teor protéico, que era de 12%, segundo Goena et al. (1989); Santidrián et al. (1988) e Pellet & Young (1980).
- **CSS - Caseína + Sólidos Solúveis:** dieta elaborada conforme a AIN-93G (Reeves et al., 1993), à exceção do teor protéico (12%) segundo Goena et al. (1989); Santidrián et al. (1988) e Pellet & Young (1980), adicionada de 12,85g de sólidos solúveis provenientes da água de maceração liofilizada do feijão, contendo 1,36g de fitatos e 0,32g de taninos, na repetição do ensaio biológico, utilizou-se 7,50g de sólidos solúveis, contendo 2,69g de fitatos e 0,90g de taninos.

- **DA** - Dieta Aprotéica: elaborada conforme a AIN-93G (Reeves et al., 1993).
- **FCSM** - Feijão Cozido sem Maceração: elaborada conforme AIN-93G (Reeves et al., 1993), à exceção do teor protéico que foi 12% segundo Goena et al. (1989); Santidrián et al. (1988) e Pellet & Young (1980), e da fonte protéica (feijão-comum).
- **FCSAM** - Feijão Cozido sem Água não Absorvida na Maceração: elaborada conforme a AIN-93G (Reeves et al., 1993), à exceção do teor protéico que foi 12%, segundo Goena et al. (1989); Santidrián et al. (1988) e Pellet & Young (1980), e da fonte protéica (feijão-comum).
- **FCCAM** - Feijão Cozido com Água de Maceração: elaborada conforme a AIN-93G (Reeves et al., 1993), à exceção do teor protéico que foi 12%, segundo Goena et al. (1989); Santidrián et al. (1988) e Pellet & Young (1980), e da fonte protéica (feijão-comum).

4.3 Análise Estatística

Os resultados obtidos com os ensaios biológicos e com as determinações químicas foram submetidos à análise de variância ANOVA e teste de confronto de médias - teste de Tukey, usando o programa STATISTICA, considerando $P < 0,05$ como probabilidade mínima aceitável para diferença entre médias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição Química da Matéria-prima

Nas Tabelas 1, 2 e 3 encontram-se os valores referentes à composição centesimal das matéria-primas utilizadas como fonte protéica neste trabalho. Os resultados encontrados para a composição centesimal do feijão-comum estão de acordo com aqueles citados na literatura (Tezoto & Sgarbieri, 1990; Carlderón et al., 1992; Barampama & Simard, 1993; Martín-Cabrejas et al., 1997). Observa-se que o percentual de proteínas variou de 16,97% a 18,36% para o feijão cru nos três lotes estudados, e que esta variação pode ser devido à diferenças edafoclimáticas por ocasião do cultivo. De acordo com Sgarbieri (1989), o conteúdo de proteína em feijões é influenciado por vários fatores, dentre eles o nitrogênio presente no solo.

Quanto à natureza das proteínas encontradas em feijão, Sgarbieri (1989) demonstrou que dados encontrados em vários estudos de fração protéica destes grãos indicam que do nitrogênio total, 50% são globulinas e 10-20% são albuminas. Os carboidratos encontrados são na sua maioria amido e açúcares simples (glicose, frutose e sacarose), que do ponto de vista nutricional são os mais importantes, pois são fontes disponíveis para o metabolismo energético. O componente fibra é representado por celulose, hemicelulose e lignina, todos indigeríveis pelo ser humano.

Tabela 1. Composição centesimal do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) cultivar IAC-Carioca lote 06/98, cru (FC) ou cozido e liofilizado com a água de maceração (FCCAM), utilizado no ensaio biológico preliminar - média e desvio-padrão

Componentes (%)	FC	FCCAM
Proteínas	17,53±0,20	19,33±0,15
Lipídeos	2,04±0,03	3,08±0,43
Fibra Bruta	5,33±0,25	5,89±0,37
Umidade	16,06±0,55	2,50±0,03
Cinzas	3,36±0,06	3,64±0,02
Carboidratos*	55,68	65,56
Sólidos Totais	83,94±0,55	97,50±0,04

*Determinados por diferença

Tabela 2. Composição centesimal do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivar IAC-Carioca lote 05/99, cru (FC) ou cozido sem maceração e liofilizado (FCSM), utilizado no ensaio biológico - média e desvio-padrão

Componentes (%)	FC	FCSM
Proteínas	18,36±0,11	19,81±0,09
Lipídeos	2,31±0,03	2,48±0,04
Fibra Bruta	4,64±0,14	5,69±0,15
Cinzas	2,62±0,01	3,20±0,03
Umidade	9,37±0,02	1,47±0,12
Carboidratos*	62,70	67,35
Sólidos Totais	90,63±0,15	98,53±0,12

*Cálculo de carboidratos feito por diferença

Tabela 3. Composição centesimal do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivar IAC-Carioca lote 09/99, cru (FC) ou cozido sem maceração e liofilizado (FCSM), utilizado na repetição do ensaio biológico - média e desvio-padrão

Componentes (%)	FC	FCSM
Proteínas	16,97±0,77	17,68±0,27
Lipídeos	2,00±0,06	2,53±0,09
Fibra Bruta	4,38±0,21	6,33±0,27
Cinzas	3,75±0,03	3,69±0,04
Umidade	11,00±0,06	3,06±0,07
Carboidratos*	61,90	66,71
Sólidos Totais	89,00±0,06	96,94±0,07

*Cálculo de carboidratos feito por diferença

5.2 Ensaio Biológicos

5.2.1 Ensaio biológico preliminar

Na Tabela 4 são apresentados, respectivamente, o ganho de peso dos animais durante o ensaio biológico preliminar, para estabelecer o quociente de eficiência líquida da proteína (NPR) e o quociente de eficiência protéica (PER), assim como o consumo de dieta por estes animais e os valores determinados para o NPR e o PER. Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre as médias determinadas. Os animais mostraram respostas semelhantes para os tratamentos com caseína controle e caseína acrescida dos sólidos solúveis encontrados na água de maceração liofilizada do feijão-comum. Isto demonstra que as quantidades extraídas dos fatores antinutricionais fitatos e taninos, pela água de maceração não absorvida pelos grãos, não afetou os índices de qualidade protéica da caseína.

