

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO**

**BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO, MAGNÉSIO, COBRE E
ZINCO NA SOJA (*Glycine max*) E EM NOVAS VARIEDADES DE
FEIJÃO-COMUM (*Phaseolus vulgaris*), OBTIDAS POR
MELHORAMENTO GENÉTICO CLÁSSICO E SUA RELAÇÃO
COM FATORES ANTINUTRICIONAIS NÃO PROTÉICOS**

Norka Beatriz Barrueto-González
Nutricionista
Mestre em Ciências da Nutrição

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán
Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos para
obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição – Área de
Nutrição Básica Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos

Campinas, 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

B279b Barrueto-González, Norka Beatriz
Biodisponibilidade de cálcio, magnésio, cobre e zinco na soja (*Glycine max*) e em novas variedades de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*), obtidas por melhoramento genético clássico e sua relação com fatores antinutricionais não protéicos / Norka Beatriz Barrueto-González. -- Campinas, SP: [s.n.], 2007

Orientador: Jaime Amaya-Farfán
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Composição nutricional. 2. Biodisponibilidade de minerais.
3. Fatores antinutricionais. 4. Feijão comum. 5. Soja. I .Amaya-Farfán, Jaime. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Título em inglês: Calcium, magnesium, copper and zinc bioavailability in soy bean (*Glycine max*) and common-bean (*Phaseolus vulgaris*) new varieties, obtained by classic genetic improvement and your relationship with non-protein antinutritional factors

Palavras-chave em inglês (Keywords): Nutritional composition, Mineral bioavailability, Antinutritional factors, Common-bean, Soy bean

Área de concentração: Nutrição Básica Experimental Aplicada à Tecnologia de Alimentos

Titulação: Doutor em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora: Jaime Amaya-Farfán
Admar Costa de Oliveira
Célio Kenji Miyasaka
Miguel Arcanjo Áreas
Renata Maria Galvão Cintra
Semirâmis Martins Álvares Domene

Programa de Pós Graduação: Programa em Alimentos e Nutrição

TERMO DE AUTORIZAÇÃO – TESE/DISSERTAÇÃO

Eu, Norka Beatriz Barrueto González, nacionalidade: Chilena, estado civil: Solteira, profissão: Nutricionista, residente e domiciliado na (endereço): Rua Francisco Humberto Zuppi, 55 Bairro Cidade Universitária I, cidade: Campinas, estado: SP, portador do documento de identidade: W158528W (Visto Permanente), na qualidade de titular dos direitos morais e patrimoniais de autor da OBRA (título): BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO, MAGNÉSIO, COBRE E ZINCO NA SOJA (Glycine max) E EM NOVAS VARIEDADES DE FEIJÃO-COMUM (Phaseolus vulgaris) OBTIDAS POR MELHORAMENTO GENÉTICO CLÁSSICO E SUA RELAÇÃO COM FATORES ANTINUTRICIONAIS NÃO PROTÉICOS, tese de (nível) Doutorado apresentada na Universidade Estadual de Campinas em (data) _____

1 – **AUTORIZO** a Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, a reproduzir, disponibilizar na rede mundial de computadores – Internet – e permitir a reprodução por meio eletrônico, da OBRA, a partir da data da homologação.

2 – **AUTORIZO, a partir de um ano após a data de homologação**, a Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, a reproduzir, disponibilizar na rede mundial de computadores – Internet – e permitir a reprodução por meio eletrônico, da OBRA.

Casos excepcionais serão tratados pela CCPG.

Campinas, ____ de _____ de _____

Assinatura do Aluno: _____

Ciente do Orientador: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr Jaime Amaya-Farfán
FEA-UNICAMP
Presidente

Prof. Dr. Admar Costa de Oliveira
FEA-UNICAMP
Membro

Prof. Dr Célio Kenji Miyasaka
FEA-UNICAMP
Membro

Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas
Instituto de Biologia-UNICAMP
Membro

Prof. Dra. Renata Maria Galvão Cintra
Instituto de Biociências – UNESP/ Botucatu
Membro

Prof. Dra. Semíramis Martins Álvares Domene
Faculdade de Nutrição - PUCCAMP
Membro

Dedico

*À Deus e aos meus amados pais Pedro e Norça
que sempre me apóiam e me inspiram
na conquista de meus sonhos*

AGRADECIMENTOS

A Deus, Pai Todo Poderoso pela vida e por todas as já graças concedidas.

Ao Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán, pela amizade, confiança e orientação dedicada e eficiente para a realização deste trabalho;

À Banca Examinadora, por terem doado seu tempo e conhecimento para a correção deste trabalho.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), especialmente ao Departamento de Alimentos e Nutrição (DEPAN), da Faculdade de Engenharia de Alimentos, pela oportunidade concedida para a realização do curso;

À Universidade Estadual Paulista (UNESP), especialmente ao Instituto de Biociências Campus Botucatu, pela concessão de afastamento parcial e bolsa do Programa de Capacitação de Docente, para realização das atividades de pesquisa no período de 2003 a 2004;

Ao Centro Nacional de Pesquisa Arroz-Feijão da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CNPAP/EMBRAPA), Goiânia-GO, na pessoa da Dra. Pricila Zaczuk Bassinello pelo fornecimento de amostras de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*): cv. Ouro Branco, cv. Jalo Precoce, cv. Radiante, cv. Vereda, cv. Timbó, cv. Pérola e cv. Valente;

Ao Centro Nacional de Pesquisa Soja da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CNPSo/EMBRAPA), Londrina-PR, na pessoa do Dr. José Marcos Gontijo Mandarino pelo fornecimento de amostras de soja (*Glycine max*) cv. Conquista MG/BR-46;

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos (CENARGEN) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Brasília-DF, na pessoa do Dr. Luis Pedro Barrueto Cid e Dr. Francisco Aragão por terem orientado na escolha das amostras de leguminosas;

Ao Prof. Dr. Alaor Aparecido de Almeida do Centro de Assistência Toxicológica (CEATOX) do Instituto de Biociências da UNESP Campus Botucatu, pela amizade, dedicação na orientação e realização das análises de quantificação mineral;

Ao Prof. Dr. Sérgio Luis Felisbino, pela amizade, dedicação na orientação da histomorfometria, auxílio e condições oferecidas pelo Laboratório do Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências da UNESP, Campus Botucatu;

Às Profas. Dra. Helena Maria A. Bolini e Dra. Maria Aparecida Azevedo P. da Silva pela colaboração na concessão do Laboratório de Análise Sensorial para preparação das dietas experimentais;

Ao Laboratório de Micronutrientes da Faculdade de Nutrição da PUCCAMP na pessoa da Sra. Marlene Braz da Silva pelo apoio na execução dos tratamentos de liofilização nas amostras de feijão-comum;

A empresa Terroni Equipamentos Científicos, São Carlos-SP, pelos tratamentos de liofilização das dietas experimentais à base de feijão;

Aos funcionários e amigos do Departamento de Alimentos e Nutrição, especialmente para Carla de Marco Gregghi pelo apoio nas atividades no Laboratório de Fontes Protéicas; Eliete de Carvalho Leite, pela colaboração no trabalho realizado no Laboratório de Análise Sensorial; Francisco Carraro, pelo auxílio nas atividades realizadas no Laboratório Central; Maria Suzana Cunha pelo apoio nas atividades realizadas no Laboratório de Ensaio Biológicos. A todos pela amizade e atenção dedicadas;

Aos funcionários da biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP pelo atendimento rápido e atencioso;

À todos os amigos e companheiros de curso do DEPAN e da FEA cuja amizade e cumplicidade foram fundamentais para a motivação do meu trabalho, em especial à Soninha, Vera Sônia, Florência, Edinho e Maria Inés;

Ao meu amigo Dr. Wim van Dokkum pela generosidade em compartilhar seus conhecimentos nesta área de estudo;

À minha amiga Dra. Elisabeth Gonsales pelo apoio constante e incentivo na conclusão deste trabalho;

Aos meus amigos Sueli e Éder Polizel, Fernando e Milly, Suzana Lima de Oliveira, Peter Sussner e Cristian Luna pela amizade, alegria, compreensão e apoio constante que tornaram cada momento deste trabalho um verdadeiro prazer;

Aos meus amados pais pela compreensão e apoio incondicional que tornaram possível realização deste trabalho.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste sonho que se concretizou.

Muito Obrigada!

“O êxito não se consegue só com qualidades especiais. É sobretudo um trabalho de constância, de método e de organização.”

J. P. Sergent

RESUMO

Dada a importância que os feijões secos têm na dieta tradicional brasileira, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) tem desenvolvido novos cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*), por meio de melhoramento genético, para atender os altos padrões agrônômicos e culinários do mercado interno. Entretanto, as características nutricionais destas novas cultivares estão documentadas de maneira incompleta, tanto em termos de conteúdo de macro/micro nutrientes, como também de seus valores biológicos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o valor nutritivo de sete novas cultivares de feijão: Jalo Precoce, Radiante, Vereda, Pérola, Timbó, Valente e Ouro Branco, da EMBRAPA do Centro de Pesquisa Arroz-Feijão, Goiás. Após análise centesimal de rotina, foram determinados o perfil aminoacídico e alguns importantes componentes minerais (cálcio, ferro, magnésio, cobre e zinco). Os resultados mostram que variações significativas ($P < 0,05$) ocorreram no conteúdo protéico e de carboidratos totais entre todas as cultivares. O teor de proteína variou entre 21 e 28%, com destaque para Radiante, Jalo Precoce e Ouro Branco que tiveram as maiores concentrações. O teor de carboidratos foi de 55,4 (Radiante) a 62,1% (Valente), entretanto, os lipídios permaneceram constantes, variando de 2,4 a 2,8%. As proteínas de todas as novas cultivares alcançaram os padrões internacionais para os requerimentos de histidina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina e tirosina. Com destaque para as cultivares Vereda e Ouro Branco, que alcançaram os requerimentos de lisina e treonina. Por outro lado, todas as cultivares apresentaram baixo conteúdo de aminoácidos sulfurados, metionina e cistina. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre as cultivares em termos de Mg, Fe e Zn, mas as concentrações de Ca e Cu variaram significativamente ($P < 0,0001$). O conteúdo de ferro foi de 4,7 (Ouro Branco) a 5,5mg/100g (Vereda e Valente), enquanto que o cobre foi de 0,5 (Ouro Branco) a 0,9mg/100g (Radiante), e o conteúdo de zinco foi de 2,4 (Ouro Branco e Pérola) a 3,1mg/100g (Jalo Precoce). Pelos altos teores de Ca se destacaram as variedades Pérola (486), Vereda (428) e Valente (387mg/100g), enquanto que Jalo Precoce, Pérola e Valente apresentaram os maiores teores de Mg (129-117mg/100g). Considerando o fato de que todas as variedades foram cultivadas sob condições estritamente controladas de solo, água e práticas agrícolas, estes resultados podem ser altamente representativos com relação às características individuais de composição, onde as variedades Jalo Precoce, Ouro Branco e Valente apresentaram-se mais vantajosas em termos de composição de nutrientes. A partir destes resultados, três novas cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*) foram selecionadas, por causa do seu

conteúdo de nutrientes, para avaliação da biodisponibilidade mineral e comparar com um cultivar clássico de soja (*Glycine Max*), var. Conquista. As três cultivares foram: feijão branco "Ouro Branco", feijão preto "Valente" e Carioca "Pérola" e os minerais testados foram os previamente estudados: cálcio, magnésio, cobre e zinco. O balanço metabólico, coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e a taxa de retenção e absorção (R/A) para estes minerais foram os parâmetros determinados, usando ratos Wistars recém-desmamados. Os animais receberam por doze dias dietas contendo exclusivamente os feijões cozidos ou farinha integral de soja tostada. Os níveis de fitatos foram determinados pelo método colorimétrico de Latta & Eskin e os minerais por absorção atômica nas dietas, fezes, urina e fêmur. Além disso e com o objetivo de avaliar o impacto das dietas no crescimento do osso cortical das tíbias, foram feitas medidas histomorfométricas da altura e espessura da cartilagem. Os resultados mostraram que as dietas à base de leguminosas diferiram estatisticamente uma das outras em termos de cálcio (275-480mg/100g), magnésio (108-262mg/100g), cobre (0,5-1,06mg/100g) e zinco (2,4-5,0mg/100g), e que as dietas à base de feijão Carioca "Pérola" e feijão preto "Valente", bem como a soja foram as que maior conteúdo mineral apresentaram. As dietas à base de feijão mostraram baixos teores de fitatos (3,1-3,9mg/g), especialmente com relação à soja (6,5mg/g). A análise estatística do balanço mineral detectou diferenças significativas entre os índices biológicos obtidos para os tratamentos de feijão e soja. As dietas "Valente" e "Pérola" mostraram alto balanço de cálcio (22-25mg/d), em comparação com as dietas "Ouro Branco" (12,8mg/d) e soja (14,4mg/d). A taxa de retenção e absorção (R/A), entretanto, foi maior para a dieta soja (99,0%), seguida pela dieta "Valente" (96,7%). Com relação ao CDA para cálcio, a dieta "Pérola" se destacou (92,5%) entre todos os tratamentos à base de leguminosas e Controle (AIN-93G). Os índices de avaliação revelaram que a soja teve maior balanço de magnésio (4,7mg/d) entre todas as dietas à base de feijão, entretanto o CDA foi melhor para a dieta "Pérola" (82%), apesar da taxa R/A ter sido melhor para "Valente" (7,1%) e soja (6,8%), enquanto que "Ouro Branco" e Controle (AIN-93G) tiveram índices negativos (valores de balanço e R/A). Com relação ao cobre, todas as dietas à base de leguminosas tiveram resultados negativos de balanço e CDA, de maneira similar ao que foi observado para o zinco. A dieta à base de soja, entretanto, mostrou balanço e CDA positivos para cobre e zinco. Por outro lado, somente a dieta Controle teve resposta positiva no teste de balanço de zinco, apesar da taxa de R/A para as dietas "Ouro Branco" e "Pérola" ter sido alta. Juntando estes dados, os índices sugerem que a biodisponibilidade de cálcio e magnésio não foi afetada pelos fitatos presentes nestas fontes alimentares, porém, para o zinco e o cobre

este efeito foi evidente. As medidas histomorfométricas, entretanto, não detectaram nenhuma diferença entre os diversos tratamentos à base de feijão e soja. Além disso, pode ser concluído que a baixa ingestão de cálcio dos grupos alimentados com leguminosas, acarretou alterações no sistema esquelético, tais como alta redução do platô da cartilagem de crescimento e na espessura do osso em si, mesmo que a retenção de cálcio no fêmur dos animais tratados com as dietas "Pérola" e soja tenham sido significativa.

Palavras-chave: composição de nutrientes, biodisponibilidade de minerais, fatores antinutricionais, feijão-comum, soja.

ABSTRACT

Given the importance that dry beans have in the traditional Brazilian diet, the Brazilian Agency for Agricultural Research (EMBRAPA) has developed new cultivars of common beans (*P. vulgaris*) by means of classical breeding expecting to meet higher agronomic and culinary standards for the domestic market. Nevertheless, the nutritional characteristics of these new cultivars are incompletely documented, both in terms of macro/micro nutrient contents and biological value. The objective of the present work was to evaluate the nutritive value of seven new dry bean cultivars: Jalo Precoce, Radiante, Vereda, Pérola, Timbó, Valente e Ouro, from the Embrapa Rice and Bean Research Center in Goiás. After routine proximal composition, their amino acid profiles and key mineral components (calcium, iron, magnesium, zinc and copper) were determined. The results show that substantial and significant ($P < 0,05$) variations occur in protein and carbohydrates among all the cultivars. Protein contents varied between 21 and 28%; Radiante, Jalo Precoce and Ouro Branco having the highest contents. In turn, the total carbohydrate contents ranged between 55,4 for Radiante, to 62.1%, for Valente, whereas the lipids remained rather constant, varying from 2.4 to 2.8%. The proteins of all these new cultivars met the international standard requirements for histidine, valine, isoleucine, leucine and phenylalanine plus tyrosine. Additionally, the cultivars Valente and Ouro Branco stood out because of their contents for lysine and threonine that also met the requirements. As in the case of all leguminous seeds, all the cultivars were low in the sulfur-containing amino acids, methionine and cysteine. No statistical differences were noticed among the cultivars in terms of Mg, Fe and Zn, but the concentrations of Ca and Cu did vary significantly ($P < 0.0001$). Iron contents varied from 4.7 in Ouro Branco, to 5.5mg/100g in Vereda and Valente, while copper ranged from 0.5 in Ouro Branco, to 0.9mg/100g, in Radiante, and the zinc contents went from 2.4 (Ouro Branco and Pérola) to 3.1mg/100g (Jalo Precoce). Insofar as calcium is concerned, Pérola (486), Vereda (428) and Valente (387mg/100g) were the richest, whereas Jalo Precoce, Pérola and Valente stood out because of their high contents of magnesium (129 – 117mg/100g). Considering the fact that all the cultivars were grown under strictly controlled conditions of soil, weather and agricultural practices, these results can be taken as highly representative of the individual compositional characteristics and could be concluded that among the new cultivars, the Jalo Precoce, Ouro Branco and Valente are the most advantageous in terms of nutrient composition. Then, three of those new Brazilian dry bean (*P. vulgaris*) cultivars were selected because of their nutrient content for mineral bioavailability evaluation, and

compared with the classical soybean (*Glycine max*) cultivar Conquista. The three cultivars were the white bean "Ouro Branco", a black bean "Valente" and the Carioca type "Pérola" and the minerals tested were the least commonly studied: calcium, magnesium, copper and zinc. The metabolic balance, apparent digestibility coefficient (ADC) and the ratio of retention to absorption (R/A) for these minerals were the parameters determined using young Wistar rats (21d). The animals received for twelve days diets consisting exclusively of the cooked beans or the roasted soybean flour. The phytate levels of the diets were determined by the colorimetric method of Latta & Eskin and the minerals by atomic absorption in the diets, feces, urine and femur. Additionally and in order to evaluate the impact of the diets on the cortical bone growth of the tibias, histomorphometric measurements of the height and thickness of the cartilage were made. The results showed that the legume-based diets statistically differed from each other in terms of calcium (275 – 480 mg/100g), magnesium (108 – 262 mg/100g), copper (0.50 – 1.06 mg/100g) and zinc (2.4 – 5.0mg/100g), and that the diets made up of the Carioca "Pérola" and the Black "Valente", as well as soy bean were those with the highest mineral contents. The dry bean diets exhibited low concentrations of phytates (3.1 – 3.9mg/g), especially with respect to the soybean (6.5mg/g). Statistical analysis of the mineral balance detected significant differences between the biological indices obtained by the dry-bean and the soybean treatments. The dry bean diets "Valente" and "Pérola" exhibited higher balance for calcium (22 – 25mg/d), in comparison to "Ouro Branco" (12.8mg/d) and the soybean (14.4mg/d) diets. The ratio of retention to absorption (R/A), however, was greatest for the soybean (99.0%), followed by the "Valente" (96.7%) diet. With regard to the ADC for calcium, in turn, the "Pérola" ranked first (92.5%) among all treatments and the Control. The evaluation indices revealed that the soybean had the highest magnesium balance (4.7mg/d) among all the dry bean diets, whereas the ADC was best for the "Pérola" (82%) diet, although the R/A ratios were better for the "Valente" (7.1%) and soybean (6.8%), while the "Ouro Branco" and Control gave negative indices (balance and R/A values). With regard to copper, all the dry bean diets gave negative balance and ADC indices, something similar to what was observed for zinc. The soy bean diet, however, showed positive balance and ADCs for both copper and zinc. On the other hand, only the Control diet gave a positive response in the balance test for zinc, although the R/A ratios of the "Ouro Branco" and "Pérola" diets were the highest. Taken together, these indices suggest that the little studied calcium and magnesium bioavailability from dry beans is not affected by the phytates present in this staple food, but a suppressive effect on zinc and copper was clear. Histomorphometric measurements, however, did not detect any differences

between the various dry bean treatments or the soybean. In addition, it could be concluded that the low calcium intake by dry bean-fed groups had profound consequences to the skeleton system of the animals, such as the height reduction of the cartilaginous grow plates and the thickness of the bone itself, in spite of the femur calcium retention having been significant in the "Pérola" and soybean diets.

Keywords: nutritional composition, mineral bioavailability, antinutritional factors, Common-bean, Soy bean.

SUMÁRIO

	Pg.
INTRODUÇÃO GERAL	1
Referências bibliográficas	2
Revisão Literatura	4
BIODISPONIBILIDADE DE MINERAIS EM LEGUMINOSAS	
Introdução	4
Fibra alimentar	8
Fitatos	9
Oligossacarídeos não digeríveis	11
Polifenóis	12
Biodisponibilidade de minerais em leguminosas	13
<i>Phaseolus vulgaris</i>	14
<i>Cicer arietinum</i>	14
<i>Lens culinaris</i>	15
<i>Vicia faba</i>	17
<i>Cajanus cajan</i>	17
Referências bibliográficas	18
OBJETIVOS: Geral e Específicos	23
Capítulo I	24
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE SETE NOVAS CULTIVARES BRASILEIRAS DE FEIJÃO-COMUM (<i>Phaseolus vulgaris</i>), OBTIDAS POR MELHORAMENTO GENÉTICO CONVENCIONAL	
Introdução	25
Material	30
Amostragem	30
Informações gerais sobre os locais de plantio	30
Características agronômicas	30
Preparo das amostras	31
Métodos	31
Teor de umidade	31
Teor de nitrogênio e proteína	32
Perfil de aminoácidos	32
Teor de lipídios totais	33
Carboidratos totais	33
Determinação de cinzas totais	34
Quantificação de minerais por absorção atômica	34
Análise estatística	36
Resultados e Discussão	36
Teor de umidade	37
Teor de proteína	39
Teor de aminoácidos	42
Teor de lipídios	46
Teor de carboidratos totais	47
Teor de cinzas e minerais	48
Conclusão	52
Referências bibliográficas	54

Capítulo II	58
BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO, MAGNÉSIO, COBRE E ZINCO EM NOVAS VARIEDADES DE FEIJÃO-COMUM (<i>Phaseolus vulgaris</i>), OBTIDAS POR MELHORAMENTO GENÉTICO CONVENCIONAL, COMPARADAS COM A SOJA (<i>Glycine max</i>)	
Introdução	60
Material	64
Amostras	64
Preparo das dietas experimentais	64
Métodos	66
Teor de nitrogênio e proteína	66
Perfil de aminoácidos	66
Teor de lipídios totais	69
Teor de carboidratos totais	69
Teor de fitatos das dietas	69
Quantificação de cálcio, magnésio, cobre e zinco por absorção atômica nas dietas e no material biológico	69
Protocolo experimental para o ensaio biológico	71
Animais	71
Ensaio biológico	72
Índices de balanço biológico	72
Estudo histomorfométrico	73
Análise estatística	74
Resultados e Discussão	74
Composição centesimal das dietas experimentais	74
Teor de energia	74
Lipídios e carboidratos totais	75
Teor de proteínas e perfil aminoacídico	75
Minerais	77
Fitatos	79
Ensaio biológico	80
Crescimento	80
Quociente de eficiência alimentar (QEA)	81
Consumo alimentar	82
Utilização metabólica de minerais	83
Cálcio	84
Magnésio	87
Cobre	89
Zinco	90
Retenção mineral óssea e estudo histomorfométrico	93
Conclusão	97
Referências bibliográficas	98
CONSIDERAÇÕES FINAIS	104
Anexos	105

INTRODUÇÃO GERAL

As leguminosas são importantes fontes alimentares, desde os primórdios da história da humanidade e por meio de seleção genética natural ou controlada, hoje existem inúmeras variedades consumidas nas mais diversas regiões do mundo. Além disso, de acordo com as condições climáticas de cada área, certos tipos tornam-se predominantes em relação a outros, como a ervilha (*Pisum sativum*, L) e a soja (*Glycine max*) que são muito consumidas nos países asiáticos, o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L) na América Latina e África, o grão-de-bico (*Cicer arietinum*, L.) e a lentilha (*Lens culinaris*, Med.) nos países do Oriente Médio (EMBRAPA, 2003).

Diversos estudos caracterizaram as leguminosas como sendo excelentes fontes de energia, carboidratos complexos, proteína, fibra alimentar, vitaminas e minerais (BEEBE e cols. 2000; KOEHLER e cols. 1987; SATHE e cols. 1984; MEINERS e cols. 1976a; MEINERS e cols. 1976b) que são essenciais à nutrição humana e embora pertençam à mesma família botânica *Leguminosae*, a concentração desses nutrientes está sujeita a variações de acordo com a espécie (GRUSAK, 2002).

Devido a essa grande importância, e para atender ao crescente mercado interno, anualmente a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), desenvolve novas cultivares com alta produtividade, resistência a doenças e valores nutricionais diferenciados, obtidas por melhoramento genético, sem negligenciar os fatores de interferência ambiental. Estas pesquisas visam identificar linhagens que possam ser indicadas para plantio por possuírem vantagens comparativas em relação às atualmente em uso, proporcionando assim alternativas para o plantio nos diferentes ecossistemas das diversas regiões produtoras brasileiras (PELOSO, 2003; CARNEIRO, 2003). Contudo, a composição química e nutricional dos diversos tipos novos de feijões é pouco conhecida e as tabelas nacionais de composição centesimal dos alimentos são incompletas e não incluem todos os tipos de feijões mais consumidos no país, já que são em sua maioria compilações de dados internacionais.

Embora o principal enfoque de pesquisa nesta área tenha sido voltado principalmente para o aprimoramento das características tecnológicas dos grãos, existe

atualmente uma preocupação com relação à qualidade nutricional, sensorial e redução de compostos antinutricionais destas sementes.