Tabela 4. Ganho de peso (g), consumo de proteína (g) e quocientes de eficiência protéica (PER) e de eficiência protéica líquida (NPR) das dietas experimentais (média e desvio-padrão) obtidos no ensaio biológico preliminar com ratos machos Wistar recém-desmamados, oito ratos por tratamento

Dietas	Ganho Peso NPR/PER	Consumo Proteína NPR/PER	NPR	PER
Caseína	32,8±6,4 ^a /128,0±13,2 ^a	11,3±1,6 ^a /40,5±3,1 ^a	3,4±0,54 ^a	3,2±0,39 ^a
*CSS	36,2±5,1 ^a /124,0±12,0 ^a	11,3±1,5 ^a /40,5±3,4 ^a	3,7±0,35 ^a	3,1±0,13 ^a
Aprotéica	-5,4±2,2 ^b	-	-	-

^{a,b}Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (p<0,05)

*CSS - Dieta de caseína acrescida de sólidos solúveis da água de maceração liofilizada

5.2.2 Ensaio biológico com feijão-comum

Este ensaio objetivou determinar o Quociente de Eficiência Protéica Líquida (NPR) e Digestibilidades Aparente e Verdadeira nos animais submetidos a duas fontes protéicas, a caseína e o feijão-comum submetido a diferentes processamentos domésticos. Os resultados são apresentados nas Tabelas 6, 7 e 8.

As determinações de fitatos e taninos foram realizadas nos diferentes tratamentos de feijão (FCSM, FCSAM, FCCAM), estando os resultados apresentados na Tabela 5. Observando-se o teor de fitatos, verifica-se que nos tratamentos submetidos à maceração ocorreu redução desses

componentes, em concordância com estudo realizado por Barampama & Simard (1994). Pôde-se observar que no lote 05/99 obteve-se 19,0% de redução em relação ao feijão cru (FC) no tratamento FCSM; nos tratamentos FCSAM e FCCAM obteve-se respectivamente, redução de 85,2% e 83,4% quando comparados ao FC. Para o lote 09/99 obteve-se redução de 20,9% para FCSM, 60,8% para FCSAM e 53,0% para FCCAM, quando comparados ao FC, o que representa valores menores de redução quando comparados os dois lotes. Redução semelhante foi encontrada por Barampama & Simard (1994) onde compararam dados de feijão cru (15,79mg/g) e cozido macerado (8,34mg/g) com redução de 47,18% do teor de fitatos; esta redução, de acordo com o autor, pode ser explicada pelo tratamento térmico (cocção) onde ocorre intensificação de efeitos fermentativos sobre o ácido fítico diminuindo seu conteúdo total.

O ácido fítico é um abundante constituinte das plantas e compreende de 1-5% do peso das leguminosas (Cheryan, 1980). Os dados de fitatos encontrados na Tabela 5 estão em concordância com Cheryan (1980), onde observa-se que o teor de fitatos no feijão cru é de 1,38% e também com Barampama & Simard (1994) que encontraram 16,50mg/g de fitatos em feijão. Os métodos de cocção desempenham importante papel na redução de fitatos, Khokhar & Chauhan (1986) e Duhan et al. (1989) demonstraram que a maceração, a fermentação, a autoclavagem e a ebulição reduzem o conteúdo de inositol hexafosfato, por ação do tratamento térmico ou pela ativação das fitases que agem em substratos de ácido fítico, decompondo-os.

Tabela 5. Fitatos e taninos nos diferentes tratamentos de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivar IAC-Carioca, em base seca, e na água de maceração, média e desvio-padrão, com no mínimo n=3

Tratamento	mg fitatos/g feijão		Mg taninos/g feijão	
	lote 05/99	lote 09/99	lote 05/99	lote 09/99
Feijão Cru	13,82±0,57 ^a	14,67±0,12 ^a	13,78±0,57 ^a	18,75±0,33 ^a
FCSM*	11,20±0,67 ^b	11,60±0,28 ^b	2,24±0,25 ^b	2,51±0,11 ^b
FCSAM**	2,04±0,05 ^c	5,75±0,13 ^c	1,63±0,31 ^b	2,11±0,13 ^c
FCCAM***	2,29±0,64 ^c	6,89±0,11 ^d	1,73±0,29 ^b	2,07±0,10 ^c
AM****	0,51±0,01	0,84±0,01	0,12±0,01	0,28±0,00

^{a, b, c} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (p<0,05)

*Feijão cozido sem maceração

**Feijão cozido sem a água de maceração não absorvida

***Feijão cozido com a água de maceração não absorvida

****Água de Maceração: valores expressos em mg/ml

Com relação ao conteúdo de taninos, verificou-se que o processo de cozimento do feijão, promoveu acentuada redução dos mesmos. Tal fato também foi observado por Guzmán-Maldonado et al. (1996), Chitra et al. (1995), Barampama & Simard (1994) e Sharma & Sehgal (1992). Obteve-se as seguintes reduções nos lote 05/99 e 09/99, respectivamente, FCSM 83,7% e 86,6%; FCSAM 88,2% e 88,7%; FCCAM 87,4% e 89,0%; resultados de redução semelhantes foram encontrados por Barampama & Simard (1994) para feijão macerado cozido (84,6%). Esta redução é provavelmente devido à difusão deste antinutriente na água ou pela formação de complexos insolúveis

entre proteínas e taninos. Salunkhe et al. (1990) encontraram decréscimo no conteúdo de taninos em feijões macerados. Diante disso, observa-se que o procedimento de maceração prévia à cocção, com uso ou não da água de maceração não apresenta efeito significativo na redução dos teores de taninos, já que o processo térmico por si só é capaz de ocasionar elevada redução deste fator antinutricional.

Na Tabela 6, encontram-se os valores referentes ao teor protéico das dietas experimentais, onde observa-se que os valores estão de acordo com o proposto pelo trabalho (12% de proteína).

Tabela 6. Teor de proteína das diferentes dietas experimentais (n=3, média e desvio-padrão)

Tratamento	% proteína	
	Lote 05/99	Lote 09/99
Caseína Controle	11,78±0,08	12,32±0,08
Caseína + Sólidos Solúveis	11,84±0,17	12,30±0,16
FCSM*	12,47±0,06	12,10±0,09
FCSAM**	12,39±0,22	12,18±0,21
FCCAM***	11,30±0,22	12,34±0,15
Aprotéica	0,08±0,02	0,08±0,02

*Feijão cozido sem maceração

**Feijão cozido sem água de maceração

***Feijão cozido com água de maceração

Tabela 7. Ganho de peso (g), consumo de dieta (g) e NPR das dietas experimentais do ensaio biológico com ratos Wistar machos recém-desmamados, 8 ratos por tratamento, cujas fontes protéicas eram caseína ou feijão-comum lote 05/99

Tratamentos	Ganho Peso (g)	Consumo Dieta (g)	NPR
Caseína Controle	52,2±6,2 ^a	119,6±10,5 ^a	4,1±0,4 ^a
CSS*	48,5±5,6 ^a	117,0± 5,4 ^a	3,9±0,5 ^a
FCSM**	21,8±4,0 ^b	72,8±10,0 ^b	2,9±0,4 ^b
FCSAM***	18,8±3,9 ^b	60,4± 7,1 ^c	2,9±0,6 ^b
FCCAM****	18,2±4,9 ^b	68,2± 6,6 ^{b,c}	2,8±0,2 ^b

^{a,b,c} Letras diferentes na mesma coluna indica diferença significativa (p<0,05)

*Caseína + sólidos solúveis

**Feijão cozido sem maceração

***Feijão cozido sem água de maceração

****Feijão cozido com água de maceração

Na Tabela 7 são apresentados os resultados referentes ao ganho de peso, ao consumo de dieta e ao NPR do ensaio biológico com feijão-comum lote 05/99. Para o tratamento aprotéico obteve-se como perda de peso médio 4,7g±1,2g e consumo de dieta 40,0g ± 4,7g. Observou-se ainda que, nas dietas cuja fonte protéica era a caseína, nenhum dos índices apresentaram diferenças significativas (p>0,05), indicando que tanto os fitatos quanto os taninos contidos na água de maceração não absorvida pelo feijão não afetaram diretamente a utilização líquida da proteína. Com relação aos tratamentos com feijão, verificou-se que os mesmos não diferiram entre si quanto ao ganho de

peso e NPR. Desta forma, com relação à influência da maceração sobre o valor nutritivo do feijão-comum, verificou-se que no caso do quociente de eficiência protéica líquida (NPR), não houve influência.

Tabela 8. Ganho de peso (g), consumo de dieta (g) e NPR das dietas experimentais no ensaio biológico com ratos Wistar machos recém-desmamados, cujas fontes protéicas eram caseína e feijão-comum lote 09/99

Tratamentos	Ganho Peso (g)	Consumo Dieta (g)	NPR
Caseína Controle	49,7±16,1 ^a	107,7±18,5 ^a	4,4±0,4 ^a
CSS*	47,6±17,1 ^a	111,3±21,3 ^a	4,1±0,3 ^{a,b}
FCSM**	25,8± 9,3 ^b	59,2± 15,3 ^b	3,8±0,4 ^b
FCSAM***	20,9± 6,3 ^b	63,8± 10,4 ^b	3,2±0,4 ^c
FCCAM****	20,9± 3,9 ^b	59,9± 7,6 ^b	3,4±0,2 ^{b,c}

^{a,b,c} Letras diferentes na mesma coluna indica diferença significativa (p<0,05)

*Caseína + sólidos solúveis

**Feijão cozido sem maceração

***Feijão cozido sem a água de maceração não absorvida

****Feijão cozido com a água de maceração não absorvida

Na Tabela 8, são apresentados os dados encontrados na repetição do ensaio biológico com feijão-comum. Comparando-se os valores obtidos para o NPR, observa-se que os valores maiores para o lote 09/99 em relação ao lote 05/99, o que pode estar demonstrando a influência da época de cultivo. Observando-se os dados de consumo dos animais experimentais, nota-se que

os animais que receberam dieta com fonte protéica de feijão mostraram menores valores, Deshpande (1992) refere que estudos com animais indicam decréscimo na ingesta, bem como menores valores de eficiência dietética em dietas ricas em taninos. Com relação a este último aspecto, verificou-se, à semelhança do lote 05/99, valores de NPR superiores para a caseína. Os valores de NPR dos tratamentos de feijão macerado não diferiram, ocorrendo valor superior para o feijão cozido sem maceração.