É sabido que o valor nutritivo do alimento é determinado também pela presença ou ausência de fatores promotores ou inibidores de absorção. Com relação aos minerais, Sandberg (2002) afirma que a presença de ácido fítico, polifenóis e fibra alimentar nestas fontes alimentares exercem efeitos antagonistas na absorção de cálcio, ferro e zinco. Já Nestares e cols. (2003) sugerem que os procedimentos de preparo doméstico podem influenciar, tanto de maneira positiva como negativa, a taxa de absorção de cálcio, fósforo e magnésio de feijões e também em grão-de-bico, previamente macerados e cozidos. Por outro lado, são escassas as investigações que relacionam a composição mineral das novas variedades de feijões brasileiros e sua influência no metabolismo mineral em ratos. Considerando-se a importância na produção e consumo, além do valor nutritivo e cultural dos feijões, convém elucidar a biodisponibilidade de cálcio, magnésio, cobre e zinco, importantes minerais para o metabolismo ósseo, e sua relação com a presença do ácido fítico, reconhecido quelante de minerais, nestas novas fontes alimentares.

Referências Bibliográficas

BEEBE, S.; GONZALEZ, A. V.; RENGIFO, J. Research on trace element minerals in the common bean. **Food Nutr. Bull.** v. 21, p. 387-391, 2000.

CARNEIRO, G. E. S. **Avaliação de linhagens de feijoeiro comum visando indicação de cultivares para as regiões produtoras brasileiras.** Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/programa/400067htm>> Acesso em 11 de setembro de 2003.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. 25p.

GRUSAK M. A. Enhancing mineral content in plant food products. **J. Am. Coll. Nutr.** v. 21, p. 178S-183S, 2002.

KOEHLER, H. H. et al. Nutrient composition, protein quality, and sensory properties of thirty-six cultivars of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.** v. 52, n. 5, p. 1335-1340, 1987.

MEINERS, C. R., et al. Proximate composition and yield of raw and cooked mature dry legumes. **J. Agric. Food Chem.** v. 24, n. 6, p. 1122-1125, 1976a.

MEINERS, C. R., et al. The content of nine minerals elements in raw and cooked mature dry legumes. **J. Agric. Food Chem.** v. 24, n. 6, p. 1126-1130, 1976b.

NESTARES, T. et al. Effect of different soaking solution on nutritive utilization of minerals (calcium, phosphorus, and magnesium) from cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in growing rats. **J. Agric. Food Chem.** v. 51, p. 515-520, 2003.

PELOSO, M. J. **Genética e melhoramento do feijoeiro comum.** Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/htm>> Acesso em 11 de setembro de 2003.

SANDBERG, A. S. Bioavailability of mineral in legumes. **British J. Nutr.** v. 88 (Suppl 3), p. S281-285, 2002.

SANDBERG, A. S. Bioavailability of mineral in legumes. **British J. Nutr.** v. 88 (Suppl 3), p. S281-285, 2002.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*. A review. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **CRC Critical Rev. Food Sci. Nutr.** v. 21, n. 1, p. 41-93, 1984.

REVISÃO DE LITERATURA

BIODISPONIBILIDADE DE MINERAIS EM LEGUMINOSAS

MINERAL BIOAVAILABILITY IN LEGUMES

RESUMO

As leguminosas são relevantes para a dieta brasileira, porque além de contribuírem com o aporte de energia e proteína, também são ricas em minerais como cálcio, magnésio, fósforo, ferro e zinco. Entretanto, a biodisponibilidade destes elementos pode ser afetada pela presença de certas substâncias como a fibra alimentar, fitatos, oligossacarídeos não-digeríveis, polifenóis e também pelo tipo de processamento tecnológico ao qual são submetidas, como será discutido na presente revisão.

Palavras-chave: leguminosas, biodisponibilidade de minerais, fibra alimentar, fitatos, oligossacarídeos não-digeríveis, polifenóis, processamento tecnológico.

ABSTRACT

Legumes are the core of the Brazilian diet, because they provide energy and protein. Also they are rich in minerals like calcium, magnesium, phosphorus, iron and zinc. However, the bioavailability of these elements could be affected by some components like dietary fiber, phytate, oligosaccharide, polyphenols and also by some technological processing on these seeds, as would be discussed in this review.

Key words: legumes, mineral bioavailability, dietary fiber, phytate, oligosaccharide, polyphenols, technological processing.

INTRODUÇÃO

As leguminosas são fontes alimentares de grande apreço para diversas culturas ao redor do mundo e o alimento básico principal dos estratos sociais economicamente menos favorecidos, porque representam uma das principais fontes de energia e proteína na dieta (MESSINA, 1999). Em diferentes regiões do mundo, o consumo de determinadas leguminosas está incorporado aos hábitos alimentares locais. Como exemplo podemos citar a ervilha (*Pisum sativum*, L) que é bastante consumida em países asiáticos, o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L) em países da América Latina e da África, o grão-de-bico (*Cicer arietinum*, L) e a lentilha (*Lens culinaris*, Med) nos países do Oriente Médio. No Brasil, o cultivo dessas leguminosas tem crescido em importância nas últimas décadas,

decorrente de estratégias político-econômicas governamentais, como incentivo para o aumento da produção agrícola nacional e opções de cultivo aos produtores e de consumo para a população (EMBRAPA, 2003).

Diversos estudos caracterizaram as leguminosas como sendo excelentes fontes de energia, carboidratos complexos, proteína, fibra alimentar, vitaminas e minerais (BEEBE e cols. 2000; KOEHLER e cols. 1987; SATHE e cols. 1984; MEINERS e cols. 1976a; MEINERS e cols. 1976b). Devido a estas qualidades nutricionais, as leguminosas estão em um grupo à parte dos alimentos de origem animal na Pirâmide Alimentar Adaptada, por serem comuns na alimentação básica brasileira e são os produtos isolados que mais contribuem para o consumo de proteínas, principalmente o feijão que junto com o arroz fornecem um adequado balanço de aminoácidos (PHILIPPI e cols. 1999). Além disso, apresentam diversos minerais essenciais à nutrição humana e embora pertençam à mesma família botânica *Leguminosae*, a concentração desses elementos está sujeita a variações de acordo com a espécie (GRUSAK, 2002), como indicam os resultados publicados pelo Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação (NEPA), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006) sobre o perfil mineral de leguminosas (Tabela 1).

TABELA 1. Composição mineral em leguminosas cruas.

Minerais mg/100g	Feijão <i>P. vulgaris</i>	Soja <i>Glycine max</i>	Lentilha <i>Lens culinaris</i>	Grão-de-bico <i>Cicer arietinum</i>	Ervilha <i>Pisum sativum</i>
Cálcio	123	206	54	114	24
Magnésio	210	242	94	146	42
Manganês		2,87		3,16	0,4
Fósforo	385	539	368	342	152
Ferro	8	13,1	7	5,4	1,4
Potássio	1352	1922	887	1116	311
Cobre	0,79	1,29	0,83	0,67	0,2
Zinco	2,9	4,5	3,5	3,2	1,2

Fonte: Tabela brasileira de composição dos alimentos/ NEPA-UNICAMP. Versão II. 2006.

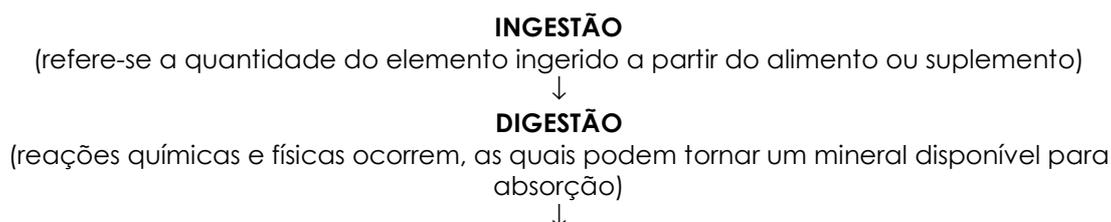
De acordo com a tabela 1, as concentrações de cálcio e magnésio foram maiores na soja, no feijão e no grão-de-bico do que na lentilha e na ervilha. O teor de ferro, potássio, cobre e zinco também são altos na soja, médios no feijão, na lentilha e no grão-de-bico e baixos na ervilha. Contudo, Miller (1996) afirma que o perfil mineral bem

como a concentração de cada elemento presente no alimento não são necessariamente indicadores seguros do valor nutritivo deste, como fonte do nutriente em questão.

Para van Dokkum (1992), diversos fatores podem favorecer ou não a utilização destes nutrientes pelo organismo, como: a forma química do mineral e como este é submetido aos processos digestivos e metabólicos no organismo; as interações com outros componentes da dieta no trato digestório; o *status* individual de minerais; a demanda metabólica e a presença de substâncias promotoras de absorção. Além disso, Sandberg (2002) afirma que a presença de ácido fítico, polifenóis e fibra alimentar nas leguminosas exercem efeitos antagonistas na absorção de alguns minerais como cálcio, ferro e zinco. Já Nestares e cols. (2003) sugerem que os procedimentos de preparo doméstico podem influenciar, tanto de maneira positiva como negativa, a taxa de absorção de cálcio, fósforo e magnésio de feijões e também em grão-de-bico, previamente macerados e cozidos.

Sob este prisma, o termo biodisponibilidade ou disponibilidade biológica tem sido extensamente usado na área de alimentos e nutrição. Sua origem conceitual, entretanto, provém da farmacologia experimental, visando estabelecer a proporção em que determinada droga intacta alcança a circulação e a razão na qual isso ocorre (COZZOLINO, 1997). Defini-se, assim biodisponibilidade como a proporção do nutriente nos alimentos que é efetivamente absorvida e utilizada. Tal conceito engloba o processo de assimilação, transporte e conversão de um nutriente para suas formas biologicamente ativas (GERMANO & CANNIATTI-BRAZACA, 2002).

Porém, para van Dokkum (2003) a terminologia "biodisponibilidade de minerais" não é sempre usada de maneira uniforme, quando se trata de descrever cada um dos estágios nos quais os minerais e elementos-traço são submetidos em nosso organismo, como apresenta a seguir:



PROCESSO DE ABSORÇÃO

(combinação de ações que ocorrem na mucosa, desde o contato do mineral com a superfície da mucosa, o transporte deste através das células da mucosa e sua transferência para dentro da corrente sanguínea)



TRANSPORTE



SÍTIO DE AÇÃO

(no sítio de ação o mineral pode ser convertido em uma espécie fisiológica ativa e tornar-se ativo biologicamente – neste estágio o termo “biodisponibilidade” pode ser usado)



METABOLISMO

(utilização do mineral para ações metabólicas imediatas ou armazenamento nos tecidos importantes a partir dos quais pode tornar-se disponível para ações metabólicas posteriores – neste estágio o termo “utilização” é apropriado, uma vez que o mineral torna-se disponível para ação metabólica e o metabolismo ocorre, o mineral está sendo utilizado)



SECREÇÃO CELULAR OU EXCREÇÃO

Segundo Van Dokkum (2003), todas essas interações influenciam de maneira positiva ou negativa a absorção, a biodisponibilidade e a utilização do mineral devido às diversas reações químicas e físicas que ocorrem durante a digestão, como: mudanças no pH do conteúdo gastrointestinal, variações da valência do mineral (óxido/redução), formação de complexos e ligação do mineral com outro componente do alimento ou com um componente intermediário formado durante a digestão, resultando na caracterização do mineral ora como disponível ora como não-disponível para absorção, já que se trata de um processo dinâmico e não estático, pois estas reações ocorrem a cada segundo no organismo.

Além disso, van Dokkum (2003) cita alguns fatores dietéticos que interferem com a biodisponibilidade mineral, os quais são denominados facilitadores ou inibidores de absorção, como: vitamina C (facilitador); ácido fítico (inibidor); fibra alimentar (inibidor); polifenóis (inibidor); oxalato (inibidor); proteína (facilitador ou inibidor); frutose, ácido cítrico e lactose (facilitadores). Também menciona as interações minerais e a influência do processamento de alimentos (tratamento térmico, moagem, fermentação e ação enzimática) que podem atuar tanto como facilitadores como redutores da disponibilidade mineral. Dentro deste contexto, serão apresentadas, a seguir, algumas das principais substâncias contidas nas leguminosas que interferem com a biodisponibilidade de Fe não-heme, Ca, Zn e Mg.

Fibra alimentar

Para Guillon & Champ (2002) a composição da fração de fibra alimentar depende muito da localização nas sementes de leguminosas, se no tegumento (fibra externa) ou nos cotilédones (fibra interna). Os teores de polissacarídeos celulósicos e não-celulósicos são os principais diferenciais entre fibra interna e externa. A parede celular dos cotilédones, que não é lignificada, contém diversos teores de polissacarídeos como: substâncias pécnicas (~55%), celulose (~9%) e glucanas não-amídicas (6-12%). Já o tegumento contém maior quantidade de celulose (35 a 57%) e baixa quantidade de hemicelulose e pectina. Estudos em feijão comum (*P. vulgaris*) mostraram 22,6% de fibras detergente-neutras, 6,2% de celulose, 10,6% de hemicelulose e 5,7% de lignina (NESTARES e cols. 2003). A fibra alimentar também pode ser classificada, de acordo com o método de extração, nas frações fibra alimentar solúvel e fibra alimentar insolúvel, ambas com propriedades químicas e fisiológicas diferentes (COUDRAY e cols. 2003). As lentilhas são ricas em fibras alimentar total (35%) e insolúvel (31,3%), seguidas pelo feijão tipo kidney (32 e 27,1%) e pelo grão-de-bico (27,8 e 23,5%). Diferenças menores são encontradas nos teores de fibra alimentar solúvel, com variações entre 3,7 e 4,9% (CANDELA e cols. 1997).

As fibras possuem afinidade de ligação com íons polivalentes, reduzindo a solubilidade destes e conseqüentemente a sua biodisponibilidade (INK, 1988; TORRE e cols. 1991). A intensidade com que estas interações ocorrem depende de vários fatores, como: tipo de fibra presente no alimento ou na dieta; presença de outros compostos quelantes nas fibras (ascorbato, citrato, oxalatos, fitatos ou aminoácidos); pH gástrico; efeito do tratamento térmico; concentrações de outros minerais que podem competir pelo sítio de ligação e da capacidade de fermentação da fonte de fibra no cólon (INK, 1988).

Em sua revisão, Torre e cols. (1991) apresentam vários estudos que utilizaram fontes e tipos de fibras diferentes para comparar a capacidade de ligação com minerais. Os estudos *in vitro* mostram que as fibras detergente-neutras e detergente-ácidas possuem alta afinidade de ligação com minerais bivalentes, conseqüentemente diminuem a biodisponibilidade destes na seguinte ordem: Cu > Zn >> Fe. Já a celulose e a hemicelulose têm maior afinidade de ligação com o Fe não-heme, principalmente em pH ácido, e baixa afinidade com Ca, Mg, Cu e Zn, independente do pH, como indicam os estudos de balanço em humanos. A fração lignina possui alta afinidade de ligação com íons de Ca em solução, ao contrário das frações celulose e pectina que apresentam

interações muito fracas, de acordo com estudos *in vitro* (TORRE e cols. 1992). Estudos de balanço de minerais em ratos mostram que as pectinas e as gomas melhoram a absorção de K, Mg e Ca no intestino grosso (ceco) em relação aos animais submetidos a dietas isentas de fibras, bem como as frações amido resistente e amido resistente retrogradado que exercem também efeito positivo na absorção intestinal de minerais, principalmente Ca e Mg (GREGER, 1999).

Para Germano & Canniatti-Brazaca (2002), a questão da fibra como fator interferente na biodisponibilidade do ferro não-heme, das fontes cereais ou mistura de alimentos, ainda é discutível, devido às divergências encontradas nos estudos realizados *in vitro* e *in vivo*. Já para van Dokkum (2003), alimentos ricos em fibras também contêm outros componentes em sua matriz, incluindo fitatos, oxalatos e compostos fenólicos como os taninos, os quais exercem forte influência na disponibilidade de um determinado mineral para absorção, do que a própria fibra alimentar *per se*. Este autor também afirma que existe pouca evidência que o conteúdo de fibra alimentar de dietas ricas em fibras cause, a longo prazo, deficiências minerais quando uma dieta balanceada é consumida.

Fitatos

Os fitatos (ácido fítico ou hexafosfato de mio-inositol) desempenham um importante papel fisiológico nas plantas, como: estoque de fósforo, reserva de grupos fosfatos reativos, estoque energético, fonte de cátions e iniciação da dormência (CHERYAN, 1980). Em leguminosas desempenham funções como: mobilização das reservas de fósforo inorgânico na forma de fosfato e m-inositol e determinados cátions (Mg^{2+}) que participam na síntese de ácidos nucleicos durante a germinação. É também um importante precursor dos polissacarídeos da parede celular e de fosfolípidios que participam no sinal de tradução. Por outro lado, a capacidade antioxidante do ácido fítico faz com que este contribua também com o aumento do tempo de dormência da semente, já que previne a peroxidação de lipídios (MARTINEZ-DOMÍNGUEZ e cols. 2002). Os fitatos se encontram como uma mistura de sais (fitina) com vários cátions como K, Mg, Ca, Mn, Zn e Fe, no entanto, em vagens mais de 70% do ácido fítico se encontra nas formas solúveis em água, possivelmente combinadas com proteínas solúveis mais do que na forma de fitina insolúvel (MARTINEZ-DOMÍNGUEZ e cols. 2002).

No feijão fava (*Vicia faba*) os níveis de fitatos oscilam de 0,71 a 1,15% e estão localizados principalmente no cotilédone enquanto que a casca apenas contém 0,06 a 0,2% do ácido fítico total (MARTINEZ-DOMINGUEZ e cols. 2002). Para Reddy e cols. (1984) a soja apresenta os maiores teores de fitatos (0,28-0,63%), seguidas pelo feijão vermelho tipo kidney (0,34-0,58%), ervilhas (0,06-0,33%) e lentilhas (0,08-0,30%). Welch e cols. (2000) encontraram variações de 19,57 a 29,16mmol g⁻¹ nos teores das frações inositol penta e hexafosfato (IP5 + IP6) em várias cultivares de feijões (*P. vulgaris*). Contudo, quando as leguminosas são maceradas e cozidas ocorre redução significativa no teor inicial de fitatos totais, como foi demonstrado por Helbig e cols. (2003) em feijão comum, (*P. vulgaris* L. cv. IAC-Carioca) de acordo com o tratamento aplicado. Para Martinez-Domínguez e cols. (2002), essa diminuição na concentração de fitatos, após tratamento de maceração e cocção, se deve à hidrólise enzimática ou química que transforma o ácido fítico em inositol fosfato com menor grau de fosforilação.

Outros fatores que também reduzem o teor destas substâncias nas leguminosas, na ordem de 40 a 50%, são as condições de estocagem (tempo e temperatura) e tratamento de irradiação como foi demonstrado por Cunha & Sgarbieri (1992). Segundo estes autores, esta redução está associada com o aumento da ação hidrolítica da fitase, pela ruptura da ligação entre o grupo ortofosfato e a molécula de inositol, liberando também íons Ca ou Mg, que se associam com grupos carboxilas livres da molécula de pectina, desmetilados pela ação da pectinesterase, para formar um complexo insolúvel (pectato de Ca ou Mg), que por outro lado, promove o enrijecimento da lamela média do cotilédone dificultando o cozimento destes grãos, como foi observado em feijões irradiados (radiações gama e microondas) e não-irradiados, que foram estocados por seis meses a 30°C (75%UR).

Os fitatos reduzem a biodisponibilidade de minerais, principalmente com Fe não-heme, Zn, Mg e Ca, formando complexos insolúveis no pH fisiológico intestinal reduzindo assim a absorção destes nutrientes como foi demonstrado em humanos (HALLBERG e cols. 1989; HURRELL e cols. 1992; HURRELL e cols. 2004), e também com animais em condições experimentais em estudos com Ca, Fe não-heme, Zn, Cu, Mg (MESSINA, 1999; URBANO e cols. 1999; CARBONAR, 2001; DOMENE e cols. 2001). De acordo com Sandberg (2002), o inositol pentafosfato exerce ação inibitória na absorção de Fe não-heme e Zn, além dos grupos de inositol tri e tetrafosfato, que também interferem de modo negativo na absorção do Fe não-heme.

Oligossacarídeos não digeríveis

As leguminosas são ricas também em α -galactosídeos, que são oligossacarídeos constituídos por rafinose, estaquiase e verbascose, cujas concentrações podem variar conforme o grau de maturação da planta, condições de cultivo, composição do solo, clima e variedade genética das sementes. A rafinose, ou α -galactosil-sacarose ($C_{18}H_{32}O_{16}$), é um trissacarídeo formado por resíduos de galactose, glicose e frutose. A estaquiase, ou galactosil-rafinose ($C_{24}H_{42}O_{21}$), é um tetrassacarídeo formado por dois resíduos de galactose, um de glicose e um de frutose. A verbascose, ou galactosil-estaquiase ou trigalactosil-sacarose ($C_{30}H_{52}O_{26}$), é um pentassacarídeo constituído de três resíduos de galactose, um de glicose e um de frutose (SILVA e cols. 1992). Estas substâncias estão localizadas preferencialmente no tegumento das sementes, em concentrações que variam de 2 a 10% (matéria seca). A estaquiase é a fração prevalente nas diversas leguminosas, cujos teores oscilam de 0,5 a 4,1% nos feijões (*P. vulgaris*); de 1,3 a 5,5% nas ervilhas (*Pisum sativum*); de 1,7 a 3,1% nas lentilhas (*Lens esculenta*); e de 2,2 a 4,3% na soja (*Glycine max*) (GUILLON & CHAMP, 2002). Porém, as frações verbascose e rafinose encontram-se em menores proporções, ou seja, 0,3 e 1,3%, respectivamente (REDDY e cols. 1984).

Os α -galactosídeos são parcialmente eliminados por dissolução em meio aquoso, com grau de extração variável, de acordo com o peso molecular do açúcar, localização e a forma natural de ligação dentro das células no tegumento (KU e cols. 1976). Também são reduzidos pelo tratamento de cocção e maceração, associados ou não, como foi demonstrado por Queiroz e cols. (2002) em feijão comum (*P. vulgaris*, cv. IAC-Carioca), cuja taxa de redução foi de 20 a 25% para rafinose, 8,7 a 24,5% para estaquiase e de 33,3 a 41,7% para verbascose. Resultados similares foram encontrados também por Oboh e cols. (2000) em cultivares nigerianas de leguminosas. Para Costa de Oliveira e cols. (2001) as mudanças nos teores destes açúcares podem ser atribuídas ao metabolismo nos grãos, à difusão de componentes para a água de maceração e à influência do crescimento de microrganismos na água de maceração.

Estudos de balanço de cálcio em ratos demonstram que a presença destas substâncias no lúmen intestinal favorece a acidificação do meio, pela ação da microflora bacteriana que produzem de ácidos orgânicos a partir destes açúcares, contribuindo com solubilidade e conseqüentemente o transporte trans-epitelial de cálcio (DUFLOS e

cols. 1995; YOUNES e cols. 1996; SUZUKI e cols. 1998; SAITO e cols. 1999; HARA e cols. 2000; MITAMURA e cols. 2004; SUZUKI & HARA, 2004). Estudos de longa duração mostraram efeitos benéficos também na prevenção da perda de massa óssea em ratos. Tal observação foi baseada no aumento do transporte mineral passivo e ativo, através do epitélio intestinal, mediado pelo aumento de certos metabólitos (ácidos graxos de cadeia curta, lactato e butirato) e os derivados da inulina e sacarose (xilo-oligossacarídeo e oligofrutose), da flora intestinal e pela redução do pH (SCHOLZ-AHRENS & SCHREZENMEIER, 2002).

Polifenóis

Estes compostos constituem mais de 8.000 substâncias químicas heterogênicas, consideradas metabólitos secundários das plantas, com diferentes atividades e estruturas químicas (COELHO & LAJOLO, 1993). Suas principais funções nas células vegetais estão relacionadas com o crescimento, reprodução e proteção frente à ação patogênica (MARTINEZ-VALVERDE e cols. 2000).

Nas leguminosas estão localizados no tegumento e podem influenciar de maneira adversa na cor, no aroma e na qualidade nutricional destas sementes (SALUNKE e cols. 1982). Contudo, estes teores podem variar de uma espécie para outra (SANDBERG, 2002), como também dentro de uma mesma espécie como no caso dos feijões (*P. vulgaris*) que possuem as maiores diversidades de cores, do preto, roxo, vermelho, marrom, creme ao branco. Tal diversidade se deve à presença de antocianinas, pertencentes à família dos flavonóides (von ELBE & SCHWARTZ, 1996), dos quais se destacam: cianidina-3,5-diglucosídeo, delphinidina-3-glucosídeo, petunidina-3-glucosídeo e pelargonidina-3-glucosídeo, cujas concentrações variam de acordo com a cor do tegumento como foi mostrado por Choung e cols. (2003) em feijões coreanos tipo Kidney e por Macz-Pop e cols. (2006) em feijões guatemaltecos. Já em cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) foram identificados apenas três tipos de antocianinas: a cianidina-3-glucosídeo, a delphinidina-3-glucosídeo e a petunidina-3-glucosídeo (CHOUNG e cols. 2001).

Outro grupo de polifenóis de interesse nutricional são os taninos. Quimicamente os taninos são classificados em dois grupos principais, cujas estruturas são muito diferentes entre si, embora todos tenham moléculas de poli-hidroxifenóis ou seus derivados. O primeiro grupo é composto pelos chamados taninos hidrolisáveis (como o ácido tânico).

Já o segundo grupo contém outros tipos de taninos, encontrados em maior quantidade e de maior importância em alimentos, sendo denominados taninos condensados. A estrutura básica dos taninos condensados é relacionada à estrutura da catequina e dos 3', 4', 5,7-hidroxi-flavonóides (BOBBIO & BOBBIO, 1995).