Tabela 9. Determinação de nitrogênio fecal (NF), ingerido (NI) e absorvido (NA) no ensaio biológico com ratos Wistar machos recém-desmamados, 8 ratos por tratamento, submetidos a diferentes tratamentos, cujas fontes protéicas eram caseína e feijão-comum lote 05/99 durante balanço de nitrogênio de 5 dias

Tratamentos	NI (mg)	NF (mg)	NA (mg)
CC ⁺	959,8±107,9 ^a	66,6±12,5 ^a	893,2±97,0 ^a
CSS*	959,2±104,4 ^a	65,4±11,5 ^a	893,9±97,9 ^a
FCSM**	652,1± 92,0 ^b	183,6±51,6 ^b	468,5±58,1 ^b
FCSAM***	636,3± 69,2 ^b	219,9±20,1 ^b	416,4±58,3 ^b
FCCAM****	635,0±103,2 ^b	224,2±57,5 ^b	410,8±51,7 ^b

^{a,b} Letras diferentes na mesma coluna indica diferença significativa (p<0,05)

⁺Caseína controle

*Caseína + sólidos solúveis

**Feijão cozido sem maceração

***Feijão cozido sem a água de maceração não absorvida

****Feijão cozido com a água de maceração não absorvida

Na Tabela 9 encontram-se valores referentes ao nitrogênio ingerido (NI), nitrogênio fecal (NF) e nitrogênio absorvido (NA), após cinco dias de balanço precedidos por cinco dias de adaptação às dietas. Os dados obtidos para os três nitrogênios para as dietas contendo feijão-comum lote 05/99 mostraram-se inferiores ($p<0,05$) em relação às dietas cuja fonte protéica era caseína, mas não diferiram entre si.

Tabela 10. Determinação de nitrogênio fecal (NF), ingerido (NI) e absorvido (NA) no ensaio biológico com ratos Wistar machos recém-desmamados, submetidos a diferentes tratamentos, cujas fontes protéicas eram caseína e feijão-comum lote 09/99

Tratamentos	NI (mg)	NF (mg)	NA (mg)
CC ⁺	944,5±179,8 ^a	51,6±13,1 ^a	893,0±169,8 ^a
CSS*	973,1± 70,5 ^a	58,2±19,6 ^a	915,3± 58,6 ^a
FCSM**	702,8±147,9 ^b	261,6±57,4 ^b	442,0±102,5 ^b
FCSAM***	646,8±105,5 ^b	271,7±54,7 ^b	373,9± 56,0 ^b
FCCAM****	611,9± 93,6 ^b	259,5±51,2 ^b	351,0± 49,2 ^b

^{a,b} Letras diferentes na mesma coluna indica diferença significativa ($p<0,05$)

⁺Caseína controle

*Caseína + sólidos solúveis

**Feijão cozido sem maceração

***Feijão cozido sem a água de maceração não absorvida

****Feijão cozido com a água de maceração não absorvida

Na Tabela 10, encontram-se os dados de nitrogênio fecal (NF), nitrogênio ingerido (NI) e nitrogênio absorvido (NA) no ensaio biológico realizado com feijão-comum, lote 09/99, podendo ser observado os mesmos aspectos já descritos para o lote 05/99 (Tabela 9). Analisando-se os valores obtidos nas Tabelas 9 e 10, para excreção fecal de nitrogênio, observa-se diferença significativa entre as dietas de feijão e caseína, sendo que os animais em dieta cuja fonte protéica era feijão-comum excretaram maior quantidade de nitrogênio fecal, sendo que os animais submetidos ao tratamento FCSM excretaram 4 vezes mais que os do tratamento controle de caseína, enquanto que os tratamentos FCSAM e FCCAM excretaram 5 vezes mais nitrogênio fecal. No entanto, estas diferenças encontradas para os valores de nitrogênio fecal, devem-se à menor digestibilidade associada à elevada excreção fecal de nitrogênio endógeno em animais consumindo dieta com feijões, mesmo em estado cozido, como já foi observado por outros pesquisadores (Domene & Oliveira, 1993; Marquez & Lajolo, 1991), e também ao fato de que os taninos interferem na digestão de nutrientes por competição estomacal promovendo aumento da excreção de nitrogênio endógeno em animais (Longstaff & McNab, 1991). Pela formação de complexos com proteínas dietéticas, enzimas digestivas e endotélio do trato digestivo os taninos reduzem a digestibilidade e a disponibilidade de nutrientes na alimentação de animais monogástricos (Zdunczyk et al., 1996).

Segundo Marquez & Lajolo (1991), existem várias razões que ainda não foram bem esclarecidas para o aumento da excreção de nitrogênio fecal. A ocorrência de prováveis interações das proteínas do feijão ou das enzimas

digestivas com componentes não protéicos presentes no feijão, como fibras, carboidratos e taninos (Jansman et al., 1994), diminuindo a digestibilidade das proteínas de leguminosas. Entretanto, os taninos podem ser reduzidos de 37,5% a 77,0% por processamentos como a maceração e a cocção (Reddy et al., 1985).

Feijões crus da espécie *Phaseolus vulgaris*, são tóxicos pela presença de lectinas e somente podem ser consumidos quando apropriadamente cozidos e suas proteínas apresentam baixa digestibilidade se comparada à boa qualidade das proteínas de origem animal. De acordo com vários pesquisadores, a baixa digestibilidade de proteínas de feijão é uma das muitas causas de seu menor valor nutritivo. Estudos *in vitro* demonstram que a digestibilidade do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) situa-se entre 76,8% e 84,1%, apresentando-se diminuída quando a pigmentação do grão aumenta. Os pigmentos são, em geral, compostos fenólicos que podem interagir com proteínas do feijão, diminuindo sua digestibilidade e utilização.

Os dados referentes às digestibilidades aparente e verdadeira da caseína e das proteínas do feijão-comum estão apresentados na Tabela 11. Observa-se as proteínas do feijão-comum apresentam menor digestibilidade do que a caseína, como já amplamente descrito na literatura (Zdunczyk et al., 1996). No entanto, verificou-se que os processamentos domésticos diferiram entre si, conferindo valores superiores de digestibilidade ao feijão não macerado comparado às digestibilidades dos feijões macerados, especialmente àquele cujo cozimento foi feito com a água de maceração o que encontra-se em concordância com a literatura. Goycoolea et al. (1990), em estudo dos

efeitos dos tratamentos caseiros sobre o valor nutritivo de proteínas de feijão, concluíram que o efeito da maceração não foi significativo por si só, nem através de suas interações na melhora do valor nutritivo de proteínas de feijão.

Tabela 11. Digestibilidade aparente e verdadeira (%) após cinco dias de balanço de nitrogênio em ratos Wistar machos recém-desmamados alimentados com dietas contendo caseína e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivar IAC-Carioca, lotes 05/99 e 09/99, como fontes protéicas

Tratamento	Digestibilidade Aparente		Digestibilidade Verdadeira	
	Lote 05/99	Lote 09/99	Lote 05/99	Lote 09/99
CC●	93,1±0,7 ^a	93,4±0,8 ^a	94,5±0,8 ^a	94,6±0,8 ^a
CSS*	93,2±0,9 ^a	93,0±1,6 ^a	94,6±0,9 ^a	94,1±1,8 ^a
FCSM**	72,1±5,7 ^b	59,8±1,3 ^b	74,3±5,8 ^b	61,4±1,4 ^b
FCSAM***	65,3±2,8 ^{c,d}	57,0±1,7 ^{b,c}	67,4±2,6 ^{c,d}	58,7±1,8 ^{b,c}
FCCAM****	65,0±3,6 ^{c,d}	55,8±3,4 ^c	67,2±3,8 ^{c,d}	57,5±3,5 ^c

^{a,b,c,d} Letras diferentes na mesma coluna indica diferença estatística (p<0,05)

●Caseína controle

*Caseína + sólidos solúveis

**Feijão cozido sem maceração

***Feijão cozido sem a água de maceração não absorvida

****Feijão cozido com a água de maceração não absorvida

Os valores obtidos para as digestibilidades aparentes e verdadeiras, respectivamente, para a caseína foram de 93,1% - 94,6% para o lote 05/99 e de 93,0% - 94,6% para o lote 09/99; enquanto que para o feijão-comum as variações foram de 65,0% - 74,3% e 55,8% - 61,4% para os lotes 05/99 e 09/99, respectivamente, e estão de acordo com a literatura (Domene & Oliveira, 1993; Oliveira & Sgarbieri, 1986). Os menores valores encontrados para o feijão entre outros fatores, confirmam o possível papel da maior excreção de nitrogênio endógeno na qualidade da proteína de leguminosas (Huisman et al., 1992). Méndez et al. (1993) sugerem que a fibra alimentar presente nas leguminosas pode formar complexos indigeríveis com proteínas e aminoácidos, principalmente durante o tratamento térmico, reduzindo a disponibilidade do nitrogênio protéico para absorção e, diminuindo, conseqüentemente, a digestibilidade da proteína das leguminosas.

A menor digestibilidade observada em dietas contendo feijão-comum, não poderá ser somente explicada pela presença de fatores antinutricionais; os mecanismos ainda não são claros, mas interações proteína-taninos (Aw & Swanson, 1985) aparentemente afetam a digestibilidade e disponibilidade de aminoácidos. Além de outros fatores, tais como as fibras que causam aumento na excreção de N endógeno, poderão não ter sido considerados.

Considerando-se os resultados encontrados para os teores de fitatos e taninos nos diversos tratamentos de feijão-comum, apresentados na Tabela 5, não se tem uma explicação para o fato de que no tratamento feijão cozido sem maceração, a digestibilidade protéica tenha sido superior àquelas dos

feijões macerados (Tabela 11). Pode-se considerar a possibilidade de que tal explicação tenha a ver com a estrutura resultante dos grãos macerados e não com o descarte ou não da água de maceração não absorvida, visto não ter causado diferença entre as digestibilidades; tal fato foi observado por Melito & Tovar (1995) em estudo com feijões macerados, onde os autores sugerem a inacessibilidade física de enzimas digestivas pela formação de biopolímeros de amido e proteínas cercando as paredes celulares em frações protéicas.

A maior questão sobre os riscos à saúde provocados por fatores antinutricionais é o desconhecimento dos níveis de tolerância, o grau de variação do risco individual e a influência de fatores ambientais sobre a habilidade de detoxificação do organismo, uma vez que, danos crônicos leves devidos à prolongada ingestão de fatores antinutricionais são muito difíceis de serem avaliados; e os efeitos destes fatores na saúde humana ainda são questionáveis devido à limitação de estudos nesta área. Existem muitas controvérsias em estudos de biodisponibilidade "in vivo", a respeito da extrapolação de resultados de sistemas experimentais para seres humanos que se alimentam com dietas complexas.