Os taninos possuem alto peso molecular (>500) e estão amplamente distribuídos no reino vegetal (COELHO & LAJOLO, 1993). Nos feijões (*P. vulgaris*), estão localizados preferencialmente no tegumento e a concentração destas substâncias está sujeita a variações dependentes da cor das sementes, como foi demonstrado por Fukuda e cols. (1982) em estudos com feijão branco (0,36%), preto (0,74%) e roxo (0,99%). Já, Welch e cols. (2000) observaram que diversos tipos de feijões, submetidos às mesmas condições de cultivo, apresentaram variações nas concentrações de taninos de 0,89 a 2,65mg g⁻¹ de acordo com o tipo de cultivar e Helbig e cols. (2003) encontraram teores de 18,8mg g⁻¹ para o feijão Carioca, cv. IAC-Carioca.

As proantocianidinas possuem tendência para formar complexos com proteínas ao invés de carboidratos e outros polímeros, o que pode explicar a baixa digestibilidade das proteínas de leguminosas, inibindo o crescimento e aumentando a excreção de nitrogênio fecal em animais. Também possuem capacidade de se complexarem com cátions divalentes, principalmente ferro não-heme e zinco, pela união com os grupos hidróxilos e carbóxicos durante a digestão, reduzindo a absorção destes minerais no lúmen intestinal (SILVA & SILVA, 1999).

A capacidade de quelar cátions está relacionada com a estrutura química do composto fenólico (MARTINEZ-VALVERDE e cols. 2000). Por outro lado, devido à sua natureza hidrofílica e termolábil, é possível reduzir os teores de taninos totais presentes nas leguminosas na razão de 50% (FUKUDA e cols. 1982) até 80% (HELBIG e cols. 2003), por meio de processo doméstico que envolve hidratação prévia (maceração) e cocção. Entretanto, Amaya e cols. (1991) constataram que o conteúdo de taninos não tem correlação com a disponibilidade do ferro em feijões.

BIODISPONIBILIDADE DE MINERAIS EM LEGUMINOSAS

Os estudos sobre a biodisponibilidade de minerais em leguminosas foram conduzidos para entender a utilização digestiva e metabólica dos principais elementos

de importância nutricional presentes nestas fontes alimentares, como: ferro (LYNCH e cols. 1984; WELCH e cols. 2000; SAUQUILLO e cols. 2003), cálcio (WEAVER e cols. 1993; URBANO e cols. 1999; NESTARES e cols. 2003; PORRES e cols. 2003), zinco (SAUQUILLO e cols. 2003), fósforo (FERNANDEZ e cols. 1997; NESTARES e cols. 1999; DUHAN e cols. 2002; PORRES e cols. 2004) e magnésio (NESTARES e cols. 1997; NESTARES e cols. 1999; NESTARES e cols. 2003). Além disso, alguns estudos estimam o grau de interações com as substâncias inibidoras de absorção durante a digestão e o efeito do processamento (maceração e cocção) na qualidade nutritiva mineral dos grãos, baseados nos índices biológicos de balanço mineral (B), coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e taxa de retenção e absorção (R/A) (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1995).

· ***Phaseolus vulgaris* L.**

Dentre as leguminosas, os feijões possuem diversas variedades de genótipos que influenciam as características sensoriais e nutricionais dos grãos, de acordo com a espécie a qual pertencem. Por isso, a concentração de determinados minerais e a presença de componentes antinutricionais podem interferir diretamente sobre a biodisponibilidade nutricional destes grãos, promovendo resultados diferentes em cada tipo de cultivar sob as mesmas condições experimentais, como foi demonstrado por Welch e cols. (2000) no estudo da biodisponibilidade de ferro e zinco com 24 genótipos de feijão. Porém, sabe-se que a presença de facilitadores de absorção, como a vitamina C, auxilia na melhora da biodisponibilidade do ferro não-heme nestes grãos como foi demonstrado por Lynch e cols. (1984) em estudos in vivo (humanos).

Por outro lado, Nestares e cols. (2003) demonstram que no feijão comum, a maceração em pH básico exerce um efeito protetor contra as perdas de cálcio, magnésio e fósforo por solubilização, mesmo após cocção, promovendo melhor retenção destes nutrientes nos grãos e conseqüentemente melhorando a absorção principalmente de cálcio e fósforo, como demonstram os índices biológicos com ratos Wistar, independente dos teores de celulose presente nas sementes.

· ***Cicer arietinum* L.**

Em grão-de-bico, estudos sobre a biodisponibilidade de minerais visam avaliar o efeito do processamento (maceração seguida ou não de cocção) na utilização digestiva

e metabólica de magnésio (NESTARES e cols. 1997), cálcio e fósforo (NESTARES e cols. 1999), por meio de índices biológicos de balanço, coeficiente de absorção aparente e taxa de retenção e absorção (R/A), em ratos Wistar, recém desmamados, submetidos à alimentação exclusiva à base de grão-de-bico, in natura e processado, por um período de dez dias.

Embora estas sementes contenham teores apreciáveis de magnésio, superando em aproximadamente 200% o requerimento nutricional diário do rato, a utilização digestiva e metabólica deste elemento é baixa como mostram os índices biológicos, tanto nos grãos in natura como nos que sofreram tratamento de maceração, seguido ou não de cocção. De acordo Nestares e cols. (1997), o baixo coeficiente de absorção aparente é devido principalmente ao alto teor de celulose nas sementes, o que contribui com o aumento da excreção fecal e, conseqüente, redução da absorção deste nutriente promovendo resultados de balanço e taxa de retenção próximos de zero ou negativos.

Com relação ao cálcio, Nestares e cols. (1999) observaram que a baixa concentração deste mineral nos grãos in natura (1,37mg/100g), associada ainda com perdas de 10 a 20% após reidratação e cocção, promoveu melhores índices de digestibilidade, balanço e taxa de retenção/absorção. Já com relação ao fósforo, estes autores demonstraram que tanto os grãos in natura como após tratamento térmico, apresentam coeficiente de digestibilidade alto, de 79% aproximadamente. Porém, dentre os tratamentos de maceração seguidos ou não de cocção, apenas as sementes submetidas à maceração em pH ácido tiveram coeficiente de digestibilidade aparente, taxa de retenção/absorção e balanço de fósforo menor em relação aos demais tratamentos.

Lens culinaris

Em lentilhas, os estudos sobre a biodisponibilidade de minerais tiveram como enfoque a utilização digestiva e metabólica de cálcio, fósforo e magnésio (URBANO e cols. 1999; PORRES e cols. 2003; PORRES e cols. 2004) em sementes in natura, autoclavadas, suplementadas ou não com premix vitamínico-mineral e lentilhas germinadas, as quais foram oferecidas como única fonte alimentar para ratos Wistar recém-desmamados, durante dez dias.

Os baixos teores de cálcio das sementes in natura ou autoclavadas influenciaram os índices biológicos obtidos por Urbano e cols. (1999), os quais foram inferiores em relação aos resultados observados em outras variedades de leguminosas. Contudo, o processo de germinação contribuiu com a redução significativa dos teores iniciais de ácido fítico, proporcionando índices de coeficiente de digestibilidade e taxa de retenção/absorção maiores que o grupo Controle. Por outro lado, com relação ao fósforo, o coeficiente de digestibilidade foi maior no tratamento de autoclave (74,4%), nos grãos in natura (69,0%) e nas lentilhas germinadas (67,9%). Porém, todos foram inferiores ao grupo Controle (94,5%). Já os índices de balanço e taxa de retenção/absorção foram nulos nas lentilhas germinadas e, significativamente baixos nas lentilhas in natura e nas autoclavadas (URBANO e cols. 1999).

Porres e cols. (2003) observaram que a suplementação com cálcio, azeite e vitaminas A e D nas lentilhas autoclavadas, proporcionou efeitos discretos na melhora da digestibilidade do cálcio em comparação com as sementes que foram apenas suplementadas com este mineral, porém, sem a adição de azeite e vitaminas lipossolúveis. A explicação para este resultado, segundo os autores, pode estar relacionada com reservas endógenas de vitamina D e o curto período experimental que os animais foram tratados.

Outro estudo realizado por Porres e cols. (2004), avaliou a biodisponibilidade do fósforo, proveniente da hidrólise do ácido fítico, e também do magnésio em lentilhas que foram tratadas termicamente e suplementadas com vitaminas e minerais. Segundo estes autores, quando as lentilhas in natura foram suplementadas nos níveis do requerimento nutricional de cálcio, fósforo, magnésio e outros minerais como também de vitaminas, havia um aumento na excreção de fitatos pelas fezes dos animais, como resultado da formação de complexos que não foram hidrolisados durante a digestão, embora uma considerável proporção de fitatos ingeridos tenham sido degradada após sua passagem pelo trato digestório e assim, proporcionando quantidades de fósforo livre que junto com o fósforo inorgânico fornecido na suplementação, resultou em aumento significativo na absorção líquida para este nutriente. Porém, com relação ao coeficiente de digestibilidade do fósforo, os resultados foram menores nos grupos suplementados (~64%) em relação ao grupo Controle (~83,6%). Por outro lado, os índices biológicos de magnésio mostraram-se favoráveis nos tratamentos suplementados (in natura e autoclavados), pelo aumento significativo da taxa de absorção líquida e balanço.

Vicia faba

Fernandez e cols. (1997) estudaram o efeito da maceração e da cocção nos níveis de fósforo e ácido fítico do feijão fava e sua relação com a biodisponibilidade de fósforo destas sementes, utilizando os índices biológicos de balanço, coeficiente de absorção aparente e taxa de retenção e absorção (%R/A) e taxa de inositol-hexa-fosfato transformado (%IHP transformado), em ratos Wistar recém desmamados, submetidos à alimentação exclusiva à base de feijão fava, in natura e processado, por um período de dez dias. De acordo com os autores, a ingestão de fósforo foi proporcional a sua concentração nas sementes, porém, menor que o grupo Controle. Por outro lado, a excreção do fósforo foi aproximadamente 200% maior nos grupos experimentais em relação ao Controle. A porcentagem de transformação do ácido fítico, que se reflete na taxa de hidrólise durante a digestão, foi maior no feijão macerado e cozido (99,4%), seguido pelo tratamento de maceração em pH ácido e cozido (94,8%). Com relação à biodisponibilidade do fósforo os índices biológicos foram altos para os tratamentos de maceração em pH ácido, neutro e básico, seguidos de cocção, como também nos grãos germinados submetidos aos mesmos processos de maceração e cocção.

Cajanus cajan

DUHAN e cols. (2002) avaliaram por meio de estudos in vitro a disponibilidade de cálcio, fósforo e ferro do feijão guandu submetido a tratamentos de germinação, maceração, descascamento e cozimento, bem como o efeito destes tratamentos nos níveis de ácido fítico. Segundo os autores, as sementes possuem altos teores de ácido fítico (886mg/100g), porém, estes teores são nitidamente reduzidos de acordo com o tipo de tratamento que os grãos foram submetidos. Nos grãos germinados, a redução da concentração de ácido fítico variou de 35 a 39%. Perdas maiores ocorreram nos grãos que foram macerados por 18h (71%) e macerados com remoção do tegumento (85%). O processo térmico promoveu perdas de 8,5 a 38%, com ou sem prévia maceração seguida ou não de descascamento. Contudo, estes tratamentos também reduziram os teores iniciais de cálcio, fósforo e ferro das sementes processadas. Assim, foram observadas perdas gradativas, após 18h maceração, de 9% de cálcio, 7% de fósforo e de 3% de ferro. Quando os grãos foram macerados com remoção do tegumento e cozidos, as perdas de cálcio se mostraram mais significativas, em torno de 23%, em relação ao fósforo (5%) e ao ferro (3%). Embora estas perdas sejam inevitáveis, os resultados da disponibilidade destes

minerais foram significativamente melhorados com a redução dos níveis de ácido fítico. Estes resultados vão ao encontro de outro estudo com feijão guandu cultivar Manak (DUHAN e cols. 1999).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAYA, H.; ACEVEDO, E; BRESSANI, R. Efecto del recalentamiento sobre la disponibilidad de hierro y el valor nutritivo de la proteína del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) cocido. **Arch. Latinoam. Nutr.** v. 41, n. 2, p. 222-237, jun. 1991.

BEEBE, S.; GONZALEZ, A. V.; RENGIFO, J. Research on trace element minerals in the common bean. **Food Nutr. Bull.** v. 21, p. 387-391, 2000

BOBBIO, F. O. & BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1995. 223p.

CANDELA, M.; ASTIASARAN, I; BELLO, J. Cooking and warm-holding: effect on general composition and amino acids of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.), chickpeas (*Cicer arietinum*), and lentils (*Lens culinaris*). **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p. 4763-4767, 1997.

CARBONAR, M. et al. Investigation of the mechanisms affecting Cu and Fe bioavailability from legumes: role of seed protein and antinutritional (nonprotein) factors. **Biol. Trace Elem. Res.** v. 84 (1-3), p. 181-196, 2001.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** v.13, n. 4, p. 297-335, 1980.

CHOUNG, MG. et al. Isolation and determination of anthocyanin in seed coats of black soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). **J. Agric. Food Chem.** v. 49, p. 5848-5851, 2001.

CHOUNG, MG. et al. Anthocyanin profile of Korean cultivated kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Agric. Food Chem.** v. 51, p. 7040-7043, 2003.

COELHO, J. V. & LAJOLO, F. M. Evolution of phenolic compounds and condensed tannins (Proanthocyanidins) during the development of bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arch. Latinoam. Nutr.** v. 43, n. 1, p.61-65, 1993.

COSTA DE OLIVEIRA, A. et al. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais, fitatos e taninos, no teor de amido resistente e em fatores de flatulência rafinose, estaquiase e verbascose. **Arch. Latinoam. Nutr.** v. 51, n. 3, p. 276-283, 2001.

COUDRAY, C.; DEMINGNÉ, C.; RAYSSIGUIER, Y. Effects of dietary fibers on magnesium absorption in animals and humans. **J. Nutr.** v. 133, p. 1-4, 2003.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. **Rev. Nutr.** v. 10, n. 2, p. 87-98, jul./dez., 1997.

CUNHA, M. & SGARBIERI, V. C. **Efeito de tratamentos por radiação gama ou microondas em propriedades físicas, bioquímicas, químicas e sensoriais do feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) da variedade Carioca 80 SH, antes e durante a estocagem.** 1992. 129p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, S.P.

DOMENE, S. M.; TORIN, H. R.; AMAYA-FARFAN, J. Dietary zinc improves and calcium depresses growth and zinc uptake in rats fed rice bran. **Nutr. Res.** v. 21, p. 1493-1500, 2001.

DUHAN, A; KHETARPAUL, N; BISHNOI, S. Effect of various domestic processing and cooking methods on phytic acid and HCl-extractability of calcium, phosphorus and iron of pigeon pea. **Nutr. Health.** v. 13, n. 3, p. 161-169, 1999.

DUHAN, A; KHETARPAUL, N; BISHNOI, S. Changes in phytates and HCl extractability of calcium, phosphorus and iron of soaked, dehulled, cooked, and sprouted pigeon pea cultivar (UPAS-120). **Plant Food Hum. Nutr.** v. 57, p.275-284, 2002.

DUFLOS, C. et al. Calcium solubility, intestinal sojourn time and paracellular permeability codetermine passive calcium absorption in rats. **J. Nutr.** v. 125, p. 2348-2355, 1995.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. 25p.

FERNANDEZ, M. et al. Nutritional assessment of raw and processed faba bean (*Vicia faba* L.) cultivar Major in growing rats. **J. Agric. Food Chem.** v. 44, p. 2766-2772, 1997.

FUKUDA, G.; ELÍAS, L. G.; BRESSANI, R. Significado de algunos factores antifisiológicos y nutricionales en la evaluación biológica de diferentes cultivares de frijol común (*Phaseolus* sp.). **Arch. Latinoam. Nutr.** v. 32, n. 4, p. 945-960, 1982.

GERMANO, R. M. A. & CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Importância do ferro em nutrição humana. **Nutrire - J. Brazilian Soc. Food Nutr.** v.24, p. 85-104, dez., 2002.

GREGER, J. L. Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. **J. Nutr.** v. 129, p. 1434S-1435S, 1999.

GRUSAK M. A. Enhancing mineral content in plant food products. **J. Am. Coll. Nutr.** v. 21, p. 178S-183S, 2002.

GUILLON, F. & CHAMP, M-P. Carbohydrate fraction of legumes: uses in human nutrition and potential for health. **British J. Nutr.** v. 88 (Suppl. 3), p. S293-S306, 2002.

HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ROSSANDER, L. Iron absorption in man: ascorbic acid and dose-dependent inhibition by phytate. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 49, p.140, 1989.

HARA, H.; SUZUKI, T.; AOYAMA, Y. Ingestion of the soluble fiber, polydextrose, increases calcium absorption and bone mineralization in normal and total-gastrectomized rats. **British J. Nutr.** v. 5, p. 655-661, 2000.

HELBIG, E. et al. Effect of soaking prior to cooking on the levels of phytate and tannin of the common bean (*Phaseolus vulgaris*, L) and the protein value. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** v. 49, p. 81-86, 2003.

- HURRELL, R. F. et al. Soy protein, phytate, and iron-absorption in human. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 56, p. 573-578, 1992.
- HURRELL, R. F. et al. Phytic acid added to white-wheat bread inhibits fractional apparent magnesium absorption in humans. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 79, p. 418-423, 2004.
- INK, S. L. Fiber-mineral and fiber-vitamin interactions. In: BODWELL, C. E. & ERDMAN, J. W. **Nutrient interactions**, Marcel Dekker, New York, p.253-264, 1988.
- KOEHLER, H. H. et al. Nutrient composition, protein quality, and sensory properties of thirty-six cultivars of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.** v. 52, n. 5, p. 1335-1340, 1987.
- KU, S. et al. Extraction of oligosaccharides during cooking of whole soybean. **J. Food Sci.** v. 41, p. 361-364, 1976.
- LYNCH, SR. et al. Iron absorption from legumes in humans. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 40, p. 42-47, 1984.
- MACZ-POP, G. A.; RIVAS-GONZALO, J. C.; PEREZ-ALONSO, J. J.; GONZALEZ-PARAMAS, A. M. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chem.** v. 94, n. 3, p. 448-456, 2006.
- MARTINEZ-DOMÍNGUEZ, B. M.; IBAÑES GÓMEZ, M. V.; RINCÓN LÉON, R. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Arch. Latinoam. Nutr.* v. 52, n.3, p. 219-231, 2002.
- MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Arch. Latinoam. Nutr.** v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.
- MEINERS, C. R., et al. Proximate composition and yield of raw and cooked mature dry legumes. **J. Agric. Food Chem.** v. 24, n. 6, p. 1122-1125, 1976a.
- MEINERS, C. R., et al. The content of nine minerals elements in raw and cooked mature dry legumes. **J. Agric. Food Chem.** v. 24, n. 6, p. 1126-1130, 1976b.
- MESSINA, M. J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **Am. J. Clin. Nutr.** v.70 (suppl), p. 439S-450S, 1999.
- MILLER, D. D. Mineral. In: FENNEMA, O. R. **Food chemistry**, 3. ed. Marcel Dekker, New York, p. 618-649, 1996.
- MITAMURA, R.; HARA, H.; AOYAMA, Y. Ingestion of raffinose promotes calcium absorption in the large intestine of rats. **Biosc. Biotechnol. Biochem.** v. 68, n. 2, p. 384-389, 2004.
- National Research Council - NRC. **Nutrient requirements of laboratory animals**. 4.ed. Rev. Washington, DC: National Academy Press, 1995.
- NESTARES, T. et al. Nutritional assessment of magnesium from raw and processed chickpea (*Cicer arietinum* L.) in growing rats. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p. 3138-3142, 1997.
- NESTARES, T. et al. Effect of processing methods on the calcium, phosphorus, and phytic acid contents and nutritive utilization of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **J. Agric. Food Chem.** v. 47, p. 2807-2812, 1999.

NESTARES, T. et al. Effect of different soaking solution on nutritive utilization of minerals (calcium, phosphorus, and magnesium) from cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in growing rats. **J. Agric. Food Chem.** v. 51, p. 515-520, 2003.

OBOH, H. A. et al. Effect of soaking, cooking and germination on the oligosaccharide content of selected Nigerian legume seeds. **Plant Food Hum. Nutr.** v. 55, n. 2, p. 97-110, 2000.

PHILIPPI, S. T. et al. Pirâmide alimentar adaptada: guia para escolha dos alimentos. **Rev. Nutr.** v. 12, n. 1, p. 65-80, jan/abr.,1999.

PORRES, J. M. et al. Effect of heat treatment and mineral and vitamin supplementation on the nutritive use of protein and calcium from lentils (*Lens culinaris* M.) in growing rats. **Nutrition**, v. 19, p. 451-456, 2003.

PORRES, J. M. et al. Bioavailability of phytic acid-phosphorus and magnesium from lentils (*Lens culinaris* M.) in growing rats: influence of thermal treatment and vitamin-mineral supplementation. **Nutrition**, v. 20, p. 794-799, 2004.

QUEIROZ, K. et al. Soaking the common bean in a domestic preparation reduced the contents of raffinose-type oligosaccharides but did not interfere with nutritive value. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** v. 48, n. 4, p. 238-239, 2002.

REDDY, N. R. et al. Chemical, nutritional and physiological aspects of dry bean carbohydrates. **Food Chem.** v. 13, p. 25-69, 1984.

SAITO, K. et al. Effects of DFA IV in rats: calcium absorption and metabolism of DFA IV by intestinal microorganism. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** v. 63, p. 655-661, 1999.

SALUNKHE D. K. et al. Chemical, biochemical, and biological significance of polyphenols in cereal and legumes. **CRC Critical Rev. Food Sci. Nutr.** v. 17, p. 277-305, 1982.

SANDBERG, A. S. Bioavailability of mineral in legumes. **British J. Nutr.** v. 88 (Suppl 3), p. S281-285, 2002.

SATHE, S. K. Dry bean protein functionality. **Critical Rev. Biotechnol.** vol. 22, n. 2, p. 175-223, 2002.

SAUQUILLO, A; BARBERÁ, R; FARRÉ, R. Bioaccessibility of calcium, iron and zinc from three legume samples. **Nahrung**, v.6, n. 47, p. 438-41, 2003.

SCHOLZ-AHRENS, K. E. & SCHRESENMEIR, J. Inulina, oligofrutose and mineral metabolism – experimental data and mechanism. **British J. Nutr.** v. 87 (suppl. 2), p. S179-S186, 2002.

SILVA, H. C. et al. Oligossacarídeos da família da rafinose e flatulência. **Cad. Nutr. Soc. Bras. Alim. e Nutr. - SBAN.** v. 4, p. 48-60,1992.

SILVA, M. R. & SILVA M. A. A. M. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Rev. Nutr.** v.12, n. 1, p. 21-32, jan./abr., 1999.

SUZUKI, T. & HARA, H. Various nondigestible saccharides open a paracellular calcium transport pathway with the introduction of intracellular calcium signaling in human intestinal caco-2 cells. **J. Nutr.** v. 134, p. 1935-1941, 2004.

SUZUKI, T.; HARA, H.; KASAI, T.; TOMITA, F. Effects of disfructose anhydride III on calcium absorption in small and large intestines of rats. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** v. 62, p. 837-841, 1998.

TACO, TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DOS ALIMENTOS - NEPA/UNICAMP - versão II, 2. ed. Campinas, SP: NEPA/UNICAMP, 2006, 113p. Disponível: www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A. R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **CRC Critical Rev. Food Sci. Nutr.** v. 1, n. 1, p. 1-22, 1991.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A. R.; SAURA-CALIXTO, F. Study of the interactions of calcium ions with lignin, cellulose, and pectin. **J. Agric. Food Chem.** v. 40, p. 1762-1766, 1992.

URBANO, G. et al. Ca and P bioavailability of processed lentils as affected by dietary fiber and phytic acid content. **Nutr. Res.** v. 19, p. 49-64, 1999.

van DOKKUM, W. Significance of iron bioavailability for iron recommendations. **Biol. Trace Element Res.** v. 35, p. 1-11, 1992.

van DOKKUM, W. The concept of mineral bioavailability. In: **Bioavailability of micronutrients and minor dietary compounds. Metabolic and technological aspects.** Research Signpost. M. Pilar Vaquero, Trinidad García-Arias, Ángeles Carvajal and Francisco José Sánchez-Muniz. Kerala, India, p. 1-18, 2003.

von ELBE, J. H. & SCHWARTZ, S. J. Colorant. In: FENNEMA, O. R. **Food chemistry**, 3. ed, Marcel Dekker, New York, p. 681-697. 1996.

WEAVER, C.M. et al. Absorbability of calcium from common beans. **J. Food Sci.** v. 58, n.6, p. 1401-1403, 1993.

WELCH, R. M. et al. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **J. Agric. Food. Chem.** v.48, p.3576-3580, 2000.

YOUNES, H; DEMIGNÉ, C; RÉMÉSY, C. Acidic fermentation in the calcium increases absorption of calcium and magnesium in the large intestine of the rat. **British J. Nutr.** v. 75, p. 301-314, 1996.

OBJETIVOS

GERAL

Avaliar a biodisponibilidade de cálcio, magnésio, cobre e zinco de novas cultivares de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) e comparar com uma variedade clássica de soja (*Glycine max*), e sua relação com fatores antinutricionais não-protéicos (fitatos), em ratos Wistar recém-desmamados submetidos a alimentação exclusiva à base de feijão liofilizado e farinha de soja integral (torrada).

ESPECÍFICOS

- Caracterizar a composição centesimal e perfil aminoacídico e mineral de novas variedades de feijão-comum (*P. vulgaris*) *in natura*.
- Determinar a concentração protéica, perfil aminoacídico, cálcio, magnésio, cobre, zinco e ácido fítico nas dietas exclusivamente à base de feijão e soja, previamente selecionados pelo seu perfil nutricional, para o estudo de biodisponibilidade de minerais.
- Determinar os Quocientes de Eficiência Alimentar (QEA), ganho de peso, consumo de dieta e ingestão de fitatos dos animais submetidos a 12 dias em alimentação exclusiva à base de leguminosas.
- Determinar a biodisponibilidade de cálcio, magnésio, cobre e zinco das fontes leguminosas, por meio dos índices de balanço, coeficiente de digestibilidade aparente, taxa de retenção/absorção.
- Avaliar a retenção mineral nos ossos (fêmur e tíbia), por meio de técnicas histomorfométricas, nos animais após 12 dias de ensaio biológico.

CAPÍTULO I

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE SETE NOVAS CULTIVARES BRASILEIRAS DE FEIJÃO-COMUM (*Phaseolus vulgaris*), OBTIDAS POR MELHORAMENTO GENÉTICO CONVENCIONAL

CHEMICAL CHARACTERIZATION OF SEVEN NEW BRAZILIAN COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris*) CULTIVARS, OBTAINED BY CONVENTIONAL GENETIC IMPROVEMENT

RESUMO

Dada a importância que os feijões secos têm na dieta tradicional brasileira, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) tem desenvolvido novos cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*), por meio de melhoramento genético, para atender os altos padrões agrônômicos e culinários do mercado interno. Entretanto, as características nutricionais destas novas cultivares estão documentadas de maneira incompleta, tanto em termos de conteúdo de macro/micro nutrientes, como também de seus valores biológicos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o valor nutritivo de sete novas cultivares de feijão: Jalo Precoce, Radiante, Vereda, Pérola, Timbó, Valente e Ouro Branco, da EMBRAPA do Centro de Pesquisa Arroz-Feijão, Goiás. Após análise centesimal de rotina, foram determinados o perfil aminoacídico e alguns importantes componentes minerais (cálcio, ferro, magnésio, cobre e zinco). Os resultados mostram que variações significativas ($P < 0,05$) ocorreram no conteúdo protéico e de carboidratos totais entre todas as cultivares. O teor de proteína variou entre 21 e 28%, com destaque para Radiante, Jalo Precoce e Ouro Branco que tiveram as maiores concentrações. O teor de carboidratos foi de 55,4 (Radiante) a 62,1% (Valente), entretanto os lipídios permaneceram constantes, variando de 2,4 a 2,8%. As proteínas de todas as novas cultivares alcançaram os padrões internacionais para os requerimentos de histidina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina e tirosina. Com destaque para as cultivares Vereda e Ouro Branco, que alcançaram os requerimentos de lisina e treonina. Por outro lado, todas as cultivares apresentaram baixo conteúdo de aminoácidos sulfurados, metionina e cistina. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre as cultivares em termos de Mg, Fe e Zn, mas as concentrações de Ca e Cu variaram significativamente ($P < 0,0001$). O conteúdo de ferro foi de 4,7 (Ouro Branco) a 5,5mg/100g (Vereda e Valente), enquanto que o cobre foi de 0,5 (Ouro Branco) a 0,9mg/100g (Radiante), e o conteúdo de zinco foi de 2,4 (Ouro Branco e Pérola) a 3,1mg/100g (Jalo Precoce). Pelos altos teores de Ca se destacaram as variedades Pérola (486), Vereda (428) e Valente (387mg/100g), enquanto que Jalo Precoce, Pérola e Valente apresentaram os maiores teores de Mg (129-117mg/100g). Considerando o fato de que todas as variedades foram cultivadas sob condições estritamente controladas de solo, água e práticas agrícolas, estes resultados podem ser altamente representativos sobre as características individuais de composição, onde as variedades Jalo Precoce, Ouro Branco e Valente apresentaram-se mais vantajosas em termos de composição de nutrientes.

Palavras-chave: feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*), composição de nutrientes, aminoácidos, cálcio, magnésio, ferro, zinco e cobre.

ABSTRACT

Given the importance that dry beans have in the traditional Brazilian diet, the Brazilian Agency for Agricultural Research (EMBRAPA) has developed new cultivars of common beans (*P. vulgaris*) by means of classical breeding expecting to meet higher agronomic and culinary standards for the domestic market. Nevertheless, the nutritional characteristics of these new cultivars are incompletely documented, both in terms of macro/micro nutrient contents and biological value. The objective of the present work was to evaluate the nutritive value of seven new dry bean cultivars: Jalo Precoce, Radiante, Vereda, Pérola, Timbó, Valente e Ouro Branco, from the Embrapa Rice and Bean Research Center in Goiás. After routine proximal composition, their amino acid profiles and key mineral components (calcium, iron, magnesium, zinc and copper) were determined. The results show that substantial and significant ($P < 0.05$) variations occur in protein and carbohydrates among all the cultivars. Protein contents varied between 21 and 28%; Radiante, Jalo Precoce and Ouro Branco having the highest contents. In turn, the total carbohydrate contents ranged between 55.4, for Radiante, to 62.1%, for Valente, whereas the lipids remained rather constant, varying from 2.4 to 2.8%. The proteins of all these new cultivars met the international standard requirements for histidine, valine, isoleucine, leucine and phenylalanine plus tyrosine. Additionally, the cultivars Valente and Ouro Branco stood out because of their contents for lysine and threonine that also met the requirements. As in the case of all leguminous seeds, all the cultivars were low in the sulfur-containing amino acids, methionine and cysteine. No statistical differences were noticed among the cultivars in terms of Mg, Fe and Zn, but the concentrations of Ca and Cu did vary significantly ($P < 0.0001$). Iron contents varied from 4.7, in Ouro Branco, to 5.5mg/100g in Vereda and Valente, while copper ranged from 0.5 in Ouro Branco, to 0.9mg/100g, in Radiante, and the zinc contents went from 2.4 (Ouro Branco and Pérola) to 3.1mg/100g (Jalo Precoce). Insofar as calcium is concerned, Pérola (486), Vereda (428) and Valente (387mg/100g) were the richest, whereas Jalo Precoce, Pérola and Valente stood out because of their high contents of magnesium (129 – 117mg/100g). Considering the fact that all the cultivars were grown under strictly controlled conditions of soil, weather and agricultural practices, these results can be taken as highly representative of the individual compositional characteristics and could be concluded that among the new cultivars, the Jalo Precoce, Ouro Branco and Valente are the most advantageous in terms of nutrient composition.

Keywords: Common beans (*Phaseolus vulgaris*), nutrient composition, amino acids, calcium, magnesium, iron, zinc, copper.

INTRODUÇÃO

As sementes de leguminosas são amplamente cultivadas e consumidas em todo mundo e, de acordo com as condições climáticas de cada área, certos tipos tornam-se predominantes em relação a outros. Na América Latina, o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é responsável pelo fornecimento de quantidades significativas de proteínas, calorias e

outros nutrientes para populações de regiões onde geralmente predominam a subnutrição e a desnutrição (COELHO, 1991).

De acordo com Sathe (2002), a produção mundial de feijão teve um aumento considerável em torno de 68% nos últimos 40 anos, passando de 11.173,3 milhões de toneladas métricas em 1961, a 18.825,7 milhões de toneladas métricas no ano de 2000. Desses totais, o continente asiático contribuiu com a maior produção, 49,9%, seguido pela América do Sul com 19,9%, América Central e América do Norte com 16,4%, África com 10,2% e Europa com 3,33%. Dentre os países que mais se destacaram na produção de feijão em 2000 estão a Índia com 23%, o Brasil com 16%, a China com 7,3%, Myanmar com 6,5%, Estados Unidos com 6,3% e México com 6,15%. Com relação ao Brasil, o feijão é um dos componentes principais da Cesta Básica pela sua contribuição protéica de 28,7% e calórica de 11,2% (SGARBIERI, 1987). Por ser rico em lisina, o feijão melhora a qualidade das proteínas dos cereais da refeição, reconhecidamente deficientes neste aminoácido (COELHO, 1991). Messina & Erdman (1995) relacionaram o consumo destes grãos com efeitos benéficos à saúde pela diminuição do risco de doenças crônicas.

O gênero *Phaseolus* compreende todas as sementes conhecidas como feijão cuja forma, tamanho e cor variam consideravelmente de acordo com a espécie. O Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), localizado na Colômbia, é o principal fornecedor de germoplasma de feijão seco (*P. vulgaris*) com cerca de 14.000 variedades, sendo que as cultivares Rosa, Rosinha, Rajado, Preto, Jalo, Carioca, Roxo e Mulatinho são as mais comercializadas (BEJARANO-LUJÁN & COSTA, 2004). Existem ainda outros tipos de feijões como o adzuki (*P. angularis*), lima (*P. lunatus* e *P. limensis*) e "mung beans" (*P. aureus*) que são amplamente cultivados e consumidos na Ásia e África (COELHO, 1991).

Nas cultivares mais comuns, a semente tem a forma de rim cuja parte côncava corresponde ao hilo que é geralmente elíptico, em cuja porção mais profunda existe um disco esbranquiçado. No hilo, o corte transversal revela duas camadas de esclereídeos, sendo que a camada externa pertence ao funículo. Na parte inferior do hilo, encontra-se uma depressão triangular, a micrópila, que é uma abertura na cobertura seminal onde se realiza principalmente a absorção de água. Na parte superior, encontra-se a carúncula formada por duas proeminências diminutas, separadas em sua porção central e a rafe, que resulta da soldadura do funículo com o tegumento externo do óvulo. A estrutura interna, em corte transversal, mostra que a testa é formada por uma camada de células

semelhantes às células paliçádicas, compostas de esclereídeos (células de parede muito espessa). Abaixo desta camada existe outra de células bem menores que as anteriores. Os pigmentos que dão cor à semente são encontrados nestas duas camadas celulares. Finalmente, encontra-se um parênquima, cujas células mais externas são retangulares e as mais internas são irregulares ou ramificadas. A semente propriamente dita é constituída principalmente por dois cotilédones, formados de parênquima com alto conteúdo amilífero e protéico (SANTOS & GAVILANES, 1998).

A espécie *Phaseolus vulgaris* no Brasil é plantada e colhida durante todo o ano em três épocas de cultivo "águas", "seca" e "inverno", em uma grande diversidade de ecossistemas tropicais como cerrado, mata atlântica, semi-árido e equatorial (PELOSO, 2003). Tal diversidade de solo e clima exige uma ampla capacidade de adaptação desta espécie, que vem ocupando uma área de 3,5 milhões de hectares com uma produção anual de 2,1 milhões de toneladas para atender um consumo interno *per capita* aproximado de 16kg/ano (CARNEIRO, 2003).

A preferência por cultivares com características agronômicas que possibilitam maior produtividade, rendimento, arquitetura das plantas que permita a colheita mecânica com perdas menores que 5%, resistência a doenças que permitam reduzir o uso de defensivos, além dos tipos de grãos que atendam às preferências do mercado consumidor como cor, tamanho, brilho, escurecimento após colheita e tempo de cocção, contribuem para aumentar a renda do produtor rural, bem como o crescimento e a estabilidade da produção, evitando dessa maneira a evasão de divisas pela redução das necessidades de importação (CARNEIRO, 2003; PELOSO, 2003, DIDONET, 2003).

A principal característica na escolha para consumo de um determinado tipo de feijão é a cor e o tamanho dos grãos. Dentre todos os tipos, o feijão Carioca cuja cor é creme com estrias marrons, apresenta maior preferência nacional, como pode ser observado na Tabela 1 (EMBRAPA/CNPAF, 2003).

Assim, nos últimos anos os programas de melhoramento obtiveram inúmeros cultivares com o tipo de grão Carioca, a maioria deles com vantagens em termos de produtividade e resistência às doenças em relação ao cultivar Carioca original. Contudo, pequenas variações na cor do grão causadas pela ativação do gene J, que é responsável simultaneamente pela cor do halo (estrutura circundante ao hilo nas

sementes de algumas leguminosas) e também pelo brilho das sementes, acarretaram aceleração do processo de escurecimento, aumento do tempo de cozimento e redução da digestibilidade. Tais características ocasionam baixa aceitação pelos produtores, como aconteceu com o cultivar Carioca 80, desenvolvido pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e cuja cor amarela do halo em torno do hilo do grão foi associada com problemas de cozimento (RAMALHO & ABREU, 1998),

TABELA 1. Distribuição regional das diversas cultivares brasileiras de feijão (*P. vulgaris*).

Tipo Comercial	Região/Estados
Rosinha	Centro-Oeste e Minas Gerais
Preto	Centro-Oeste, Sudeste e Sul
Roxinho	Centro-Oeste e Minas Gerais
Manteigão (tipo jalo)	Centro-Oeste e Bahia
Carioca	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul
Manteigão/rajado	Centro-Oeste e Minas Gerais

Fonte: EMBRAPA/CNPAF (2003)

Ornellas (2001) cita ainda outros tipos de feijões como o feijão-mulatinho cuja produção se concentra também nos estados de São Paulo, Bahia, Ceará, Paraíba, Sergipe; o feijão-de-corda ou macacar que é mais consumido no Nordeste; as variedades fradinho, rajado, bico-de-ouro, roxo, enxofre, jalo, jalinho, vinagre, branco-da-terra, rosinha, vermelho, de-cor, manteiga, mulata-gorda, que são consumidos também nos estados da Bahia e Maranhão.

Na maioria dos programas de melhoramento, realizam-se cruzamentos entre linhas e cultivares provenientes do mesmo grupo gênico, isto é, do grupo que possui os cultivares com características agrônomicas e culinárias mais aceitas na região. A consequência desse procedimento é a exploração de menos de 5% da variabilidade existente na espécie, além de dificilmente se conseguirem ganhos genéticos significativos, principalmente na produção de grãos. Por essa razão é que vem sendo preconizada a utilização dos diferentes grupos gênicos nos programas de melhoramento, considerando evidentemente as principais características de cada um, a fim de viabilizar maiores ganhos em produtividade associados aos outros caracteres de interesse em cada região. Entretanto, nem sempre é viável o cruzamento entre cultivares pertencentes aos grupos gênicos mesoamericanos (sementes pequenas) e os provenientes dos grupos gênicos

andinos (sementes grandes), porque pode existir uma barreira que dificulta o livre fluxo gênico entre eles (SANTOS & GAVILANES, 1998).

Por esse motivo, é grande o desafio dos geneticistas de feijão em obter novos cultivares sem os defeitos do cultivar original e com as qualidades agronômicas desejadas. Com esse objetivo o Centro Nacional de Pesquisa Arroz e Feijão (CNPAP) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), localizado em Goiás, vem desenvolvendo por meio de programas de melhoramento genético, diversas pesquisas com a finalidade de identificar linhagens que possam ser indicadas para plantio por possuírem vantagens comparativas em relação às atualmente em uso, proporcionando assim alternativas para o plantio nos diferentes ecossistemas das diversas regiões produtoras brasileiras (PELOSO, 2003; CARNEIRO, 2003).

Contudo, a composição química e nutricional dos diversos tipos novos de feijões é pouco conhecida e as tabelas nacionais de composição centesimal dos alimentos são incompletas e não incluem todos os tipos de feijões mais consumidos no país, já que são em sua maioria compilações de dados internacionais.

De acordo com Torres e cols. (2000), a obtenção de dados referentes à composição de alimentos brasileiros tem sido de grande importância por que reúnem informações atualizadas, confiáveis e adequadas à realidade nacional. Além de contribuir com a avaliação do suprimento e consumo alimentar de um país, verificar a adequação nutricional da dieta de indivíduos e de populações para desenvolver pesquisas sobre as relações entre dieta e doença, em planejamento alimentar e agrônomo. Ainda de acordo com estes autores, muitos dados das tabelas produzidas no Brasil, ou mesmo no exterior, são pouco confiáveis pela falta de descrição dos procedimentos analíticos utilizados, dos critérios e forma de amostragem, variedades, condições de armazenamento da amostra entre outros, o que se reflete em dados de qualidade variável.

Assim sendo, com intuito de contribuir com dados nacionais sobre a composição de cultivares de feijão o presente estudo teve como objetivo determinar a composição nutricional de sete cultivares brasileiros de feijão de diferentes grupos morfológicos como: manteigão (cv. Jalo Precoce), manteigão rajado (cv. Radiante), rosinha (cv. Vereda), Carioca (cv. Pérola), roxinho (cv. Timbó), preto (cv. Valente) e branco (cv. Ouro Branco),

desenvolvidos e recomendados para plantio pelo Centro Nacional de Pesquisa Arroz e Feijão (CPNAF) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), localizado em Goiás. Diferenças estatísticas foram analisadas por meio de análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Ducan (*multiple-range*).

MATERIAL

Amostragem

Foram utilizados dois quilos de cada amostra das sete cultivares de feijão, safra 2003, produzidas pelo Centro Nacional de Pesquisa Arroz e Feijão (CPNAF) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Goiás. As amostras foram mantidas em saco plástico duplo (2kg), sob refrigeração (8°C) até o momento da realização das análises (FIGURA 1).



FIGURA 1. Novas cultivares de feijão (*P. vulgaris*) desenvolvidas pela EMBRAPA/CNPAF.

Informações gerais sobre os locais de plantio

Todas as variedades foram plantadas em solo tipo latossol vermelho-amarelo, sendo que o índice pluviométrico em 2003 em Goiás de junho a agosto foi nulo e em setembro igual a 1,5mm. A média das temperaturas máximas e mínimas atingidas no mesmo período foram 26,3°C e 22,3°C.

Características agrônômicas

As características agrônômicas de cada uma das sete novas cultivares estudadas estão apresentadas na Tabela 2.

TABELA 2. Características agrônômicas de sete novas cultivares de feijão (*P. vulgaris*) desenvolvidas pela EMBRAPA/CNPAF.

Características	JALO PRECOCE	RADIANTE	VEREDA	PÉROLA	TIMBÓ	VALENTE	OURO BRANCO
Grupo morfológico	Manteigão (tipo jalo)	Manteigão-rajado	Rosinha	Carioca	Roxinho	Preto	Branco
Cor grão	Amarelada	Bege/rajas roxas	Bege/ tons rosa	Bege claro/ rajas marrom-claras	Roxo	Preto	Branco
Região recomendada	Centro-Oeste BA	Centro-Oeste MG	Centro-Oeste MG	Norte, Nordeste, Sul	Centro-Oeste MG	Centro-Oeste Sudeste Sul	Minas Gerais
Ciclo (dias)	27-72	35-80	47-93	46-95	43-87	40-53 80-94	80
Hábito crescimento	Semi-ereto	Ereto	Semi-ereto	Semi-ereto	Semi-ereto	Ereto	Ereto
Peso (g) de 100 sementes	35,5	44,7	26,3	27	13,3	21,5	47
Potencial de produtividade (kg/ha)	3.500	3.400	4.000	4.000	3.450	4.000	2.000

Fonte: EMBRAPA /CNPAF (2003)

Preparo das amostras

As amostras de feijões (*in natura*), foram previamente selecionadas, higienizadas, secas em estufa a 25°C por 24h, trituradas, moídas em micro-moinho Tecnal modelo TE0-48, com peneira de aço inox acoplada de abertura 30 "mesh" e homogeneizadas. Seguiu-se quarteamento até cerca de 200g.

MÉTODOS

Teor de umidade

Quantificado por meio de secagem em estufa elétrica a 105°C durante 24h até a obtenção de peso constante, segundo procedimento da AOAC (1990).

Teor de nitrogênio e proteína

O teor de nitrogênio foi quantificado pelo método semi-micro de Kjeldahl (AOAC, 1984), utilizando dióxido de titânio como catalisador (WILLIAMS, 1973). Para determinar o respectivo equivalente protéico, foi utilizado o fator de conversão 6,25 (SGARBIERI, 1996).

Perfil de aminoácidos

As determinações e quantificações de aminoácidos foram realizadas de acordo com o método proposto por White & Kry (1986), Elkim & Wasynesuk (1987) e Hagen e cols. (1989). Utilizando-se tubo de hidrólise (Pierce, 18.800), pesou-se 0,16g de cada amostra previamente triturada e homogeneizada, adicionou-se 9mL de HCl 6N com fenol. Homogeneizou-se a amostra em ultra-som por 6 minutos, seguida de fechamento a vácuo e hidrólise a 110°C por 24h. Posteriormente, foi introduzido no tubo de hidrólise o Padrão B1 (0,3mg de ácido alfa-aminobutírico, AAAB, 99-100% Pierce em 1000mL de HCl 0,1M) e homogeneizado em mixer vortex (Janke & Kunkel, VF2) por 30 segundos. O conteúdo foi transferido para balão volumétrico de 50mL e completado o volume final com H₂O ultrapura.

Em seguida, foi recolhido 3-4mL desta solução em uma seringa de plástico acoplada a um filtro Millipore (Millex) de 0,45mm, sendo que as primeiras cinco gotas filtradas foram desprezadas e o restante do filtrado foi transferido para um copo plástico de 5mL. Deste volume tomaram-se alíquotas de 50µL para serem transferidas para tubo de vidro (6x50mm), a fim de proceder à derivatização. Os tubos foram então colocados no vial de secagem na estação de vácuo (bomba a vácuo DV-142N-250 CE/JB Motor Division St. Louis, Missouri), até 70 millitorr. A seguir, foi adicionado 20µL de solução de re-secagem (acetato de sódio triidratado 0,2N, metanol 99-100%, trietilamina 99-100%). Procedeu-se novamente à homogeneização em mixer vortex por 30 segundos e secagem em bomba de vácuo, com posterior adição de 20µL da solução derivatizante, sem feniltiosianato e com feniltiosianato (PITC 99-100%, Pierce). Deixou-se a amostra em repouso por 20 minutos, seguidos de secagem a vácuo. No final desta fase, o tubo apresentou cristais brancos, não oleosos. As amostras derivadas e secas foram mantidas sob congelamento (temperatura inferior a 2°C) até o momento da análise.

Para análise no HPLC precedeu-se a calibração prévia do aparelho com uma corrida inicial em branco com os eluentes programados a partir do eluente B (mediu-se 400mL de água ultrapura e transferiu-se para um balão volumétrico de 1000mL completando o volume final com acetonitrila a 99-100% grau HPLC, seguida da adição de 200µL de EDTA dissódico à 2g/L) e com os Padrões C1, C2 e C3 feitos a partir dos padrões A (Padrão Pierce H, com todos os componentes na concentração de 2,5 micromoles por mL, exceto a cistina que possui 1,25 micromoles por mL, em HCl 0,1M) e do Padrão B2 (0,3mg de ácido alfa-aminobutírico AAAB 99-100% Pierce em 1000mL de HCl 0,1M, utilizou-se 25mL desta solução diluída novamente em HCl 0,1M).

Após conclusão do aminograma introduziu-se a tabela de calibração (TABELA 3) com posterior obtenção dos fatores de calibração a partir da injeção dos padrões C1, C2 e C3. Em seguida, realizou-se a transferência de 500µL de solução diluente (0,3mg de hidrogeno fosfato de sódio a 99-100% em 1000mL H₂O ultrapura, dissolvido, homogeneizado, titulado com ácido fosfórico a 10% até o pH 7.40, acrescentado de 5mL de acetonitrila a 99,7-100% grau HPLC) nos tubos contendo a amostra seca e derivatizada. A continuação, vedaram-se os tubos com três camadas de teflon e deixaram-se no banho de ultra-som (Branson, 5210) por 10 minutos com posterior homogeneização em mixer vortex por 30 segundos, sendo depois transferida para o vial de injeção (30 µL) com microseringa. A leitura foi realizada em analisador de aminoácidos Pickering com coluna Picotag Column HPLC Waters Technologies do Brasil. Os resultados foram expressos em porcentagens dos componentes com relação à amostra tal qual. Para isto foi preciso corrigir as diluições efetuadas.

Teor de lipídeos totais

O teor lipídico das amostras foi determinado utilizando diferentes solventes orgânicos extratores e quantificado por diferença de pesagem, de acordo com o método sugerido por Bligh & Dyer (1959).

Carboidratos totais

O conteúdo total de carboidratos foi estimado pela diferença entre o teor de macronutrientes e cinzas, de acordo com a fórmula: $100 - (\text{umidade} + \text{proteína bruta} + \text{lipídeos totais} + \text{cinzas})$ (COSTA DE OLIVEIRA e cols. 2001).

TABELA 3. Condições operacionais para calibração do analisador de aminoácidos.

Componente Aa	Nº. do pico	PM	Padrão ³¹ (g)	Padrão ³² (g)	Concentração (g/100mL) X 1000		
					Padrão C ₃	Padrão C ₂	Padrão C ₁
ASP	01	133,1	1,0000	5,0000	6,6550	3,3275	1,6638
GLU	02	147,1	1,0000	5,0000	7,3550	3,6775	1,8388
SER	03	105,1	1,0000	5,0000	5,2550	2,6275	1,3138
GLY	04	75,1	1,0000	5,0000	3,7550	1,8775	0,9388
HIS	05	155,2	1,0000	5,0000	7,7600	3,8800	1,9400
ARG	06	174,2	1,0000	5,0000	8,7100	4,3550	2,1775
THR	07	119,1	1,0000	5,0000	5,9550	2,9775	1,4888
ALA	08	89,1	1,0000	5,0000	4,4550	2,2275	1,1138
PRO	09	115,1	1,0000	5,0000	5,7550	2,8775	1,4388
AAAB	10	103,1	0,6500		6,4350	6,43,50	6,4350
TYR	11	181,2	1,0000	5,0000	9,0600	4,5300	2,2650
VAL	12	117,2	1,0000	5,0000	5,8600	2,9300	1,4650
MET	13	149,2	1,0000	5,0000	7,4600	3,7300	1,8650
CIS 1	14	240,2	1,0000	5,0000	12,0100	6,0050	3,0025
CIS 2	15	240,2	1,0000	5,0000	12,0100	6,0050	3,0025
CIS 3	16	240,2	1,0000	5,0000	12,0100	6,0050	3,0025
ILE	17	131,2	1,0000	5,0000	6,5600	3,2800	1,6400
LEU	18	131,2	1,0000	5,0000	6,5600	3,2800	1,6400
PHE	19	165,2	1,0000	5,0000	8,2600	4,1300	2,0650
LYS	20	146,2	1,0000	5,0000	7,3100	3,6550	1,8275
			Total	AAAB	142,7550	71,3775	35,6888

Determinação de cinzas totais

Quantificada por meio de incineração das amostras em temperatura não superior a 600°C utilizando mufla elétrica durante 6h, de acordo com o método proposto pela AOAC (1990).