6 CONCLUSÕES

A partir das análises dos resultados obtidos nos ensaios biológicos com caseína e feijão-comum, propostos neste estudo, pôde-se concluir que:

- 1 - A maceração reduziu o teor de fitatos, em até 85%, tanto utilizando ou não a água não absorvida na maceração; somente o tratamento térmico, sem maceração foi capaz de ocasionar uma redução de até 21% nos teores de fitatos.
- 2 - A maceração não tem influência nos teores de taninos, pois somente o tratamento térmico foi capaz de reduzir os teores dos mesmos em até 84%.
- 3 - A maceração e os fatores antinutricionais não interferiram nos índices de crescimento tanto para caseína como para o feijão-comum: ganho de peso, quociente de eficiência protéica (PER) e quociente de eficiência protéica líquida (NPR).
- 4 - A maceração interferiu de forma negativa no valor nutritivo do feijão-comum quanto à digestibilidade protéica, pois o tratamento feijão cozido sem maceração (FCSM) mostrou digestibilidades aparente e verdadeira superiores aos outros dois tratamentos (FCSAM e FCCAM), que sofreram maceração, especialmente aquele cujo cozimento foi feito com a água de maceração.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed. Washington D.C: CUNNIFF, P.A., Ed. A.O.A.C., 1995. 2v.
- 2 AW, T. L.; SWANSON, B. G. Influence of tannin on *Phaseolus vulgaris* protein digestibility and quality. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, n.1, p.67-71, 1985.
- 3 BARAMPAMA, Z.; SIMARD, R. E. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) grown in Burundi. **Food Chemistry**, Barking, v.47, n.2, p.159-167, 1993.
- 4 BARAMPAMA, Z.; SIMARD, R. Oligosaccharides, antinutritional factors, and protein digestibility of dry beans as affected by processing. **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.4, p.833-838, 1994.
- 5 BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v.37, p.911-917, 1959.
- 6 BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, Boston, v.56, n.11, p.317-333, 1998.

- 7 BRESSANI, R.; ELÍAS, L.G.; BRAHAM, J.E. Reduction of digestibility of legume proteins by tannins. **Journal of Plant Foods**, London, v.4, n.1, p.43-55, 1982.
- 8 BURBANO, C.; MUZQUIZ, M.; OSAGIE, A.; AYET, G.; CUADRADO, C. Determination of phytate and lower inositol phosphates in spanish legumes by HPLC methodology. **Food Chemistry**, Barking, v.52, n.3, p.321-325, 1995.
- 9 CARLDERÓN, E.; VELÁSQUEZ, L.; BRESSANI, R. Estudio comparativo de la composición química y valor nutritivo del piloy (*Phaseolus coccineus*) y del frijol común (*Phaseolus vulgaris*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.42, n.1, 1992.
- 10 CHANG, M.J.; COLLINS, J.L.; BAILEY, J.W.; COFFEY, D.L. Cowpeas tannins related to cultivar, maturity, dehulling and heating. **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.5, p.1034-1036, 1994.
- 11 CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.13, n.4, p.297-335, 1980.
- 12 CHITRA, U.; SINGH, U.; VENKATESWARA, R.P. Phytic acid, in vitro protein digestibility, dietary fiber, and minerals of pulses as influenced by processing methods. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.49, n.4, p.307-316, 1996.

- 13 CHITRA, U.; VIMALA, V.; SINGH, U.; GEERVANI, P. Variability in phytic acid content and protein digestibility of grain legumes. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.47, n.2, p.163-172, 1995.
- 14 COELHO, R.G.; SGARBIERI, V.C., Nutritional evaluation of bean (*Phaseolus vulgaris*) protein. In vivo versus in vitro procedure. **Journal of Food Biochemistry**, Washington DC. n.18, v.5, p.297-309, 1995.
- 15 DESHPANDE, S.S. Food legumes in human nutrition: a personal perspective. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.32, n.4, p.333-363, 1992.
- 16 DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M.; SALUNKE, D.K. Tannin analysis of food products. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.24, n.4., p.401-449, 1986.
- 17 DESHPANDE, S.S.; DAMODARAN, S. Food legumes: chemistry and technology. **Advances in Cereal Science and Technology**, Manhattan, v.10, p.147-241, 1990.
- 18 DICKISON, W. C. The evolutionary relationships of the *Leguminosae*. In: POLHILL, R. M., RAVEN, P. H. **Advances in legume systematics**. England: Royal Botany Garden, 1981. p.35-45.
- 19 DOMENE, S.M.A.; OLIVEIRA, A.C. The use of nitrogen-15 labeling for the assessment of leguminous protein digestibility. **Journal of**

- Nutritional Science and Vitaminology**, Tokyo, v.39, n.2, p.47-53, 1993.
- 20 DUHAN, A.; CHAUHAN, B.M.; PUNIA, D.; KAPOOR, A.C. Phytic acid content of chickpea (*Cicer arietinum*) and black grain (*Vigna mungo*). Varietal differences and effect of domestic processing and cooking methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v.49, n.4, p. 449-455, 1989
- 21 DURÁN, R.M.; PADILHA, B.R. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v.44, n.2, p.101-106, 1993.
- 22 EMPSON, K.L.; LABUZA, T.P.; GRAF, E. Phytic acid as a food antioxidant. **Journal of Food Science**, Chicago, v.56, n.2, p.560-563, 1991.
- 23 ERDMAN, J.W. Oilseed phytates: nutritional implications. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Champaign, v.56, n.8, p.736-741, 1979.
- 24 FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Protein quality evaluation**. Rome: FAO, 1991. 66p.
- 25 FRIEDMAN, M. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.44, n.1, p.6-29, 1996.