Quantificação de Ca, Mg, Fe, Cu e Zn por absorção atômica

Soluções-padrão (1000 mg/L) de cada mineral foram obtidas a partir de ampolas Tritisol Merck, após diluição para um litro de água deionizada. Posteriormente, foram

aconditionadas em frascos de polietileno e guardados à temperatura ambiente. Toda a vidraria utilizada foi deixada previamente em repouso em solução de HNO₃ (suprapuro) a 10% por 24 horas e depois lavada com água destilada (Milli-Q) em abundância.

Os elementos metálicos foram determinados em duas amostras escolhidas ao acaso, em triplicata, para cada uma das sete variedades, utilizando-se assim, um delineamento completamente casualizado. As análises foram efetuadas por espectrofotometria de absorção atômica com chama, utilizando-se o método descrito por Almeida (2002).

As amostras foram previamente mineralizadas em ácido nítrico (65%), Forno de Microondas (DGT 100 Provecto) - Programa 71/15min (Manual de Métodos DGT 100/Nº.18). Em seguida, procedeu-se à transferência das amostras com enxágüe prévio do copo de reação (3mL de água deionizada) para frascos de polietileno, completando um volume final de 8mL. A leitura da absorbância dos elementos presentes nas soluções foi efetuada utilizando-se espectrofotômetro de absorção atômica (GBC AA 932) com corretor de deutério e lâmpada de cátodo oco dos elementos a serem analisados, nas condições instrumentais especificadas pelo fabricante, precedida com solução de óxido de lantânio a 10% para evitar interferência espectral química.

Todas as etapas do método foram acompanhadas por brancos analíticos. A quantificação foi realizada com auxílio de curvas de calibração (procedimento de rotina), construídas a partir de soluções-padrão para Ca (1,0-2,0-4,0-8,0mg/mL), Mg (0,4-0,8-1,6-3,2mg/mL), Fe (2,5-5,0-10mg/mL), Cu (0,25-0,5-1,0mg/dL) e Zn (0,5-1,0-2,0mg/dL) em concentrações dentro da faixa ótima de operação do aparelho (Tabela 4).

TABELA 4. Condições operacionais para determinação de Ca, Mg, Fe, Cu e Zn por espectrofotometria de absorção atômica.

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Corrente (mA)	Fenda (nm)	Tipo de chama	Faixa ótima de operação (µg/mL)	Working Range (µg/mL)	Sensibilidade (µg/mL)
Ca	422,7	5	0,5	a/a	1,0-8,0	1,0-4,0	0,02
Mg	285,2	4	0,5	a/a	0,1-4,0	0,1-0,4	0,003
Fe	248,3	7	0,2	a/a	2,0-10,0	2,0-9,0	0,05
Cu	324,7	4	0,5	a/a	0,25-5,0	1,0-5,0	0,025
Zn	213,9	5	0,5	a/a	0,4-2,0	0,4-1,5	0,008

a/a = ar/acetileno

Análises estatísticas

Os resultados foram avaliados estatisticamente por meio de análise de variância (ANOVA). A comparação entre as médias foi determinada pelo teste de Duncan, multiple-range. Diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Para todas estas análises foi utilizado o programa *STATISTICA* para Windows, versão 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal das sete novas variedades de feijão (*P. vulgaris*) desenvolvidas pela EMBRAPA/CNPAP encontra-se na Tabela 5. Já os valores médios de referência da composição centesimal dos cultivares de feijão (*P. vulgaris*) das tabelas de composição dos alimentos, utilizadas pelos profissionais da área da nutrição, estão apresentados na Tabela 6.

TABELA 5. Composição centesimal das cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*) *in natura*, desenvolvidas pela EMBRAPA/CNPAP (base seca).

Amostras Feijões	Umidade %	Proteínas %	Lipídios %	Carboidratos*	Cinzas %
Jalo	9,4 ± 0,1ce	27,7 ± 0,4a	2,6 ± 0,4a	56,5 ± 1b	3,9 ± 0,1a
Precoce	10,0 ± 0,1ab	28,1 ± 0,5a	2,4 ± 0,1a	55,4 ± 0,5c	4,0 ± 0,01a
Radiante	9,8 ± 0,1bc	22,7 ± 0,6b	2,5 ± 0,4a	60,5 ± 0,5ab	3,9 ± 0,03a
Pérola	8,6 ± 0,1de	23,9 ± 1,9b	2,7 ± 0,3a	60,8 ± 2,1ab	4,0 ± 0,08a
Timbó	8,9 ± 0,2e	24,0 ± 2,4b	2,8 ± 0,2a	60,4 ± 2,4ab	3,9 ± 0,04a
Valente	9,3 ± 0,5ce	21,9 ± 0,8bd	2,7 ± 0,04a	62,1 ± 1,2a	4,1 ± 0,01a
Ouro Branco	9,3 ± 0,6ce	25,6 ± 0,6ac	2,7 ± 0,02a	58,9 ± 0,5b	3,5 ± 0,01a

Dados apresentados em base seca (média ± desvio-padrão, no mínimo n=3)/letras diferentes na mesma coluna apresentaram diferenças estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

*Determinados por diferença

Embora seja possível encontrar dados publicados em revistas especializadas sobre a composição nutricional de várias cultivares de feijão, nas tabelas brasileiras de composição dos alimentos disponíveis até o momento, são apresentados apenas alguns tipos de variedades. Com exceção da nova versão da Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO-NEPA/UNICAMP, 2006) que inclui diversos tipos de feijão *in natura* e

cozidos (Tabela 6). Diferenças com relação à concentração de um determinado nutriente são plausíveis de acontecer principalmente nos alimentos de origem vegetal, mesmo pertencendo à mesma espécie e família botânica, devido às suas próprias características genéticas, sistema de nutrição das plantas e métodos analíticos aplicados.

TABELA 6. Composição centesimal de cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*) *in natura*.

Tabela de Composição	<i>P. vulgaris</i>	Umidade %	Proteína %	Lipídio %	Carboidratos %	Cinzas %
USDA,/REL 18 ¹	Kidney bean	11,8	23,6	0,8	60	3,8
	Black bean	11	21,6	1,4	62,4	3,6
	Pinto bean	16,5	20,7	1,4	57,8	3,7
	Navy bean	12,4	22,3	1,3	60,7	3,4
	White bean	11,7	21,1	1,2	62,3	3,8
	Yellow bean	11,1	22	2,6	60,7	3,6
	Pink bean	10,1	21	1,1	64,2	3,7
TACO ²	Carioca	14	20	1,3	61,2	3,5
	Fradinho	12,7	20,2	2,4	61,2	3,5
	Jalo	13,5	20,1	0,9	61,5	3,9
	Preto	14,9	21,3	1,2	58,8	3,8
	Rajado	15	17,3	1,2	62,9	3,7
	Rosinha	12	20,9	1,3	62,2	3,6
ENDEF ³	Roxo	12,6	22,2	1,2	60	4
Philippi ⁴	Feijão	nd	23	1,1	61,3	nd
	Feijão tipo 1	nd	22	1,6	61	nd
	F. branco	nd	21	1,2	62,3	nd

1. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 18

2. Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos – TACO – NEPA/UNICAMP (2006)

3. Tabela de Composição dos Alimentos – Estudo Nacional de Despesa Familiar/IBGE (1999)

4. PHILIPPI, S. T. Tabela de Composição dos Alimentos: suporte para decisão nutricional 2ª. ed. 2002.

nd = não determinado

Teor de umidade

O teor médio de umidade dos feijões variou entre 8,6 e 10% (Figura 2). A análise de variância mostrou diferenças estatísticas significativas em nível de 5% na comparação entre as médias das amostras. Embora, todas as cultivares tivessem sido submetidas às mesmas condições de plantio, colheita e armazenamento, as variedades Pérola (Carioca) e Timbó (roxinho) apresentaram os menores teores de umidade, 8,6 e 8,9%

respectivamente, seguidas pelo feijão Ouro Branco (branco) e Valente (preto), ambos com 9,3%.

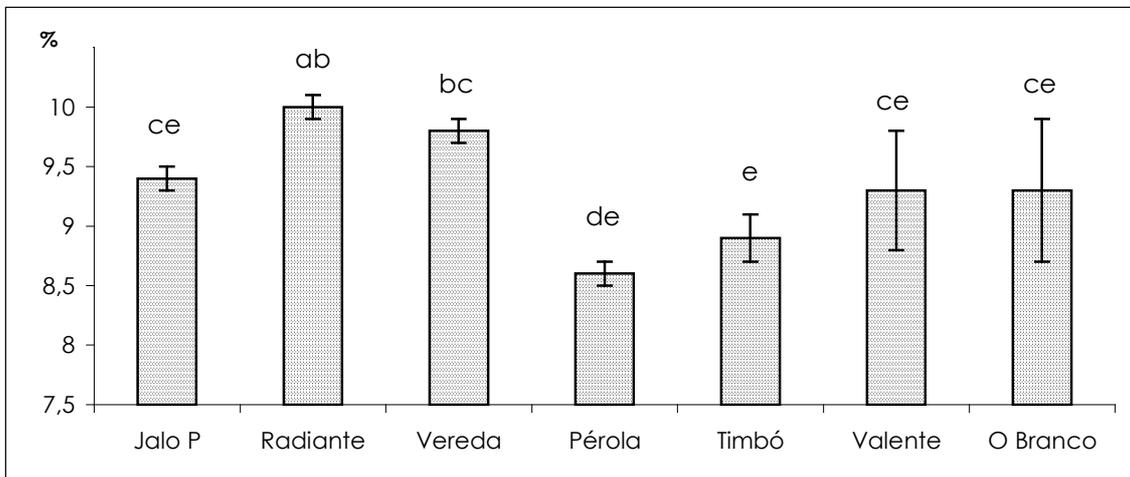


FIGURA 2. Teores médios (%) de umidade das cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*) in natura.

Resultados semelhantes foram obtidos por Koehler e cols. (1987) ao analisarem o teor de umidade de 36 tipos de cultivares de feijão (*P. vulgaris*), de oito espécies norte-americanas, cujos valores foram de 9,5-10,4% no Small White, 9,6-9,9% no Navy, 9,5-10,8% no Great Northern, 10,1-10,9% no Red Kidney, 8,2-10,5% no Pink, 8,9-10,4% no Red Mexican, 8,4-11,1% no Pinto e 9,9% no Black beans.

Porém, outro estudo realizado por Meiners e cols. (1976a) mostrou teores de umidade maiores para cultivares norte-americanos como o Navy beans (18,2%), Pinto beans (14,7%), Great Northern beans (13,3%) e Red Kidney beans (12,7%). Já Moraes & Angelucci (1971) encontraram pequena variação de umidade em doze cultivares de feijões brasileiras estudadas, ou seja, entre 10,4% no cultivar Chumbinho Opaco e 11,7% no Preto G-1.

Comparando o teor de umidade das cultivares nacionais (Figura 2) com os valores de referência (Tabela 6), observa-se que os teores apresentados como referência para as diversas espécies de feijão (*P. vulgaris*) são relativamente maiores aos encontrados no presente estudo, com variações de 12% (ENDEF, 1999), 14% (TACO, 2006) e 16,5% (USDA, Rel. 18).

O teor de umidade no feijão é controlado pela testa que serve como uma camada impermeável, e também por uma fissura que existe no hilo que deixa a água entrar quando a semente está secando e se fecha quando a umidade interna está ótima (SANTOS & GAVILANES, 1998). O teor de umidade é um importante fator na manutenção da qualidade do feijão, tanto para os que serão destinados ao consumo como para os que serão utilizados posteriormente como semente (BUNCH, 1959). Como nos demais alimentos, a maior parte da água contida nas leguminosas se encontra sob a forma livre, não ligada a nenhuma estrutura molecular dentro da célula, sendo relativamente fácil a sua remoção. As demais formas de água presentes, apesar da importância sob o aspecto físico-químico, possuem teores muito reduzidos inviáveis na prática analítica (SILVA, 1990).

Estudos sobre o efeito da estocagem e das condições de colheita em três cultivares brasileiras de feijão (*P. vulgaris*), compararam a influência do período de colheita (antecipado e a termo) no teor de umidade nos feijões. Os teores médios de umidade encontrados nas cultivares que foram colhidas antecipadamente foram de 13,26% no CI 128, 12,57% no ESAL 550 e 12,32% no feijão Carioca. Já, as mesmas cultivares colhidas a termo apresentaram um teor médio de umidade iguais a 13,64%, 12,57% e 13,59%, respectivamente. Tais resultados mostraram que os feijões colhidos a termo apresentam maior teor de umidade (13,29%) em relação aos colhidos antecipadamente (12,71%) (RIOS e cols. 2003). Estes autores observaram também oscilações no teor de umidade das três cultivares de feijão, de ambos períodos de colheita, devido às variações na umidade relativa (UR) do ambiente durante o período de armazenamento que foi de oito meses em temperatura média de 20°C com variações de 65 a 76% UR.

Teor de proteína

O teor médio de proteína (base seca) encontrado nas sete variedades de feijão foi de 24,84% (Figura 3). Estes resultados apresentaram diferenças estatísticas significativas em nível de 5% entre as cultivares. O conteúdo protéico variou de 21% na cultivar Valente (preto) a 28% na cultivar Radiante (manteigão jalo). Os valores de referência para o teor protéico dos diversos tipos de feijão (*P. vulgaris*) apresentados na Tabela 6 oscilaram entre 20% no feijão Carioca (ENDEF, 1999) e 23% nos feijões Kidney (USDA, Rel 18) e feijão grão seco (PHILIPPI, 2002). Tais resultados são similares aos encontrados nas variedades Valente (21,9%), Vereda (22,7%) e Pérola (23,9%), porém menores que os observados nas variedades Ouro Branco (25,6%), Jalo Precoce (27,7%) e Radiante (28%). Resultados

semelhantes foram obtidos por Moraes & Angelucci (1971) em cultivares brasileiras, com variações de 21,5% no feijão Preto G1 a 28,3% no Goiano Precoces.

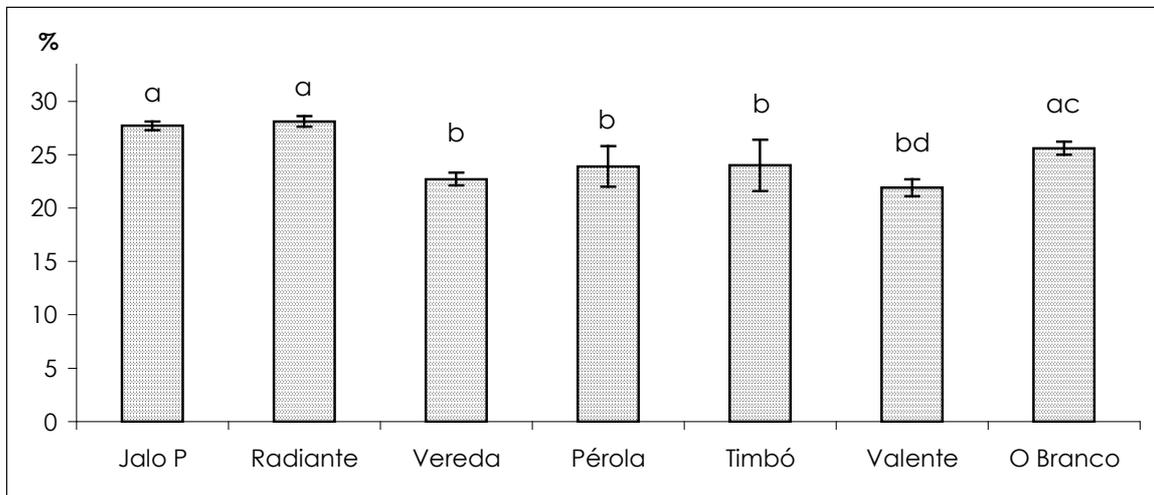


FIGURA 3. Teores médios (%) de proteína das cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*) in natura.

Barampama & Simard (1993) estudaram treze cultivares de feijões de Burundi, onde encontraram teores médios relativamente menores do que nas variedades apresentadas na Figura 2, ou seja, iguais a 22,3%. Resultados similares a estes também foram encontrados por Weder e cols. (1997) em cultivares norte-americanas de feijão Anazi (Red-and-White Pinto Beans). Já, Yañes e cols. (1995) encontraram uma variação de 21,8 a 26,2% de proteína em cultivares chilenas de feijão e Meiners e cols. (1976a) obtiveram no feijão Navy, Great Northern e Red Kidney um teor protéico de 21%, porém na variedade Pinto o valor encontrado foi um pouco menor, em torno de 18,8%.

Koehler e cols. (1987) observaram que mesmo dentro de um mesmo tipo de cultivar de feijão é possível encontrar variações quanto ao teor protéico, como no cultivar Small White, cuja variação foi de 21,15% para o Fleetwood e 23,1% para o Chief; no feijão tipo Navy os teores variaram entre 20,4% no NW-395 e 22,5% no Hyden (NW 230); no Great Northern os teores variaram entre 20,8% GN-1140 e 23,6% Harris, porém no Red Kidney houve a maior diferença, 21,3% no Red Kloud e 28,7% Royal Red.

Osborn (1988) cita que as variações encontradas no teor de proteína em grãos de leguminosas podem estar dependentes de alguns fatores como expressão genética que controla a síntese e acúmulo de frações específicas de proteína; aquisição de nutrientes,

vigor da planta, maturação e tamanho da semente. Coelho (1991) menciona também que essas diferenças podem resultar do emprego de técnicas distintas de determinação, mas também podem refletir variações na composição química em função do grau de maturação em que o feijão foi colhido e condições de tempo de armazenamento. Além dos fatores ambientais, como localização geográfica e estação do ano (SATHÉ e cols. 1984).

Diferenças nos teores protéicos ocorrem mesmo entre as sementes individuais com relação a sua posição na planta: aquelas colhidas na porção superior do vegetal apresentam um teor protéico 18% menor, em média, que as colhidas nos nodos inferiores (COELHO, 1991). Rios e cols. (2003) encontraram que o fator tempo de colheita interferiu com o teor protéico do feijão Carioca em comparação com os cultivares CI 128 e ESAL 550, que não apresentaram diferença estatística no conteúdo de proteína tanto na colheita antecipada (15 dias antes) como normal (120 dias). Quando o cultivar Carioca foi colhido antecipadamente à época de colheita, seu teor de proteína bruta foi em torno de 30,41%, porém o mesmo cultivar apresentou menor teor quando colhido à termo, ou seja, 24%. Martin-Cabrejas e cols. (1997) estudaram o efeito do armazenamento prolongado sob condições tropicais (30-40°C/73%UR) em cinco variedades de feijão (*P. vulgaris*) africano e demonstraram que o conteúdo de proteína nos feijões (*in natura*) se alterou de 18,2% para 23,3% após armazenamento por um período de cinco anos, mas não associam esta variação com perdas de umidade por parte dos grãos.

As proteínas de reserva que representam cerca de 80% das proteínas totais das sementes, localizam-se em corpúsculos protéicos encontrados no citoplasma das células cotiledonares. Esses corpúsculos medem 1-10 μ e são estruturas circundadas por membrana lipoprotéica, constituídas por 70 a 80% de proteínas, cerca de 10% de fitatos, cátions, ácidos nucléicos e teores variáveis de oxalatos, carboidratos (exceto amido), lipídios e tocoferóis. Os corpos protéicos são formados durante o processo de maturação da semente, quando ocorre um aumento progressivo na síntese das proteínas de reserva, previamente glicosiladas no aparelho de Golgi e secretadas nos vácuos ou vesículas endoplasmáticas, formando assim tais estruturas (COELHO, 1991; SGARBIERI, 1996).

Ao contrário dos grãos de cereais o feijão praticamente não contém prolaminas e apresenta baixo teor de glutelina, predominando as globulinas e depois as albuminas. A

proporção globulina/albumina é muito variável entre as cultivares estando comumente na faixa de 2:1 a 3:1 (SGARBIERI, 1996).

Em sua revisão, Coelho (1991) afirma que a globulina G1 e a fitoemaglutinina são as principais proteínas em feijões *P. vulgaris* e estão armazenadas nos corpos protéicos correspondendo respectivamente a 50 e 10% das proteínas totais contidas nos cotilédones da semente madura. Também outras globulinas estão presentes nos cotilédones, como legumina que embora seja a principal proteína de reserva da maioria das leguminosas, está presente no feijão em menor quantidade e é pobre em aminoácidos sulfurados e rica em leucina, glicina e amidas (COELHO, 1991). Uma característica das globulinas de feijão e da globulina G1, em particular, é a resistência que essas proteínas oferecem à proteólise quando não desnaturadas. A globulina G1 tratada com tripsina e/ou quimotripsina sofre hidrólise muito parcial, ao redor de 30%, podendo ser bem mais digerível após desnaturação pelo calor (SGARBIERI, 1996).

A fração globulina obtida por precipitação na diálise quando submetida à eletroforese revela um número bastante grande de bandas de proteínas (superior a 20 bandas) com pesos moleculares na faixa de 13.000 a 110.000. A fração albumina revela na eletroforese de poliácridamida um número variável de bandas (10 a 15) com pesos moleculares na faixa de 12.400 a 81.100. Essa fração contém enzimas do metabolismo das sementes, inibidores de enzimas como tripsina, quimotripsina, alfa-amilase pancreática e lectinas (SGARBIERI, 1996).

Fora dos corpos protéicos estão presentes inúmeras proteínas envolvidas no metabolismo do vegetal e igualmente importantes do ponto de vista nutricional: enzimas diversas, inibidores de enzimas digestivas, algumas lectinas e também oligo- e polipeptídeos de baixo peso molecular. Entre estas, os inibidores de enzimas digestivas se destacam por serem um dos fatores responsáveis pela baixa digestibilidade apresentada pelas sementes de feijão, que limitam seu valor nutritivo, os inibidores de alfa-amilase e os inibidores de enzimas proteolíticas (COELHO, 1991).

Teor de aminoácidos

Na Tabela 7 estão apresentados os teores médios de aminoácidos das sete cultivares nacionais de feijão (*P. vulgaris*), expressos em g/100g de amostra de feijão. Com

relação ao teor de aminoácidos essenciais (Tabela 7), nota-se que a concentração de histidina variou entre 0,51% para a cultivar Timbó e 1,99%, para a cultivar Ouro Branco. O teor de treonina variou de 0,81% na cultivar Timbó a 0,91% na cultivar Radiante. A concentração de valina foi de 0,99% na cultivar Pérola e 1,23% na cultivar Radiante. O teor de metionina variou de 0,26% (var Pérola) a 0,32% (cv. Ouro Branco). A isoleucina variou de 0,81% (cv. Pérola) a 1,08% (cv. Radiante), que também apresentou maior teor de leucina (1,94%), seguida das variedades Jalo Precoce (1,81%), Timbó (1,76%) e Valente (1,75%). A concentração de fenilalanina oscilou de 1,05% (cv. Pérola) a 1,37% (cv. Radiante). O teor de lisina foi de 1,25% (cv. Pérola) a 1,56% (cv. Radiante). Das tabelas nacionais, somente a do ENDEF/IBGE (1999) apresenta os teores de apenas quatro aminoácidos (triptofano, treonina, lisina e metionina) para a denominação genérica de feijão (*P. vulgaris*) grão seco, limitando assim os dados para comparação.

TABELA 7. Composição de aminoácidos (g/100g amostra)* das variedades de feijão (*P. vulgaris*) *in natura*, desenvolvidas pela EMBRAPA/CNPAP.

AA	Jalo Precoce	Radiante	Vereda	Pérola	Timbó	Valente	Ouro Branco
ASP	2,82 ± 0,19	2,92 ± 0,49	2,45 ± 0,61	2,39 ± 0,27	2,6 ± 0,44	2,56 ± 0,07	2,77 ± 0,37
GLU	3,57 ± 0,18	3,69 ± 0,56	3,04 ± 0,66	2,95 ± 0,25	3,18 ± 0,56	3,16 ± 0,13	3,48 ± 0,34
SER	1,34 ± 0,1	1,42 ± 0,3	1,18 ± 0,37	1,19 ± 0,1	1,24 ± 0,39	1,28 ± 0,06	1,34 ± 0,23
GLY	0,90 ± 0,001	0,91 ± 0,07	0,8 ± 0,14	0,82 ± 0,01	0,84 ± 0,11	0,83 ± 0,03	0,89 ± 0,02
HIS*	0,77 ± 0,11	0,75 ± 0,13	0,68 ± 0,17	0,68 ± 0,14	0,51 ± 0,1	0,72 ± 0,09	1,99 ± 1,83
ARG	1,5 ± 0,05	1,52 ± 0,01	1,39 ± 0,19	1,37 ± 0,16	1,41 ± 0,23	1,33 0,06	1,46 ± 0,06
THR*	0,89 ± 0,25	0,91 ± 0,4	0,83 ± 0,41	0,85 ± 0,21	0,82 ± 0,44	0,86 ± 0,23	0,86 ± 0,23
ALA	1 ± 0,01	0,98 ± 0,09	0,85 ± 0,17	0,89 ± 0,04	0,91 ± 0,16	0,91 ± 0,02	0,96 ± 0,01
PRO	0,81 ± 0,06	0,82 ± 0,13	0,74 ± 0,13	0,71 ± 0,07	0,76 ± 0,13	0,76 ± 0,03	0,77 ± 0,06
TYR	0,93 ± 0,04	0,89 ± 0,06	0,83 ± 0,12	0,79 ± 0,02	0,78 ± 0,11	0,80 ± 0,12	0,89 ± 0,05
VAL*	1,17 ± 0,08	1,23 ± 0,16	1,06 ± 0,2	0,99 ± 0,08	1,11 ± 0,16	1,12 ± 0,07	1,11 ± 0,13
MET*	0,33 ± 0,01	0,3 ± 0,03	0,29 ± 0,01	0,26 ± 0,04	0,3 ± 0,01	0,29 ± 0,07	0,32 ± 0,03
CIS	0,21 ± 0,01	0,21 ± 0,02	0,15 ± 0,04	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,06	0,19 ± 0,04	0,22 ± 0,01
ILE*	0,98 ± 0,11	1,08 ± 0,11	0,9 ± 0,19	0,81 ± 0,04	0,97 ± 0,16	0,96 ± 0,06	0,93 ± 0,11
LEU*	1,81 ± 0,15	1,94 ± 0,23	1,64 ± 0,35	1,5 ± 0,07	1,76 ± 0,3	1,75 ± 0,03	1,72 ± 0,16
PHE*	1,3 ± 0,06	1,37 ± 0,19	1,16 ± 0,26	1,05 ± 0,01	1,22 ± 0,21	1,23 ± 0,04	1,23 ± 0,13
LYS*	1,51 ± 0,13	1,56 ± 0,23	1,35 ± 0,25	1,25 ± 0,05	1,42 ± 0,28	1,42 ± 0,01	1,46 ± 0,11

Dados apresentados em base seca (média ± desvio-padrão, no mínimo n=2)

* AA essenciais

Triptofano não determinado

Comparando os teores médios dos aminoácidos essenciais das variedades estudadas (Tabela 7) com os valores de referência norte-americanos (Tabela 8), observa-se que as cultivares brasileiras apresentaram redução de aproximadamente 2% para fenilalanina, 9% para valina, isoleucina e leucina, e 11% para lisina. Porém, dentre todos os aminoácidos essenciais, a maior redução encontrada foi para a treonina (42%). Contudo o teor de histidina das cultivares nacionais foi 3% superior em relação às variedades norte-americanas. Já o teor médio de metionina foi semelhante entre as cultivares nacionais e norte-americanas.

TABELA 8. Teores de aminoácidos (g/100g amostra) de variedades de feijão (*P. vulgaris*) in natura, de acordo com a USDA/Rel 18.

AA	Kidney Bean	Black Bean	Pinto Bean	Navy Bean	Small White Bean	Yellow Bean	Pink Bean	Média DP
ASP	2,9	2,6	2,5	2,7	2,6	2,7	2,5	2,64 ± 0,14
GLU	3,6	3,3	3,2	3,4	3,2	3,4	3,2	3,33 ± 0,15
SER	1,3	1,2	1,1	1,2	1,1	1,2	1,1	1,17 ± 0,08
GLY	0,9	0,8	0,8	0,9	0,8	0,9	0,8	0,84 ± 0,05
HIS*	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,61 ± 0,04
ARG	1,5	1,3	1,3	1,4	1,3	1,4	1,3	1,36 ± 0,08
THR*	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,91 ± 0,04
TRY*	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,27 ± 0,25
ALA	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,91 ± 0,04
PRO	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,91 ± 0,04
TYR	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,61 ± 0,04
VAL*	1,2	1,1	1,1	1,2	1,1	1,2	1,1	1,14 ± 0,05
MET*	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,31 ± 0,04
CIS	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,21 ± 0,04
ILE*	1,0	1,0	0,9	1,0	0,9	1,0	0,9	0,96 ± 0,05
LEU*	1,9	1,7	1,7	1,8	1,7	1,8	1,7	1,76 ± 0,08
PHE*	1,3	1,2	1,1	1,2	1,1	1,2	1,1	1,17 ± 0,08
LYS*	1,6	1,5	1,4	1,5	1,4	1,5	1,4	1,47 ± 0,08

*AA essenciais

Apesar destas diferenças, o perfil de aminoácidos essenciais (Tabela 9) das cultivares nacionais atende o requerimento para a maioria dos aminoácidos essenciais, de acordo com o padrão da Food Nutrition Board Institute of Medicine (FNO/IOM, 2003) com exceção dos requerimentos de aminoácidos sulfurados.

Barampama & Simard (1993) encontraram valores médios de aminoácidos de feijões provindos de Burundi, menores aos da Tabela 7, ou seja, de 0,74% para isoleucina, 1,5% para leucina, 1,4% para lisina, 0,15% para metionina, 1,0% fenilalanina e 0,9% para treonina. Entretanto, outro estudo realizado por Marzo e cols. (2002), mostra valores de aminoácidos essenciais para o feijão Kidney Bean (base seca) maiores aos da Tabela 7, ou seja, 0,97% de histidina, 4,8% de isoleucina, 9,5% leucina, 1,4% de metionina, 6,5% de fenilalanina, 4,6% de treonina e 5,7% de valina.

TABELA 9. Teores de aminoácidos essenciais (mg Aa/g proteína, base seca) das cultivares de feijão (*P. vulgaris*) desenvolvidas pela EMBRAPA/CNPAF.

Cultivares	HIS (mg)	THR (mg)	VAL (mg)	MET+CYS (mg)	ILE (mg)	LYS (mg)	LEU (mg)	PHEN+TYR (mg)
Jalo Precoce	25	25	37	21	31	50	58	72
BRS Radiante	25	25	40	19	32	51	60	79
BRS Vereda	26	31	41	20	34	53	64	81
BRS Pérola	23	23	38	17	32	49	58	72
BRS Timbó	28	26	47	20	42	58	74	86
BRS Valente	26	23	46	20	39	56	71	81
Ouro Branco	25	27	46	20	39	55	69	84
FNB/IOM, 2002*	18	27	32	25	25	55	51	47

*Padrão Food Nutrition Board/institute of Medicine, 2003

Com relação aos aminoácidos limitantes, todas as cultivares não atingiram o requerimento de metionina-cistina, apresentando um *déficit* de 20 a 32%. Dos aminoácidos de cadeia lateral alifática somente a lisina foi limitante para as cultivares Jalo Precoce, Radiante e Vereda, com *déficit* de 4 a 10%. Resultados similares aos observados com relação à composição de aminoácidos essenciais em *P. vulgaris* foram encontrados por Koehler e cols. (1987) nas variedades norte-americanas de feijão e também por Carbonaro e cols. (1997) na cultivar italiana White Bean. Contudo, outro estudo realizado por Moraes & Angelucci (1971) mostraram que diversas cultivares brasileiras de feijão-comum eram ricas em lisina e treonina e limitantes em metionina, triptofano, leucina, isoleucina e valina em comparação com o padrão da FAO/WHO (1968) utilizado pelos autores.

Teor de lipídios

Na Figura 4 estão apresentados os teores médios de lipídios das diferentes cultivares estudadas, que variou entre 2,4% na cultivar Radiante e 2,8% na cultivar Timbó. De acordo com a análise de variância, não houve diferença estatística significativa na comparação das médias. Comparando os resultados obtidos com os de referência apresentados na Tabela 6, nota-se que as variedades norte-americanas apresentaram maior variação no teor lipídico, ou seja, 0,8% no Kidney bean a 2,6% no Yellow bean. Já a concentração lipídica encontrada nas tabelas de referência nacionais foi menor (1,0-1,6%) nas variedades de feijão Carioca, preto e branco. As leguminosas em geral possuem baixo teor lipídico, com exceção da soja e do amendoim cujos teores superam os 20%.

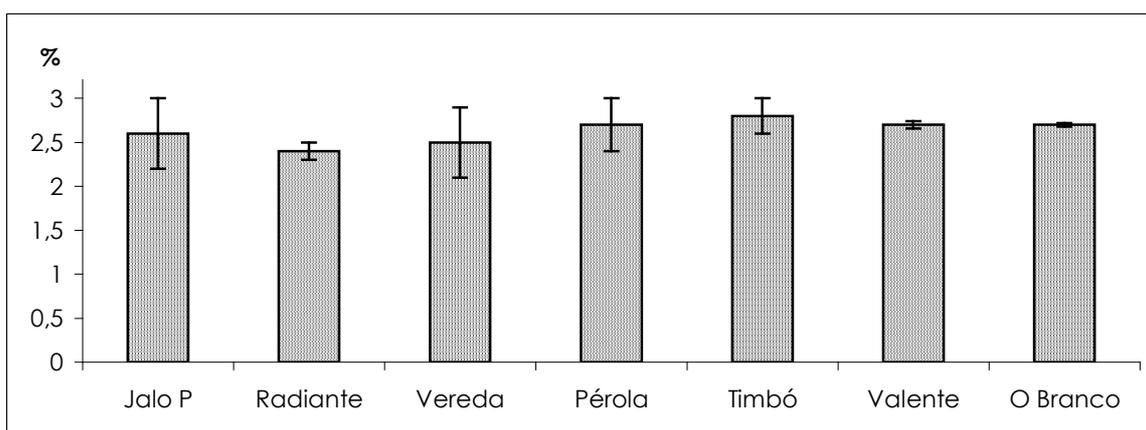


FIGURA 4. Teores médios (%) de lipídios totais das cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*) in natura.

Bejarano-Lujan & Costa (2004) encontraram um teor lipídico um pouco menor nas cultivares nacionais, ou seja, 1,31, 1,66 e 1,34% nas variedades de feijão Ouro Branco, Diamate Negro e Talismã, respectivamente. Moraes e Angelucci (1971) obtiveram um teor médio de 1,12%, com variações entre 0,35% na cultivar Roxão e 1,99% na cultivar Roxinho, pelo método de extração de Weibull Stoldt.

Koehler e cols. (1987) obtiveram teor médio de 1,6%, com variações de 1,7 a 2,1% nas variedades de feijão Small White, 1,7-2,0% nas variedades Navy, 1,3-1,7% nas

variedades Great Northern, 1,4-1,5% nas variedades Red Kidney, 1,2-1,5% nas variedades Pink, 1,3-1,5% nas variedades Red Mexican, 1,2-2,8% nas variedades Pinto e 1,6% na Black Turtle Soup, de acordo com o método de extração proposto pela AOAC (procedimento n. 7.003, 1980).

Teor de carboidratos totais

Geralmente na literatura a quantificação do teor de carboidratos totais (incluindo a porção fibra alimentar) é obtida por diferença, pela fórmula: $100 - (\text{umidade} + \text{proteína bruta} + \text{lipídeos totais} + \text{cinzas})$. Os resultados apresentados na Figura 5 indicam diferença significativa entre as médias que variaram de 55,4% (Radiante) a 62% (Valente). Além disso, estes resultados estão de acordo com a literatura de referência (Tabela 6).

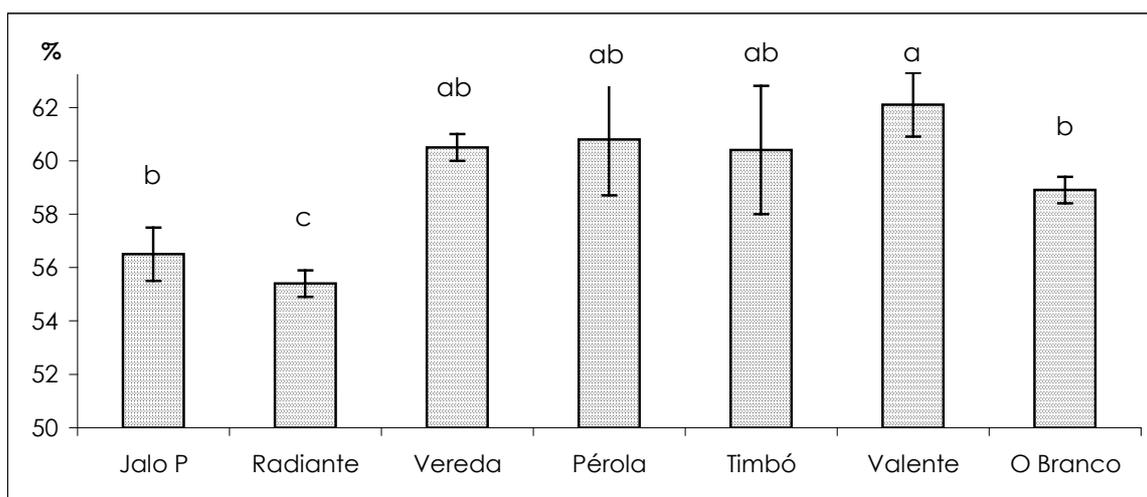


FIGURA 5. Teores médios (%) de carboidratos totais das cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*) in natura, obtidos por diferença.

Os valores de carboidratos totais para as cultivares norte-americanas (Tabela 6) apresentaram variação entre 57,8% no Pinto bean e 64,2% no Pink bean. Valores semelhantes foram encontrados por Meiners e cols. (1976a), Costa de Oliveira e cols. (2001), Marzo e cols. (2002) e Helbig e cols. (2003). Contudo, Martín-Cabrejas e cols. (1997) encontraram nas variedades de feijão canadense Mwitmania, Canadian Wonder, Mwezi Moja, Rose Coco e no Red Haricot, teores maiores de carboidratos totais que variaram de 68 a 70%, superando os valores de referência da Tabela 6.

Teor de cinzas e minerais

O teor de cinzas (Figura 6) variou de 3,5% na cultivar Ouro Branco a 4,1% na cultivar BRS Valente. Entretanto, a análise de variância não mostrou diferenças estatísticas significativas entre a comparação das médias. Teores semelhantes de cinzas foram encontrados por Moraes & Angelucci (1971) em doze variedades nacionais de feijão (*P. vulgaris*), com variações de 3,2% na cultivar Jalo a 4,04% na cultivar Roxinho. Também por Bejarano-Luján & Costa (2004) que obtiveram teor de 3,6% na cultivar Ouro Branco, 4,01% na cultivar Diamante Negro e 3,7% na cultivar Talismã. Estes resultados estão de acordo com os valores de referência apresentados na Tabela 6. Porém, Yañes e cols. (1995), em variedades chilenas de feijão-comum, encontraram variações de cinzas entre 3,8% na cultivar Fleetwood e 5,1% na Tortola INIA.

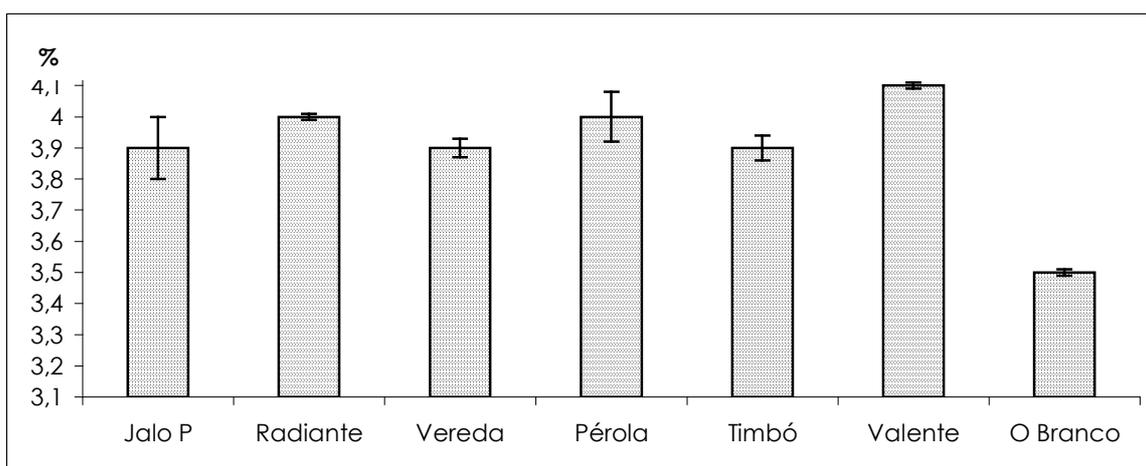


FIGURA 6. Teores médios (%) de cinzas totais das cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*) in natura.

Na tabela 10 são apresentados os valores médios de Ca, Mg, Fe, Zn e Cu quantificados nas sete novas cultivares de feijão. De acordo com a análise de variância não existem diferenças estatisticamente significativas com relação aos teores de Mg, Fe e Zn entre as variedades de feijão. Porém, o cálcio e o cobre apresentaram diferença estatística significativa ($P < 0,0001$).

Dentre as cultivares (Tabela 10), a Radiante apresentou o menor teor de cálcio, ou seja, 201,4mg/100g e a Pérola o maior teor, 486,8mg/100g. O teor médio de cobre variou

de 0,5mg/100g, cultivar Ouro Branco, a 0,9mg/100g, cultivar Radiante. O magnésio variou de 90mg na cultivar Vereda a 128mg no Jalo Precoce. O teor médio de ferro foi de 5,2mg/100g sendo que este mineral apresentou uma variação de 4,7mg na cultivar Ouro Branco a 5,5mg nas cultivares Vereda e Valente. O teor médio de zinco foi de 2,7mg/100g com variação de 2,4mg nas cultivares Pérola e Ouro Branco a 3,1mg, na cultivar Jalo Precoce.

TABELA 10. Composição mineral (mg/100g)* das cultivares de feijão (*P. vulgaris*) *in natura* desenvolvidas pela Embrapa/CNPAF.

Cultivar	Ca (mg/100g)	Mg (mg/100g)	Fe (mg/100g)	Cu (mg/100g)	Zn (mg/100g)
Jalo Precoce	238,2 ± 19cd	128,9 ± 13a	5,3 ± 0,4a	0,8 ± 0,07ab	3,1 ± 0,6a
Radiante	201,4 ± 11d	112,0 ± 23a	5,3 ± 0,2a	0,9 ± 0,02ab	2,9 ± 0,1a
Vereda	428,2 ± 14ab	90,0 ± 30a	5,5 ± 0,1a	0,6 ± 0,03bc	2,8 ± 0,4a
Pérola	486,8 ± 65a	123,3 ± 21a	5,2 ± 0,5a	0,8 ± 0,06ab	2,4 ± 0,2a
Timbó	279,1 ± 60c	104,7 ± 16a	5,1 ± 1a	0,8 ± 0,2ab	2,6 ± 0,8a
Valente	386,9 ± 20b	117,1 ± 8a	5,5 ± 0,2a	0,7 ± 0,03b	2,7 ± 0,1a
Ouro Branco	276,4 ± 12c	105,1 ± 31a	4,7 ± 0,2a	0,5 ± 0,04c	2,4 ± 0,1a
Média/DP	330,7 ± 105	111,6 ± 13	5,2 ± 0,3	0,71 ± 0,1	2,7 ± 0,3

*Dados apresentados em base seca (média ± desvio-padrão, no mínimo n=3)/ letras diferentes na mesma coluna apresentaram diferenças estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

Moraes & Angelucci (1971) quantificaram os teores de cálcio, magnésio e ferro em doze cultivares brasileiras de feijão, cujos teores médios (mg/100g base seca) encontrados foram relativamente menores que os apresentados na Tabela 10, ou seja, 42,6mg de Ca, 209mg de Mg e 3,55mg de ferro. Já as cultivares de feijão (*P. vulgaris*) de Burundi, apresentaram uma concentração mineral menor da apresentada por aqueles autores para magnésio e ferro, ou seja, 32 e 7,6mg/100g amostra, sendo que o teor de cálcio foi similar, em torno de 55,2mg/100g em base seca (BARAMPAMA & SIMARD, 1993).

Na Tabela 11 estão apresentados os teores médios de minerais das tabelas de referência. A concentração média para cálcio apresentada na tabela da USDA foi de 142mg/100g, com variações de 107mg no feijão Pinto a 173mg no White Bean. Já, nas tabelas nacionais, os teores de cálcio foram menores, com variações de 68mg a 123mg. Comparando estes valores com os resultados apresentados na Tabela 10, verifica-se que

as cultivares desenvolvidas pela EMBRAPA/CNPAP apresentam teores de cálcio superiores, em torno de 52 a 74%, com relação aos valores referendados nas tabelas nacionais e também norte-americana.

Os teores médios de magnésio apresentados nos diversos feijões norte-americanos (USDA, Rel. 18) foram similares aos apresentados pela TACO (2006) e por Philippi (2002), com variações de 140mg/100g (Kidney bean) a 222mg/100g (Yellow bean) como pode ser observado na Tabela 11. Além disso, os valores de referência foram superiores aos teores médios de magnésio encontrados nas sete variedades estudadas (Tabela 10).

TABELA 11. Teores de minerais (mg/100g) de referência para cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*).

Tabela de Composição	<i>P. vulgaris</i>	Cálcio mg/100g	Magnésio mg/100g	Ferro mg/100g	Cobre mg/100g	Zinco mg/100g
USDA,/REL18 ¹	Kidney bean	143	140	8,2	1	2,8
	Black bean	123	171	5	0,8	3,7
	Pinto bean	107	176	5,2	0,8	2,6
	Navy bean	155	173	6,4	0,9	2,5
	White bean	173	183	7,7	0,6	2,8
	Yellow bean	166	222	7	0,6	2,8
	Pink bean	130	182	6,8	0,8	2,6
TACO ²	Feijão Carioca	123	210	8	0,79	2,9
	Feijão fradinho	78	178	5,1	0,7	3,9
	Feijão jalo	98	170	7	0,95	3
	Feijão preto	111	188	6,5	0,83	2,9
	Feijão rajado	111	170	18,6	0,84	2,6
	Feijão rosinha	68	184	5,3	0,6	4
	Feijão roxo	120	162	6,9	1,04	3,3
ENDEF ³	Feijão	86	nd	7,6	nd	nd
Philippi ⁴	Feijão	83	138	6,7	0,7	2,8
	Feijão tipo 1	86	nd	7,6	nd	nd
	Feijão branco	173	183	7,7	0,6	2,8

1. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 18

2. Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos – TACO – NEPA/UNICAMP (2004)

3. Tabela de Composição dos Alimentos – Estudo Nacional de Despesa Familiar/IBGE (1999)

4. PHILIPPI, S. T. Tabela de Composição dos Alimentos: suporte para decisão nutricional 2ª. ed., Ed. Coronário 2002. nd = não determinado

Com relação aos teores médios de ferro (Tabela 11), os valores de referência das tabelas USDA (Rel 18), Philippi (2002) e ENDEF (1999) são muito próximos, com variações de 5 a 8mg/100g. Porém, nos feijões apresentados na tabela publicada pelo NEPA/UNICAMP (TACO, 2006), os teores de ferro são maiores, ou seja, de 5,1 a 18,6mg/100g para os feijões fradinho e rajado, respectivamente. Já os teores médios de ferro das cultivares de feijão (Tabela 10) foram menores, variando de 4,7mg/100g (Ouro Branco) a 5,5mg/100g (Valente e Vereda).

Os teores médios de cobre das cultivares de feijão (Tabela 10) variaram de 0,5mg/100g (Ouro Branco) a 0,9mg/100g (Radiante), não diferindo dos valores médios de referência apresentados na Tabela 11. Com relação ao zinco (Tabela 10), os teores médios foram iguais a 2,7mg/100g e são relativamente menores que os valores de referência (Tabela 11).

Meiners e cols. (1976b) estudaram a composição mineral de quatro variedades de feijão (*P. vulgaris*) norte-americanas e obtiveram valores muito semelhantes aos referendados na tabela do USDA (Tabela 11), ou seja, 142mg de cálcio, 159mg de magnésio, 6,7mg de ferro, 0,75mg de cobre e 2,26mg de zinco. Também analisaram outros minerais como manganês (1,4mg), fósforo (450mg), potássio (1090mg) e sódio (2,6mg). Estes resultados vão ao encontro aos apresentados por Koehler e cols. (1987).

Como todos os vegetais superiores, as leguminosas possuem a capacidade de sintetizar substâncias orgânicas, na forma de moléculas complexas, a partir de compostos inorgânicos simples, porém imprescindíveis para proporcionar o crescimento e a reprodução das mesmas (GRUSAK & DELLAPENNA, 1999). Dezesesseis elementos são conhecidos como nutrientes essenciais para as plantas. Desses, o carbono, o oxigênio e o hidrogênio são obtidos do ar e da água. Os demais são retirados do solo e classificados em três grupos: macronutrientes primários (P, N e K), macronutrientes secundários (S, Ca e Mg) e micronutrientes (Fe, Zn, Cu, Mn, B, Mo e Cl), de acordo com a quantidade requerida pela planta (VIEIRA e cols. 1998). Para que um determinado mineral possa ser absorvido pela planta e depositado nos diversos tecidos incluindo as sementes, é necessário que este elemento seja reconhecido pelas membranas transportadoras (específicas ou não) localizadas no córtice da raiz. Após a absorção, seguirá em direção às organelas vegetais por meio do sistema xilema do parênquima celular do caule na

forma quelada ou solubilizada, envolvendo também a via floema para armazenamento temporário nos tecidos folhosos e nas sementes (GRUSAK & DELLAPENNA, 1999).

A habilidade da planta em aumentar o teor de um determinado nutriente sempre dependerá da composição do solo, da disponibilidade deste nutriente no meio-ambiente e do gasto energético adicional que esta alteração provocará (GRUSAK, 2002). Assim, a planta poderá impor que qualquer aumento na concentração mineral seja praticável em nível de "µg" do que em "mg", o que se refletirá mais drasticamente na concentração de micronutrientes e macronutrientes secundários cujas quantidades requeridas são menores. Entretanto, o acúmulo excessivo de alguns minerais com atividade óxido-redutora poderá ser prejudicial para a planta o que implicará na utilização de mecanismos enzimáticos reguladores (superóxido dismutase e catalases), que assegurarão adequadas quantidades de elementos minerais diminuindo o risco de toxicidade (GRUSAK & DELLAPENNA, 1999).

Wang e cols. (2003) afirmam que o aumento da concentração de Ca, Mg, P e K pode não causar danos nas sementes nem nas plantas, porém alguns cuidados devem ser tomados com relação à manipulação de micronutrientes como o Fe, Zn, Mn e Cu, pois efeitos negativos na viabilidade das sementes são consequência da atividade de metais óxido-redutores se estes não são apropriadamente seqüestrados. Também ressaltam que se houver um aumento na atividade seletiva dos transportadores de minerais, localizados nas células radiculares, pode ocorrer aumento involuntário da absorção de metais tóxicos para o homem como o Cd e o Ni. Com base nestas observações, pesquisadores têm identificado linhagens de leguminosas que apresentam em suas sementes altos ou baixos níveis de minerais, principalmente Fe e Zn, de acordo com o seu genótipo e assim possibilitar uma compreensão melhor sobre os mecanismos fisiológicos reguladores envolvidos, considerando que o aumento de um dado elemento pode influenciar a concentração de outro (BEEBE, e cols. 2000; WELCH e cols. 2000).