- 26 GOENA, M.; MARZO, F.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, L.; TOSAR, A.; FRÜHBECK, G.; SANTIDRIÁN, S. Effect of the raw legume *Vicia ervilia* on muscle and liver protein metabolism in growing rats. **Revista Española de Fisiología**, Pamplona, n.45, p.55-60, 1989. Suplemento.
- 27 GOYCOOLEA, F.; GONZALEZ-de-MEJIA, E.; BARRON, J.M.; VALENCIA, M.E. Efecto de los tratamientos caseros en la preparación de frijol pinto (*Phaseolus vulgaris*, L.) sobre el contenido de tanino y valor nutritivo de las proteínas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.40, n.2, p.263-274, 1990.
- 28 GRAF, E. Applications of phytic acid. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Champaign, v.60, n.11, p.1861-1867, 1983.
- 29 GUZMÁN-MALDONADO, H.; CASTELLANOS, J. & MEJÍA, E.G. Relationship between theoretical and experimentally detected tannin content of common beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Food Chemistry**, Barking, v.55, n.4, p.333-335, 1996.
- 30 HEANEY, R.P.; WEAVER, C.M.; FITZSIMMONS, M.L. Soybean phytate content: effect on calcium absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.53, n.3-4, p.745-747, 1991.
- 31 HIRA, C.K.; KAUR, A.P. Phytate/zinc and phytate x calcium/zinc ratios of common cereals, legumes and their combinations. **Journal of Food Science and Technology**, Chicago, v.30, n.3, p.213-215, 1993.

- 32 HUISMAN, J.; HEINZ, T.H.; VAN DER POEL, A.F.B.; VAN LEEUWEN, P. True protein digestibility and amounts of endogenous protein measured with the ^{15}N -dilution technique in piglets fed on peas (*Pisum sativum*) and common beans (*Phaseolus vulgaris*). **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.68, n.1, p.101-110, 1992.
- 33 INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Manual técnico de análises**. Campinas: ITAL, 1987.
- 34 JANSMAN, A.J.M.; ENTING, H.; VERSTEGEN, M.W.A.; HUISMAN, J. Effect of condensed tannins in hulls of faba beans (*Vicia faba*, L.) on the activities of trypsin (EC 2.4.21.4) and chymotrypsin (EC 2.4.21.1) in digesta collected from the small intestine of pigs. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.71, n.4, p.627-641, 1994.
- 35 JOOD, S.; CHAUHAN, B.M.; KAPOOR, A.C. Protein digestibility (*in vitro*) of chickpea and blackgram seed as affected by domestic processing and cooking. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.39, n.2, p.149-154, 1989.
- 36 KAPLAN, L. Archeology and domestication in American *Phaseolus* (beans). **Economic Botanic**, Pretoria, n.19, p.358-368, 1965.
- 37 KAUR, D.; KAPOOR, A. C. Nutrient composition and antinutritional factors of rice bean (*Vigna umbellata*). **Food Chemistry**, Barking, v.43, n.2, p.119-124, 1992.

- 38 KELSAY, J. L. Effects of fiber, phytic acid and oxalic acid in the diet on mineral bioavailability. **The American Journal of Gastroenterology**, v.82, n.10, p.983-986, 1987.
- 39 KHAN, N.; ZAMAN, R.; ELAHI, M. Effect of processing on the phytic acid content of wheat products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Bethesda, v.34, n.6, p.1010-1012, 1986.
- 40 KHOKHAR S.; CHAUHAN B.M. Antinutritional factors in moth bean (*Vigna aconitifolia*): Varietal differences and effects of methods of domestic processing and cooking. **Journal of Food Science**, Chicago, v.51, n.3, p.591-594, 1986.
- 41 KHOKHAR, S.; PUSHPANJALI, F.G.R. Phytate content of indian foods and intakes by vegetarian indians of Hisar region, Haryana state. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , Washington DC, v.42, n.11, p.2440-2444, 1994.
- 42 LÁSZTITY, R.; LÁSZTITY, L. Phytic acid in cereal technology. **Advances in Cereal Science and Technology**, New York, v.10, p.309-371, 1990.
- 43 LATHIA, D.; HOCH, G.; KIEVERNAGEL, Y. Influence of phytate on *in vitro* digestibility of casein under physiological conditions. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.37, n.3, p.229-235, 1987.

- 44 LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.28, n.6, p.1313-1315, 1980.
- 45 LEES, R. **Manual de analisis de alimentos** (Laboratory handbook of methods of food analysis). Zaragoza: Acribia, p.17, 124-125, 1979.
- 46 LONGSTAFF, M.; McNAB, J.M. The inhibitory effects of hull polysaccharides and tannins of field beans (*Vicia faba*, L.) on the digestion of amino acids, starch and lipid and on digestive enzyme activities in young chicks. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.65, p.199-216, 1991.
- 47 MARQUEZ, U.M.L.; LAJOLO, F.M. Nutritional value of cooked beans (*Phaseolus vulgaris*) and their isolated major protein fractions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v.53, n.2, p.235-242, 1990.
- 48 MARQUEZ, U.M.L.; LAJOLO, F.M. In vivo digestibility of bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) proteins: the role of endogenous protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.39, n.7, p.1211-1215, 1991.
- 49 MARTÍN-CABREJAS, M.A.; ESTEBAN, R. M.; PEREZ, P.; MAINA, G.; WALDRON, K. W. Changes in physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) during long-term storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.45, n., p. 3223-3227, 1997.