CONCLUSÃO

Pelo exposto, conclui-se que as novas variedades de feijão desenvolvidas pela EMBRAPA/CNPAF possuem alto potencial nutritivo, tanto protéico como mineral, mesmo

que os teores de alguns minerais como Mg e Fe tenham sido menores que os valores de referência. Além disso, pode-se concluir que:

- Embora todas as variedades pertençam à mesma espécie *P. vulgaris*, as cultivares Timbó, Jalo Precoce, Pérola, Valente e Ouro Branco se destacaram mais que as outras no aspecto de concentração de nutrientes, apesar de que todas foram submetidas às mesmas condições de cultivo, colheita e armazenamento;

- As cultivares Radiante, Jalo Precoce, e Ouro Branco apresentaram os maiores teores de proteína, 28, 27 e 25% respectivamente. Seguidas das cultivares Timbó (24%), Pérola (23%), Vereda (22%) e Valente (21%). Tais concentrações destacam o potencial destas variedades de feijão como fonte protéica;

- Todas as cultivares são limitantes em aminoácidos sulfurados. Com relação a treonina apenas duas cultivares atingiram o requerimento: o feijão Vereda e Ouro Branco. Outro aminoácido limitante para três cultivares foi a lisina, com *déficit* de 4 a 10% para os feijões Jalo Precoce, Radiante e Vereda. Já para os demais aminoácidos essenciais, os valores encontrados nas sete cultivares ultrapassaram o requerimento, em mais de 100%;

- O teor médio de lipídios encontrado nas variedades de feijão foi relativamente maior ao referenciado nas tabelas de composição dos alimentos, ou seja, 2,6%. Já o teor de carboidratos totais apresentou diferenças significativas entre as amostras analisadas, porém estão de acordo com os teores médios de referência;

- O teor médio de cálcio encontrado nas cultivares de leguminosas foram superiores aos valores médios de referência citados nas tabelas nacionais e norte-americana, principalmente nas cultivares: Ouro Branco (276,4mg/100g), Valente (386,9mg/100g), Vereda (428,2mg/100g) e Pérola (486,8mg/100g). Com relação aos teores de magnésio e ferro, os valores encontrados nas variedades de feijão foram relativamente menores que os valores de referência. Contudo, os teores de cobre e zinco foram similares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. A. **Procedimento operacional padrão para operação do espectrofotômetro de absorção atômica (GBC AA 932)**. Centro de Assistência Toxicológica (CEATOX), Universidade Estadual Paulista UNESP, Botucatu. 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. **Official methods of analysis**. 12. ed. Washington, 1984.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. **Official methods of analysis**. 15. ed. Washington, 1990. 2v.

BARAMPAMA, Z. & SIMARD, R. E. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) grown in Burundi. **Food Chem.** v. 47, p. 159-167, 1993.

BEEBE, S.; GONZALEZ, A. V.; RENGIFO, J. Research on trace element minerals in the common bean. **Food Nutr. Bull.** v. 21, p. 387-391, 2000.

BEJARANO-LUJÁN, D. L. & COSTA, N. M. B. **Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade protéica, na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos**. 2004. 108p. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição), Universidade Federal de Viçosa.

BLIGH, E. G. & DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian J. Biochem. Physiol.** v.37, p.911-917, 1959.

BUNCH, H. D. Temperature, relative humidity factors in maintaining store seed viability. **Seedsmen's Digest**, oct., 1959.

CARBONARO, M., et al. Solubility-digestibility relationship of legume proteins. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p. 3387-3394, 1997.

CARNEIRO, G. E. S. **Avaliação de linhagens de feijoeiro comum visando indicação de cultivares para as regiões produtoras brasileiras**. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/programa/400067htm>> Acesso em 11 de setembro de 2003.

COELHO, R. G. Considerações sobre as proteínas de feijão. **Rev. Nutr.** v.4 (1/2), p. 122-145, jan./dez., 1991.

COSTA DE OLIVEIRA, A. et al. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais, fitatos e taninos, no teor de amido resistente e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Arch. Latinoam. Nutr.** v. 5, n. 3, p. 276-283, 2001.

DIDONET, A. D. **Acúmulo de biomassa, nitrogênio e temperatura na definição do rendimento de grãos do feijão**. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/programa/401074.htm>> Acesso em 11 de setembro de 2003.

ELKIM, R. G. & WASYNESUK, A. M. Amino acid analysis of feedstuff hydrolysates by precolumn derivatization with phenylisothiocyanate and reversed – phase high performance liquid chromatography. **Cereal Chem.** v. 64, n. 4, p. 226-229, 1987.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Cultivares de feijoeiros. Disponível** em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/feijao/htm>> Acesso em 11 de setembro de 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema de produção de feijoeiros.** In: _____. A cultura do feijoeiro. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/feijao.htm>> Acesso em 11 de setembro de 2003.

ENDEF. ESTUDO NACIONAL DA DESPENSA FAMILIAR - ENDEF. **Tabela de composição dos alimentos.** 5. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1999. 137p.

FOOD NUTRITION BOARD/ INSTITUTE OF MEDICINE - FNB/IOM. **Dietary reference intakes for energy, carbohydrates, fiber, fat, protein and amino acids (macronutrients),** 936p. Disponível em www.nap.edu, acessado em 2003.

GRUSAK, M. A. & DELLAPENNA, D. Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health. **Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 50, p. 133-161, 1999.

GRUSAK M. A. Enhancing mineral content in plant food products. **J. Am. Coll. Nutr.** v. 21, p. 178S-183S, 2002.

HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of aminoacids in foods. **J. Assoc. Anal. Chem.** v. 2, n. 06, 1989.

HELBIG, E. et al. Effect of soaking prior to cooking on the levels of phytate and tannin of the common bean (*Phaseolus vulgaris*, L) and the protein value. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** v. 49, p. 81-86, 2003.

KOEHLER, H. H. et al. Nutrient composition, protein quality, and sensory properties of thirty-six cultivars of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Food Sci.** v. 52, n. 5, p. 1335-1340, 1987.

MARTIN-CABREJAS, M. A. et al. Changes in physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) during long-term storage. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p. 3223-3227, 1997.

MARZO, F. et al. Nutritional quality of extruded kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pinto) and its effects on growth and skeletal muscle nitrogen fractions in rat. **J. Anim. Sci.** v. 80, p. 875-879, 2002.

MEINERS, C. R., et al. Proximate composition and yield of raw and cooked mature dry legumes. **J. Agric. Food Chem.** v. 24, n. 6, p. 1122-1125, 1976a.

MEINERS, C. R., et al. The content of nine minerals elements in raw and cooked mature dry legumes. **J. Agric. Food Chem.** v. 24, n. 6, p. 1126-1130, 1976b.

MORAES, R. M. & ANGELUCCI, E. Chemical composition and amino acid contents of brazilian beans (*Phaseolus vulgaris*). **J. Food Sci.** v. 36, p. 493-494, 1971.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 163-168. 2001.

OSBORN, T. C. Genetic control of bean seed protein. **Agron. J.** v. 7, p. 93-116, 1988.

PELOSO, M. J. **Genética e melhoramento do feijoeiro comum**. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/htm>> Acesso em 11 de setembro de 2003.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de composição dos alimentos: suporte para decisão nutricional**. São Paulo: Coronário, 2002.

RAMALHO, M. A. P. & ABREU, A. F. B. Cultivares. In: VIEIRA, C; de PAULA Jr, T.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Editora UFV, Viçosa, 1998. p. 436-449.

RIOS, A. O.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D. Efeito da estocagem e das condições de colheita sobre algumas propriedades físicas, químicas e nutricionais de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Ciênc. Tecnol. Alim.** v. 23 (Supl), p. 39-45, 2003.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*. A review. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **CRC Critical Rev. Food Sci. Nutr.** v. 21, n. 1, p. 41-93, 1984.

SATHE, S. K. Dry bean protein functionality. **Critical Rev. Biotechnol.** vol. 22, n. 2, p. 175-223, 2002.

SANTOS, J. B. & GAVILANES, M. L. Botânica. In: VIEIRA, C; de PAULA Jr, T.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**, Editora UFV, Viçosa, 1998. p. 56-81.

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento**. São Paulo. UNICAMP, ALMED, p. 260, 380-381. 1987.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo. Varela, p. 205-229. 1996.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos – métodos químicos e biológicos**. Viçosa. Ed. UFV, 2. ed. p. 1-18. 1990.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DOS ALIMENTOS (TACO) NEPA/UNICAMP - versão II, 2. ed. Campinas, SP: NEPA/UNICAMP, 2006, 113p. Disponível: www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.

TORRES, E. A. F. S. et al. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciênc. Tecnol. Alim.** v.20, n. 2, maio/ago. 2000.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **National nutrient database for standard reference**, Release 18.

WANG, T. L. et al. Can we improve the nutritional quality of legume seeds? **Plant Physiol.** v. 131, p. 886-891, 2003.

WEDER J.K. et al. Antinutritional factors in anasazi and other pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Food Hum. Nutr.** v.51, n.2, p.85-98, 1997.

WELCH, R. M. et al. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **J. Agric. Food. Chem.** v.48, p. 3576-3580, 2000.

WILLIAMS, P. C. The use of titanium dioxide as a catalyst for large scale Kjeldahl determination of the total nitrogen content of cereal grains. **J. Sci. Food Agric.** v. 24, p. 343-48, 1973.

WHITE, J. A. & KRY, J. C. An evaluation of the Waters pico-tag system for the amino acid analysis of food material. **J. Clin. Lab. Autom.** v. 8, 1986.

YAÑES, E. et al. Nutritive value evaluated on rats of new cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris*) released in Chile. **Plant Food Hum. Nutr.** v. 47, p. 301-307, 1995.

CAPÍTULO II

BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO, MAGNÉSIO, COBRE E ZINCO EM NOVAS VARIEDADES DE FEIJÃO-COMUM (*Phaseolus vulgaris*), OBTIDAS POR MELHORAMENTO GENÉTICO CONVENCIONAL, COMPARADAS COM A SOJA (*Glycine max*)

CALCIUM, MAGNESIUM, COPPER AND ZINC BIOAVAILABILITY IN NEW VARIETIES OF COMMON-BEAN (*Phaseolus vulgaris*), OBTAINED BY CONVENTIONAL GENETIC IMPROVEMENT, AS COMPARED TO SOYBEAN (*Glycine max*)

RESUMO

Três novas cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*) foram selecionadas, pelo seu conteúdo de nutrientes, para avaliação da biodisponibilidade mineral e comparar com um cultivar clássico de soja (*Glycine Max*), var. Conquista. As três cultivares foram: feijão branco "Ouro Branco", feijão preto "Valente" e Carioca "Pérola" e os minerais testados foram os previamente estudados: cálcio, magnésio, cobre e zinco. O balanço metabólico, coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e a taxa de retenção e absorção (R/A) para estes minerais foram os parâmetros determinados, usando ratos Wistars recém-desmamados. Os animais receberam por doze dias dietas contendo exclusivamente os feijões cozidos ou farinha integral de soja tostada. Os níveis de fitatos foram determinados pelo método colorimétrico de Latta & Eskin e os minerais por absorção atômica nas dietas, fezes, urina e fêmur. Além disso e com o objetivo de avaliar o impacto das dietas no crescimento do osso cortical das tíbias, foram feitas medidas histomorfométricas da altura e espessura da cartilagem. Os resultados mostraram que as dietas à base de leguminosas diferiram estatisticamente uma das outras em termos de cálcio (275-480mg/100g), magnésio (108-262mg/100g), cobre (0,5-1,06mg/100g) e zinco (2,4-5,0mg/100g), e que as dietas à base de feijão Carioca "Pérola" e feijão preto "Valente", bem como a soja foram as que maior conteúdo mineral apresentaram. As dietas à base de feijão mostraram baixos teores de fitatos (3,1-3,9mg/g), especialmente com relação à soja (6,5mg/g). A análise estatística do balanço mineral detectou diferenças significativas entre os índices biológicos obtidos para os tratamentos de feijão e soja. As dietas "Valente" e "Pérola" mostraram alto balanço de cálcio (22-25mg/d), em comparação com as dietas "Ouro Branco" (12,8mg/d) e soja (14,4mg/d). A taxa de retenção e absorção (R/A), entretanto, foi maior para a dieta soja (99,0%), seguida pela dieta "Valente" (96,7%). Com relação ao CDA para cálcio, a dieta "Pérola" se destacou (92,5%) entre todos os tratamentos à base de leguminosas e Controle (AIN-93G). Os índices de avaliação revelaram que a soja teve maior balanço de magnésio (4,7mg/d) entre todas as dietas à base de feijão, entretanto o CDA foi melhor para a dieta "Pérola" (82%), apesar da taxa R/A ter sido melhor para "Valente" (7,1%) e soja (6,8%), enquanto que "Ouro Branco" e Controle (AIN-93G) tiveram índices negativos (valores de balanço e R/A). Com relação ao cobre, todas as dietas à base de leguminosas tiveram resultados negativos de balanço e CDA, de maneira similar ao que foi observado para o zinco. A dieta à base de soja, entretanto, mostrou balanço e CDA positivos para cobre e zinco. Por outro lado,

somente a dieta Controle teve resposta positiva no teste de balanço de zinco, apesar da taxa de R/A para as dietas "Ouro Branco" e "Pérola" ter sido alta. Juntando estes dados, os índices sugerem que a biodisponibilidade de cálcio e magnésio não foi afetada pelos fitatos presentes nestas fontes alimentares, porém, para o zinco e o cobre este efeito foi evidente. As medidas histomorfométricas, entretanto, não detectaram nenhuma diferença entre os diversos tratamentos à base de feijão e soja. Além disso, pode ser concluído que a baixa ingestão de cálcio dos grupos alimentados com leguminosas, acarretou alterações no sistema esquelético, tais como alta redução do platô da cartilagem de crescimento e na espessura do osso em si, mesmo que a retenção de cálcio no fêmur dos animais tratados com as dietas "Pérola" e soja tenham sido significativa.

Palavras-chave: biodisponibilidade de minerais, feijão-comum, soja, composição de nutrientes, crescimento ósseo, histomorfometria.

ABSTRACT

Three new Brazilian dry bean (*P. vulgaris*) cultivars obtained by conventional genetic improvement were selected because of their nutrient content for mineral bioavailability evaluation, and compared with the classical soybean (*Glycine max*) cultivar Conquista. The three cultivars were the white bean "Ouro Branco", a black bean "Valente" and the Carioca type "Pérola" and the minerals tested were the least commonly studied: calcium, magnesium, copper and zinc. The metabolic balance, apparent digestibility coefficient (ADC) and the ratio of retention to absorption (R/A) for these minerals were the parameters determined using young Wistar rats. The animals received for twelve days diets consisting exclusively of the cooked beans or the roasted soybean flour. The phytate levels of the diets were determined by the colorimetric method of Latta & Eskin and the minerals by atomic absorption in the diets, feces, urine and femur. Additionally and in order to evaluate the impact of the diets on the cortical bone growth of the tibias, histomorphometric measurements of the height and thickness of the cartilage were made. The results showed that the legume-based diets statistically differed from each other in terms of calcium (275 – 480 mg/100g), magnesium (108 – 262 mg/100g), copper (0.50 – 1.06 mg/100g) and zinc (2.4 – 5.0mg/100g), and that the diets made up of the Carioca "Pérola" and the Black "Valente", as well as soy bean were those with the highest mineral contents. The dry bean diets exhibited low concentrations of phytates (3.1 – 3.9mg/g), especially with respect to the soybean (6.5mg/g). Statistical analysis of the mineral balance detected significant differences between the biological indices obtained by the dry-bean and the soybean treatments. The dry bean diets "Valente" and "Pérola" exhibited higher balance for calcium (22 – 25mg/d), in comparison to "Ouro Branco" (12.8mg/d) and the soybean (14.4mg/d) diets. The ratio of retention to absorption (R/A), however, was greatest for the soybean (99.0%), followed by the "Valente" (96.7%) diet. With regard to the ADC for calcium, in turn, the "Pérola" ranked first (92.5%) among all treatments and the Control. The evaluation indices revealed that the soybean had the highest magnesium balance (4.7mg/d) among all the dry bean diets, whereas the ADC was best for the "Pérola" (82%) diet, although the R/A ratios were better for the "Valente" (7.1%) and soybean (6.8%), while the "Ouro Branco" and Control gave negative indices (balance and R/A values). With regard to copper, all the dry bean diets gave negative balance and ADC indices, something similar to what was observed for zinc. The soy bean diet,

however, showed positive balance and ADCs for both copper and zinc. On the other hand, only the Control diet gave a positive response in the balance test for zinc, although the R/A ratios of the "Ouro Branco" and "Pérola" diets were the highest. Taken together, these indices suggest that the little studied calcium and magnesium bioavailability from dry beans is not affected by the phytates present in this staple food, but a suppressive effect on zinc and copper was clear. Histomorphometric measurements, however, did not detect any differences between the various dry bean treatments or the soybean. In addition, it could be concluded that the low calcium intake by dry bean-fed groups had profound consequences to the skeleton system of the animals, such as the height reduction of the cartilaginous grow plates and the thickness of the bone itself, in spite of the femur calcium retention having been significant in the "Pérola" and soybean diets.

Keywords: mineral bioavailability, Common beans, Soybean, nutrient composition, bone growth, histomorphometry.

INTRODUÇÃO

A constante demanda por alimentos de baixo custo, valor nutricional e qualidade sensorial, contribui anualmente para a seleção de cultivares com alta produtividade, resistência a doenças e valores nutricionais diferenciados, obtidos por melhoramento genético por meio de cruzamento e seleção entre indivíduos, os quais são escolhidos como parentais, pois apresentam características que se desejam combinar, contudo, sem negligenciar os fatores de interferência ambiental. Segundo Canniatti-Brazaca e cols. (1992), para a obtenção de novos cultivares, podem ser utilizadas várias técnicas como os cruzamentos para introdução e a recombinação de genes, seguidos de seleção de indivíduos, progênies e populações melhoradas, estudos de mutantes, naturais ou provocados, que manifestam características positivas para determinada propriedade, introdução de genes utilizando as técnicas altamente especializadas da engenharia genética ou DNA recombinante e cultura de tecidos, esta última usada principalmente para vegetais.

Neste contexto, o Brasil tem se destacado com o aprimoramento e desenvolvimento de diversos cultivares de leguminosas, principalmente de feijão e soja, que nos últimos anos representaram 3.812 mil e 23.301 mil hectares de área plantada, respectivamente (CONAB, 2005), apresentando variedades diferentes na mesma espécie com diferentes valores tecnológicos, caracterizados pelo sabor, odor, textura, funcionalidade, facilidade de estocagem e também pela hidratação e cozimento e/ou processamento (facilidade de preparo).

O Centro Nacional de Pesquisa de Soja da Embrapa (CNPSO-EMBRAPA), localizado no Estado do Paraná, já desenvolveu e recomendou mais de 120 cultivares de soja, adaptados aos diferentes ecossistemas brasileiros, os quais foram desenvolvidos em parcerias com instituições de pesquisa públicas e privadas que deram ao Brasil a liderança no desenvolvimento de tecnologias para regiões tropicais, fazendo com que o país se destacasse em 2003 como segundo maior produtor mundial, com uma produção anual de aproximadamente 43 milhões de toneladas. Apesar desta alta produtividade não existem dados oficiais de consumo *per capita* interno destes grãos na alimentação brasileira, uma vez que, do total de grãos produzidos, cerca de 72%, são transformados em farelo, principal componente protéico de rações para suínos e aves. Outros, ainda, destinam-se à indústria de alimentos como ingredientes e também na obtenção de seus derivados como isolados e concentrados protéicos. Além do uso comestível, o óleo e a lecitina de soja são utilizados em diversos segmentos da indústria química visando aplicações de uso técnico (EMBRAPA/CNPSO, 2003).

Com relação à cultura do feijão, a qualidade alimentar entre genótipos de feijões (*P. vulgaris* L) adaptados tropicalmente e seus antecessores domesticamente melhorados, observou-se variabilidade genética no valor nutricional e nas propriedades de enlatamento entre feijões tropicais, justificando seu uso em programas de melhoramento em clima temperado (EGGUM e cols. 1985). Por outro lado, no início da década de 1990, o interesse pela cultura de soja tinha por objetivo a melhoria da palatibilidade pela eliminação do seu sabor característico, que resultava da ação das lipoxigenases sobre os ácidos graxos não-saturados (LAM-SANCHÉS, 1990).

Atualmente, verifica-se preocupação com a qualidade nutricional e sensorial do alimento, principalmente quanto aos teores de proteínas, vitaminas, minerais, redução das substâncias antinutricionais, aspecto físico de dureza, tempo de cocção, além da aparência e outros fatores que possam afetar as características do alimento. Por outro lado, a composição nutricional de um alimento não reflete necessariamente a verdadeira utilização destes nutrientes pelo organismo. Fatores extrínsecos e intrínsecos devem ser considerados como possíveis interferentes (COELHO & DOMENE, 2004).

Com intuito de promover estratégias contra a desnutrição e carências nutricionais de ferro e zinco na população de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, alguns pesquisadores identificaram linhagens de cultivares de feijão (*P. vulgaris*) com alto

potencial de absorção e retenção mineral. Para Grusak & Dellapenna (1999) a concentração de um ou mais elementos minerais pelas plantas e conseqüentemente pelas sementes é influenciada por fatores relacionados com o genótipo e a idade da planta. Porém, Borket & Lantmann (1988) mencionam também os fatores ambientais como: concentração mineral no solo e na água de irrigação, pH, compactação e aeração do solo os quais podem favorecer ou prejudicar a retenção mineral nas plantas e conseqüentemente nos grãos. Wang e cols. (2003) afirmam que um aumento na atividade seletiva dos transportadores de minerais, localizados nas células radiculares, pode também resultar em um aumento involuntário da absorção de metais tóxicos para o homem como cádmio e níquel.

Para avaliar a capacidade de retenção de ferro e zinco em feijão-comum (*P. vulgaris*), provenientes do banco de sementes do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) Colômbia, Welch e cols. (2000) submeteram vários tipos de feijões às mesmas condições de germinação e nutrição. Os resultados obtidos demonstraram que o ferro apresentou maior variação de concentração nas sementes, com teores de 51,6 a 156,9 $\mu\text{g g}^{-1}$. Já para o zinco, a variação foi de 30 a 62,5 $\mu\text{g g}^{-1}$. Outro estudo realizado por Beebe e cols. (2000) mostrou que variedades de feijões silvestres Mesoamericanos e Andinos continham mais ferro, cálcio, magnésio, manganês e fósforo em relação aos feijões cultivados, os quais somente apresentaram maiores teores de zinco e cobre superando as variedades silvestres em 50 e 20%, respectivamente. Porém, as variedades silvestres apresentam características agrônômicas indesejáveis que limitam seu uso em programas de melhoramento genético (BEEBE e cols. 2000).

No Brasil existe uma grande diversidade de cultivares de feijão (*P. vulgaris*) e soja (*Glycine max*), porém é escassa a informação sobre a composição nutricional da maioria destes grãos nas tabelas de composição dos alimentos disponíveis, o que dificulta o levantamento sobre ingestão de nutrientes nos inquéritos alimentares ou a recomendação de consumo de uma determinada cultivar cuja concentração nutricional seja interessante. Além disso, para se considerar um alimento como sendo fonte de algum nutriente é preciso avaliar a quantidade do nutriente presente na porção alimentar usualmente consumida e o fator biodisponibilidade, que está relacionada com a forma química da substância, do teor do nutriente no organismo e da presença de complexantes e outros nutrientes que podem interagir favorável ou desfavoravelmente com o nutriente em questão, tanto no trato intestinal quanto nas funções orgânicas

(COZZOLINO, 1997). Com relação aos minerais, sua biodisponibilidade pode ser freqüentemente afetada por interações com componentes dos alimentos no trato intestinal, por serem muito reativos. A natureza da ligação que tais componentes formam com os minerais e a solubilidade dos componentes formados determinarão se são estimulantes ou inibidores da absorção (FERREIRA e cols. 2001; COELHO & DOMENE, 2004).

As leguminosas são ricas em substâncias bioativas (MESSINA, 1999) que exercem também reconhecidos efeitos antinutricionais em minerais como cálcio, ferro e zinco (CARBONARO, 1997; URBANO e cols. 1999). Além das características de cada cultivar serem peculiares para cada variedade como a cor que influencia a presença dos taninos na casca do grão e exerce um reconhecido efeito sobre a baixa digestibilidade das proteínas (BEJARANO-LUJÁN & COSTA, 2004) e a concentração de ácido fítico que exerce um papel negativo sobre a biodisponibilidade de minerais (DOMENE e cols. 2001).

A importância da quantificação do ácido fítico em alimentos de origem vegetal, principalmente em leguminosas, se deve a sua capacidade de complexar proteínas carregadas positivamente e cátions inorgânicos em ampla faixa de pH (CHERYAN, 1980; REDDY e cols. 1984), o que torna vários minerais não disponíveis após passagem pelo trato digestório (van Dokkum, 2003). Domene e cols. (2001) citam alguns trabalhos que mostram a perda da solubilidade de cálcio e zinco após se complexarem com o ácido fítico em diferentes níveis de pH alcalino.

De acordo com Martinez-Domínguez e cols. (2002), a estrutura do ácido fítico faz dele um excelente agente quelante, apresentando grande afinidade por todos os elementos traço polivalentes e minerais como Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, Mg^{2+} e Ca^{2+} . Também estes autores afirmam que a maior parte dos estudos realizados sobre interações entre fitatos e minerais apontam a existência de uma relação inversa entre a absorção destes micronutrientes e a presença de ácido fítico, ainda que existam grandes diferenças no comportamento individual de cada elemento mineral e que os efeitos adversos do ácido fítico na biodisponibilidade de minerais depende de um grande número de fatores, como: concentração de fitatos e força de união com diferentes cátions; condições de processamento do alimento (especialmente pH); tipo de ácido fítico (adicionado ou endógeno) e a concentração de minerais no alimento; se o ácido fítico é ingerido na mesma refeição que a fonte mineral ou em refeições separadas; a concentração de proteínas da dieta e conseqüentemente a presença de proteínas,

peptídios ou aminoácidos no intestino que possam interferir na formação do complexo ácido fítico-mineral; a presença de outros agentes como fibra alimentar, ácido oxálico, ácido ascórbico, ácido cítrico ou taninos que possam competir com o ácido fítico na união com minerais, a presença de fitases de origem intestinal, bacteriana ou alimentar, assim como a inibição desta enzima e a adaptação metabólica do indivíduo a altos níveis de ácido fítico.