- 50 MELITO, C.; TOVAR, J. Cell walls limit "in vitro" protein digestibility in processed legume seeds. **Food Chemistry**, Barking, v.53, n.3, p.305-307, 1995.
- 51 MÉNDEZ, M.H.M.; DERIVI, S.C.N.; FERNANDES, M.L.; OLIVEIRA, A.M.G. Insoluble dietary fiber of grain food legumes and protein digestibility. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.43, n.1, p.66-72, 1993.
- 52 MESSINA, M. Phytate's potencial role in reducing colon-cancer risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.54, n.3/4, p.762, 1991.
- 53 MESSINA, M.; BARNES, S. The role of soy products in reducing risk of cancer. **Journal of National Cancer Institute**, Bethesda, v.83, n.8, p.541-546, 1991.
- 54 MODGIL, R.; MEHTA, U. Effect of *Callosobruchus chinensis* (Bruchid) infestation on antinutritional factors in stored legumes. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.50, n.4, p.317-323, 1997.
- 55 MOSHA, T.C.; GAGA, H.E.; PACE, R.D.; LASWAI, H.S.; MTEBE, K. Effect of blanching on the content of antinutritional factors in selected vegetables. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.47, n.4, p.361-367, 1995.
- 56 MOSSÉ, J. Nitrogen to protein conversion factor for tem cereals and six legumes or oilseeds; a reappraisal of its definition and determination;

- 69 SANTIDRIÁN, S.; GOENA, M.; CUEVILLAS, F.; LARRALDE, J.
Muscle protein synthesis of rats fed a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) diet. **Revista Española de Fisiología**, Pamplona, n.44, v.1, p. 109-110, 1988.
- 70 SGARBIERI, V.C. Composition and nutritive value of beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). **World Reviews of Nutrition and Dietetic**, Basel, v.60, p.132-198, 1989.
- 71 SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades-degradações-modificações**. São Paulo: Varela, 1996, 517p.
- 72 SHAMSUDDIN, A.M. Phytate and colon-cancer risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.55, n.2, p.478, 1992.
- 73 SHARMA A.; SEHGAL S. Effect of domestic processing, cooking and germination on the trypsin inhibitor activity and tannin content of faba bean (*Vicia faba*). **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v.42, n.2, p.127-133, 1992.
- 74 SIEGENBERG, D.; BAYNES, R.D.; BOTHWELL, T.H.;
MACFARLANE, B.J.; LAMPARELLI, R.D.; CAR, N.G.;
MACPHAIL, P.; SCHMIDT, U.; TAL, A.; MAYET, F. Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.53, n.1-2, p.537-541, 1991.

- 75 SINGLETON, V.L.; KRATZER, F.H. Plant phenolics. In: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Toxicants occurring naturally in foods**, Washington DC, 1973. p.309-345.
- 76 TANGENDJAJA, B.; BUCKLE, K.; WOOTTON, M. Dephosphorilation of phytic acid in rice bran. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n.4, p.1021-1024, 1981.
- 77 TEZOTO, S.; SGARBIERI, V.C. Protein nutritive value of a new cultivar of bean (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington DC, v.38, n.4, p.1152-1156, 1990.
- 78 TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.1, n.1, p.1-22, 1991.
- 79 VAINTRAUB, I.A.; BULMAGA, V.P. Effect of phytate on the in vitro activity of digestive proteinases. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.39, n.5, p.859-861, 1991.
- 80 VIJAYAKUMARI, K.; SIDDHURAJU, P.; PUGALENTHI, M.; JANARDHANAN, K. Effect of soaking and heat processing on the levels of antinutrients and digestible proteins in seeds of *Vigna aconitifolia* and *Vigna sinensis*. **Food Chemistry**, Barking, v. 63, n. 2, p.259-264, 1998.

- 81 WILLIAMS, P.C. The use of titanium dioxide as a catalyst for large-scale kjeldahl determination of the total nitrogen content of cereal grains. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.24, n.4, p.343-348, 1973.
- 82 WYATT, C.J.; TRIANA-TEJAS, A. Soluble and insoluble Fe, Zn, Ca, and phytates in foods commonly consumed in northern Mexico. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, v.42, n.10, p.2204-2209, 1994.
- 83 YADAV, S.; KHETARPAUL, N. Effect of fermentation period and temperature on antinutrients and *in vitro* digestibility of starch and protein of wadi an indigenous fermented legume product. **Journal of Food Science and Technology**, Karnataka, v.32, n.2, p.132-134, 1995.
- 84 YOSHIDA, T.; OHKUBO, M. Role of gastrointestinal microflora on digestibility in young rats fed diets containing sodium phytate. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v.48, n.10, p.2571-2574, 1984.
- 85 ZDUNCZYK, Z.; FREJNAGEL, S.; AMAROWICZ, R.; JUSKIEWICZ, J. Effect of faba bean tannins on nutrient absorption in the small intestine of rat. **Acta Alimentaria**, Budapest, v.25, n.1, p.37-46, 1996.
- 86 ZHOU, J. R.; ERDMAN, J. W. Phytic acid in health and disease. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.35, n.6, p.495-508, 1995.