Com esta finalidade, o presente trabalho teve como proposta o estudo da biodisponibilidade de cálcio, magnésio, cobre e zinco na soja (*Glycine max*) e em novas cultivares de feijão-comum (*P. vulgaris*), desenvolvidas por melhoramento genético clássico pela EMBRAPA e selecionadas pelo seu alto conteúdo protéico e perfil mineral, e a relação com os fatores antinutricionais não-protéicos como os fitatos. Tais cultivares foram: cv. Ouro Branco (feijão branco), cv. Valente (feijão preto), cv. Pérola (feijão Carioca) e cv. Conquista (soja). Para isso, foram determinados os índices biológicos de balanço mineral, coeficiente de digestibilidade aparente, taxa de absorção e retenção, quociente de eficiência alimentar, além de estudos citoquímicos dos ossos (fêmur e tíbia) em ratos Wistar recém-desmamados, submetidos à dieta exclusiva à base de feijão e soja.

MATERIAL

Amostras

Foram utilizados 2kg de feijão branco (cv. Ouro Branco), 2kg de feijão preto (cv. Valente), 2kg de feijão Carioca (cv. Pérola) e 2kg de soja (cv. Conquista) da safra de 2003, provenientes do Centro Nacional de Pesquisa Arroz e Feijão (CNPAF), localizado no Estado de Goiás, e do Centro Nacional de Pesquisa de Soja (CNPSo), localizado no Estado do Paraná, ambos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). As sementes foram selecionadas pelo seu perfil nutricional e mantidas sob refrigeração (8°C) em saco plástico duplo (5kg) até o momento de realizar as operações de tratamento térmico e análises químicas.

Preparo das dietas experimentais

As leguminosas *in natura* foram inicialmente selecionadas, lavadas em água destilada para retirar as impurezas, secas à temperatura ambiente e pesadas. No caso

dos feijões foi utilizado, para cada cultivar, o processo de reidratação rápida (CRAWFORD, 1986). Procedeu-se a pesagem dos grãos hidratados e cozimento (calor úmido sob pressão/30-40 min) na mesma água de maceração, cujo volume final foi completado 1:3 v/v (grão:H₂O). Este tratamento visou a inativação dos componentes antinutricionais de origem protéica presente nas sementes.

Após o tratamento térmico, cada amostra foi homogeneizada junto com o caldo de cozimento, acondicionadas individualmente em bandejas de aço inoxidável para congelamento em freezer (-10°C), liofilizadas (Liofilizadores Terroni-Fauvel, São Carlos, SP) e homogeneizadas em micro-moinho Tecnal modelo TE0-48, com peneira de aço inox acoplada de abertura 30 "mesh".

Com relação à soja, os grãos foram submetidos à cocção por 5min após fervura, escorridos, lavados novamente em água destilada, secos em papel toalha por aproximadamente 1h à temperatura ambiente, torrados em forno doméstico (180°C/1h), esfriados, triturados em liquidificador doméstico, seguido de homogeneização em micro-moinho Tecnal modelo TE0-48, com peneira de aço inox acoplada de abertura 30 "mesh" (Tabela 1) (MANDARINO & CARRÃO-PANIZZI, 1999).

TABELA 1. Dietas experimentais à base exclusivamente de leguminosas.

Dieta	Tipo de Leguminosa
DB	Feijão branco cv. Ouro Branco
DP	Feijão preto cv. Valente
DM	Feijão Carioca cv. Pérola
DS	Soja cv. Conquista

As dietas foram embaladas em sacos plásticos, identificadas e mantidas sob refrigeração (8°C), até o momento de serem usadas. Todos os materiais que estiveram em contato direto com os animais ou dietas foram de aço inoxidável, vidro ou plástico para minimizar qualquer tipo de contaminação mineral e submetidos a descontaminação mediante lavagens com ácido nítrico (10%) e água deionizada (TORIN & AMAYA-FARFAN, 1996).

A dieta Controle (C) foi preparada de acordo com as especificações da AIN-93G (REEVES e cols. 1993), utilizando os seguintes ingredientes (Tabela 2):

TABELA 2. Composição da dieta Controle segundo a AIN-93G.

Ingredientes	Quantidade (g/kg dieta)
Caseína	200
Amido de milho	529
Açúcar (sacarose)	100
Óleo de soja	70
Fibra (celulose)	50
Mix mineral (AIN-93G-MX)	35
Mix vitamínico (AIN-93-VX)	10
L-Cistina	3
Bitartarato de colina	2,5
T-butil-hidroquinona	0,014

Métodos

Teor de nitrogênio e proteína

O teor de nitrogênio foi quantificado pelo método semi-micro de Kjeldahl (AOAC, 1984), utilizando dióxido de titânio como catalisador (WILLIAMS, 1973). Para determinar o respectivo equivalente protéico, foi utilizado o fator de conversão 6,25 (SGARBIERI, 1996).

Perfil de aminoácidos

As determinações e quantificações de aminoácidos foram realizadas de acordo com o método proposto por White & Kry (1986), Elkim & Wasynesuk (1987) e Hagen e cols. (1989). Utilizando-se tubo de hidrólise (Pierce, 18.800), pesou-se 0,16g de cada amostra previamente triturada e homogeneizada, adicionou-se 9mL de HCl 6N com fenol. Homogeneizou-se a amostra em ultra-som por 6 minutos, seguida de fechamento a vácuo e hidrólise a 110°C por 24h. Posteriormente, foi introduzido no tubo de hidrólise o Padrão B1 (0,3mg de ácido alfa-aminobutírico, AAAB, 99-100% Pierce em 1000mL de HCl 0,1M) e

homogeneizado em mixer vortex (Janke & Kunkel, VF2) por 30 segundos. O conteúdo foi transferido para balão volumétrico de 50mL e completado o volume final com H₂O ultrapura.

Em seguida, foi recolhido 3-4mL desta solução em uma seringa de plástico acoplada a um filtro Millipore (Millex) de 0,45mm, sendo que as primeiras cinco gotas filtradas foram desprezadas e o restante do filtrado foi transferido para um copo plástico de 5mL. Deste volume tomaram-se alíquotas de 50µL para serem transferidas para tubo de vidro (6x50mm), a fim de proceder à derivatização. Os tubos foram então colocados no vial de secagem na estação de vácuo (bomba a vácuo DV-142N-250 CE/JB Motor Division St. Louis, Missouri), até 70 militorr. A seguir, foi adicionado 20µL de solução de re-secagem (acetato de sódio triidratado 0,2N, metanol 99-100%, trietilamina 99-100%). Procedeu-se novamente à homogeneização em mixer vortex por 30 segundos e secagem em bomba de vácuo, com posterior adição de 20µL da solução derivatizante, sem feniltiosianato e com feniltiosianato (PITC 99-100%, Pierce). Deixou-se a amostra em repouso por 20 minutos, seguidos de secagem a vácuo. No final desta fase, o tubo apresentou cristais brancos, não oleosos. As amostras derivadas e secas foram mantidas sob congelamento (temperatura inferior a 2°C) até o momento da análise.

Para análise no HPLC precedeu-se a calibração prévia do aparelho com uma corrida inicial em branco com os eluentes programados a partir do eluente B (mediu-se 400mL de água ultrapura e transferiu-se para um balão volumétrico de 1000mL completando o volume final com acetonitrila a 99-100% grau HPLC, seguida da adição de 200µL de EDTA dissódico à 2g/L) e com os Padrões C1, C2 e C3 feitos a partir dos padrões A (Padrão Pierce H, com todos os componentes na concentração de 2,5 micromoles por mL, exceto a cistina que possui 1,25 micromoles por mL, em HCl 0,1M) e do Padrão B2 (0,3mg de ácido alfa-aminobutírico AAAB 99-100% Pierce em 1000mL de HCl 0,1M, utilizou-se 25mL desta solução diluída novamente em HCl 0,1M). Após conclusão do aminograma introduziu-se a tabela de calibração (TABELA 3) com posterior obtenção dos fatores de calibração a partir da injeção dos padrões C1, C2 e C3.

Em seguida, realizou-se a transferência de 500µL de solução diluente (0,3mg de hidrogeno fosfato de sódio a 99-100% em 1000mL H₂O ultrapura, dissolvido, homogeneizado, titulado com ácido fosfórico a 10% até o pH 7.40, acrescentado de 5mL de acetonitrila a 99,7-100% grau HPLC) nos tubos contendo a amostra seca e

derivatizada. A continuação, vedaram-se os tubos com três camadas de teflon e deixaram-se no banho de ultra-som (Branson, 5210) por 10 minutos com posterior homogeneização em mixer vortex por 30 segundos, sendo depois transferida para o vial de injeção (30 µL) com microseringa. A leitura foi realizada em analisador de aminoácidos Pickering com coluna Picotag Column HPLC Waters Technologies do Brasil. Os resultados foram expressos em porcentagens dos componentes com relação à amostra tal qual. Para isto foi preciso corrigir as diluições efetuadas.

TABELA 3. Condições operacionais para calibração do analisador de aminoácidos.

Componente	Nº. do pico	PM	Padrão	Padrão	Concentração (g/100mL) X 1000		
			31 (g)	32 (g)	Padrão C ₃	Padrão C ₂	Padrão C ₁
ASP	01	133,1	1,0000	5,0000	6,6550	3,3275	1,6638
GLU	02	147,1	1,0000	5,0000	7,3550	3,6775	1,8388
SER	03	105,1	1,0000	5,0000	5,2550	2,6275	1,3138
GLY	04	75,1	1,0000	5,0000	3,7550	1,8775	0,9388
HIS	05	155,2	1,0000	5,0000	7,7600	3,8800	1,9400
ARG	06	174,2	1,0000	5,0000	8,7100	4,3550	2,1775
THRE	07	119,1	1,0000	5,0000	5,9550	2,9775	1,4888
ALA	08	89,1	1,0000	5,0000	4,4550	2,2275	1,1138
PRO	09	115,1	1,0000	5,0000	5,7550	2,8775	1,4388
AAAB	10	103,1	0,6500		6,4350	6,43,50	6,4350
TYR	11	181,2	1,0000	5,0000	9,0600	4,5300	2,2650
VAL	12	117,2	1,0000	5,0000	5,8600	2,9300	1,4650
MET	13	149,2	1,0000	5,0000	7,4600	3,7300	1,8650
CIS 1	14	240,2	1,0000	5,0000	12,0100	6,0050	3,0025
CIS 2	15	240,2	1,0000	5,0000	12,0100	6,0050	3,0025
CIS 3	16	240,2	1,0000	5,0000	12,0100	6,0050	3,0025
ILE	17	131,2	1,0000	5,0000	6,5600	3,2800	1,6400
LEU	18	131,2	1,0000	5,0000	6,5600	3,2800	1,6400
PHE	19	165,2	1,0000	5,0000	8,2600	4,1300	2,0650
LYS	20	146,2	1,0000	5,0000	7,3100	3,6550	1,8275
			Total	AAAB	142,7550	71,3775	35,6888

Teor de lipídeos totais

O teor lipídico das amostras foi determinado utilizando diferentes solventes orgânicos extratores e quantificado por diferença de pesagem, de acordo com o método sugerido por Bligh & Dyer (1959).

Carboidratos totais

O conteúdo total de carboidratos foi estimado pela diferença entre o teor de macronutrientes e cinzas, de acordo com a fórmula: $100 - (\text{umidade} + \text{proteína bruta} + \text{lipídeos totais} + \text{cinzas})$ (COSTA DE OLIVEIRA e cols. 2001).

Teor de fitatos das dietas

Os fitatos foram extraídos de 5g de amostra com 100mL de HCl (2,4%) em agitação por 1 hora à temperatura ambiente, seguida de centrifugação (Centrífuga Modelo RC5C, Sorvall Instrumentos DuPont) a 3000G por 10 minutos. Coletou-se, em triplicata, 1mL do sobrenadante e diluiu-se em água destilada até obter um volume final de 25mL, utilizando-se balão volumétrico. Após, 10mL da amostra submetida à diluição foi eluída em coluna com resina de troca aniônica AG1-X8, inicialmente com 15mL de solução de NaCl 0,1M e por último com 15mL de solução de NaCl 0,7M para remoção de fitatos da amostra. Ato contínuo à extração, adicionou-se em tubos de ensaio 1mL da solução de Wade (0,03% $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 0,3% ácido sulfossalicílico em água destilada) e 3mL de extrato da solução de NaCl 0,7M. O branco da reação foi feito utilizando-se 3mL de água destilada e 1mL da solução de Wade. Posteriormente, as amostras foram deixadas em repouso por 15 minutos e então foram lidas a 500nm em espectrofotômetro Beckman, modelo DU-70. A curva padrão foi elaborada a partir de concentrações crescentes da solução de fitato de sódio (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri). Todas as análises foram feitas em duplicata com leitura de absorbância em triplicata (LATA & ESKIN, 1980).

Quantificação de Ca, Mg, Cu e Zn por absorção atômica nas dietas e material biológico

Soluções-padrão (1000 mg/l) de cada mineral foram obtidas a partir de ampolas Tritisol Merck, após diluição para um litro de água deionizada. Posteriormente, foram

aconditionadas em frascos de polietileno e guardados à temperatura ambiente. Toda a vidraria utilizada foi deixada previamente em repouso em solução de HNO₃ (suprapuro) a 10% por 24 horas e depois lavada com água destilada (Milli-Q) em abundância. Foram realizadas as determinações do perfil mineral por espectrofotometria de absorção atômica com chama, utilizando-se o método descrito por Almeida (2002). Inicialmente as amostras foram mineralizadas em ácido nítrico (65%) em forno de microondas (DGT 100 Provecto) utilizando o Programa 71/15min de acordo com o manual de métodos DGT 100/Nº 18.

Procedeu-se à transferência das amostras com enxágüe prévio do copo de reação (3mL de água deionizada) para frascos de polietileno, completando um volume final de 8mL. A leitura da absorbância dos elementos presentes nas soluções foi efetuada utilizando-se espectrofotômetro de absorção atômica da GBC Scientific Equipment Pty Ltd., modelo GBC 932AA, com corretor de deutério e lâmpada de cátodo oco dos elementos a serem analisados, nas condições instrumentais especificadas pelo fabricante, precedida com solução de óxido de lantânio a 10% para evitar interferência espectral química. A quantificação foi conduzida com auxílio de curvas de calibração construídas a partir de soluções-padrão de acordo com o tipo de material que foi analisado (Tabela 4) nas concentrações dentro da faixa ótima de operação do aparelho (Tabela 5).

TABELA 4. Concentrações das soluções-padrão (SP) para determinação de minerais por espectrofotometria de absorção atômica nas dietas e materiais biológicos.

Elementos	Dietas Experimentais	Fezes	Urina	Ossos*
Ca (µg/mL)	SP1: 1,0	SP1: 8,0 SP2: 16,0 SP3: 32,0	SP1: 8,0 SP2: 16,0 SP3: 32,0	SP1: 2,0 SP2: 4,0 SP3: 8,0
	SP2: 2,0			
	SP3: 4,0			
	SP4: 8,0			
Mg (µg/mL)	SP1: 0,4	SP1: 3,2 SP2: 6,4	SP1: 3,2 SP2: 6,4	SP1: 0,2 SP2: 0,4 SP3: 0,8 SP4: 1,6
	SP2: 0,8			
	SP3: 1,6			
	P4: 3,2			
Cu (µg/dl)	SP1: 0,25	SP1: 0,5 SP2: 1,0 SP3: 2,0	SP1: 0,5 SP2: 1,0 SP3: 2,0	SP1: 0,25 SP2: 0,5 SP3: 1,0
	SP2: 0,5			
	SP3: 1,0			
	SP4: 2,0			
Zn (µg/dl)	SP1: 0,5	SP1: 1,0 SP2: 2,0 SP3: 4,0	SP1: 1,0 SP2: 2,0 SP3: 4,0	SP1: 1,0 SP2: 2,0 SP3: 4,0
	SP2: 1,0			
	SP3: 2,0			

* Ossos: fêmures e fíbrias de ambas patas de dois animais de cada grupo experimental

TABELA 5. Condições operacionais para determinação de Ca, Mg, Cu e Zn por espectrofotometria de absorção atômica.

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Corrente (mA)	Fenda (nm)	Tipo de chama	Faixa ótima de operação (µg/mL)	Working Range (µg/mL)	Sensibilidade (µg/mL)
Ca	422,7	5	0,5	a/a	1,0-8,0	1,0-4,0	0,02
Mg	285,2	4	0,5	a/a	0,1-4,0	0,1-0,4	0,003
Fe	248,3	7	0,2	a/a	2,0-10,0	2,0-9,0	0,05
Cu	324,7	4	0,5	a/a	0,25-5,0	1,0-5,0	0,025
Zn	213,9	5	0,5	a/a	0,4-2,0	0,4-1,5	0,008

a/a = ar/acetileno

Protocolo experimental para o ensaio biológico

Animais

Para o ensaio biológico utilizaram-se 40 ratos Wistar machos, recém-desmamados (21 dias), fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Os animais foram separados e distribuídos, aleatoriamente, em grupos com 8 animais cada (Tabela 6), conforme quatro diferentes dietas à base de leguminosas exclusivamente (Tabela 1) e um grupo Controle AIN93-G (Tabela 2).

TABELA 6. Peso médio (g) dos animais recém desmamados, separados por grupo experimental (n=8).

Ratos	Grupo Controle	Grupo B	Grupo P	Grupo M	Grupo S
1	54,8	59,7	50,2	49,9	65,0
2	47,7	52,9	63,7	59,2	59,6
3	53,1	56,8	51,9	63,7	51,6
4	53	52	56,3	55	57,1
5	60,3	53,5	57	60,1	47,2
6	52,7	50,1	61,5	57	54,8
7	64,1	55,8	64,1	54,6	65,1
8	52,5	54,3	58,9	53,1	53,2
Média	54,8	54,4	58,0	56,6	56,7
DP	5,1	3	5,1	4,4	6,3

Ensaio biológico

Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais durante 14 dias nas condições do Laboratório de Ensaio Biológicos da Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, (ciclo de claro/escuro de 12h, 22±2°C), sem restrição de água e dieta, com prévio período de 48h para adaptação às novas condições ambientais. O manuseio e o procedimento experimental foi realizado de acordo com as normas estabelecidas pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA), com prévia aprovação do protocolo experimental (Nº799-1) (Anexo).

Após a adaptação ambiental de 48h, os animais foram monitorados diariamente para reposição alimentar e hídrica, durante 12 dias. A evolução do crescimento era realizada a cada dois dias e ao final do experimento os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, para retirada dos membros posteriores para o estudo de composição mineral (fêmur) e histomorfológico (fíbia). Também foi estimado o consumo total de dieta, pelos dados de ingestão e rejeição para estabelecer o quociente de eficiência alimentar (QEA) (SGARBIERI, 1987). As amostras de urina foram coletadas em frascos Erlenmeyers (250mL), contendo 25mL de ácido sulfúrico diluído (20%). Em seguida, foram filtradas e transferidas para balões volumétricos e os volumes ajustados com água deionizada para um volume final conhecido. As fezes foram coletadas, peneiradas, lavadas, secas (50°C/6h), pesadas e moídas. As amostras de fezes e urina foram mantidas sob refrigeração (-10°C) até o momento das análises.

Índices de balanço biológico

Para o estudo foram seguidos os parâmetros recomendados pelo National Research Council (1995):

$$\text{CDA} = [(I - F) / I] \times 100$$

$$\text{Balanço} = I - (F + U)$$

$$\% \text{ R/A} = \{[I - (F + U)] / (I - F)\} \times 100$$

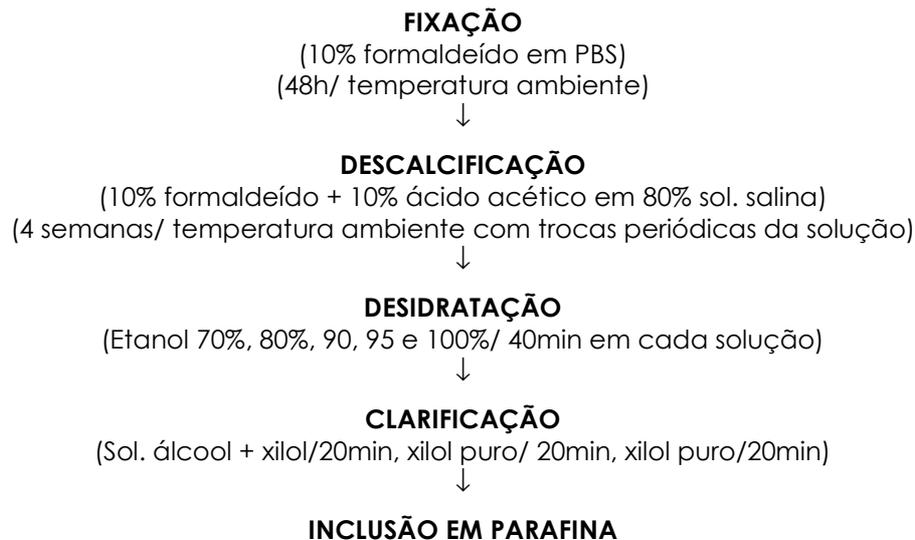
Onde:

CDA = coeficiente de digestibilidade aparente de cada mineral (%); **Balanço** = mg/d

%R/A = taxa de retenção/ absorção de cada mineral; **I** = ingestão de Ca, Mg, Cu e Zn (mg/rato/dia); **F** = Ca, Mg, Cu e Zn presentes nas fezes (mg/rato/dia); **U** = Ca, Mg, Cu e Zn presentes na urina (mg/rato/dia).

Estudo histomorfométrico

Para o estudo histológico foram utilizadas as fíbrias (direita e esquerda) de dois animais de cada grupo experimental que apresentaram melhor evolução de crescimento. A preparação das lâminas seguiu o procedimento laboratorial de rotina:



Após inclusão em banhos de parafina I, II e III por 40min. os tecidos foram emblocados e mantidos em geladeira até serem cortados na espessura de 6mm utilizando micrótomo rotativo modelo Spencer 820. As lâminas foram desparafinizadas em banhos de xilol I (10min), xilol II (10min) e álcool-xilol (5min), seguidas de imersão em soluções etílicas (álcool 100% por 5min, álcool 95% por 5min, álcool 70% por 5min) com posterior lavagem em água corrente por 5min. A coloração foi feita com hematoxilina/eosina.

Depois de realizada a coloração, as lâminas foram desidratadas em banhos de álcool etílico 95% por 2min, e dois banhos de álcool 100% por 5min cada. Por último as lâminas foram diafanizadas utilizando soluções de álcool-xilol por 5min, xilol por 5min e xilol de montagem por 5min.

Os cortes histológicos foram utilizados para análise histomorfométricas utilizando microscópio Leica DMLB, acoplado de câmara digital Leica DFC 300FX. As imagens foram analisadas em programa de análise de imagens Leica QwinV3.

Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Duncan, multivariado, para comparação entre as médias. Diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Para todas estas análises foi utilizado o programa *STATISTICA* para Windows, versão 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS DIETAS EXPERIMENTAIS

Os dados sobre a composição química centesimal aproximada das dietas experimentais à base de feijão (farinha integral liofilizada) e soja (farinha integral torrada) são apresentados na Tabela 7.

TABELA 7. Composição centesimal aproximada das dietas à base de feijão branco (DB), feijão preto (DP), feijão Carioca (DM), soja (DS) e Controle (DC).

% Nutrientes	Dieta C (Controle)	Dieta B (cv. Ouro Branco)	Dieta P (cv. Valente)	Dieta M (cv. Pérola)	Dieta S (cv. Conquista)
Proteína	17 + 0,01	25,6 + 0,03	21,9 + 0,02	23,9 + 0,03	40,1 + 0,05
Lipídios totais	7 + 0,01	2,7 + 0,02	2,7 + 0,04	2,7 + 0,01	23,3 + 0,06
Carboidratos*	58,3 + 0,02	39 + 0,02	38,1 + 0,02	35,2 + 0,01	19,5 + 0,06
Energia (kcal)**	364,2	283,1	264,3	260,7	448,1

Dados apresentados em base seca (média \pm desvio-padrão, no mínimo $n=3$)

*Carboidratos totais = determinados por diferença

**Energia: estimada a partir dos teores médios de proteína (g x 4) + lipídios (g x 9) + carboidratos (g x 4)

Teor energético

As dietas à base de leguminosas não foram isocalóricas entre si, com destaque para a dieta à base de farinha integral de soja (DS), cujo valor energético superou em 66% os teores médios de energia das dietas à base de feijão e em 26%, a dieta Controle. Comparando os teores médios de energia entre as dietas à base de feijão, verifica-se que

a dieta DB (Ouro Branco) supera em 7% a dieta DP (Valente) e em 8,5%, a dieta DM (Pérola).

Lipídios e Carboidratos Totais

De acordo com a Tabela 7, o teor lipídico das dietas à base de feijão foi semelhante entre si, porém muito inferior à dieta à base de soja, que também superou a dieta Controle. Já a concentração de carboidratos totais entre as dietas DB e DP foram semelhantes, ou seja, 39 e 38%, respectivamente, superando a dieta DM em 10% e em 97% a dieta DS. Contudo, todas as dietas apresentaram teores de carboidratos totais inferiores à dieta Controle, cujo teor foi de 58,3%.

Teor protéico e perfil aminoacídico

Como era esperado, e considerando a característica comparativa do experimento, as dietas não foram isoprotéicas. Os altos teores de proteína bruta encontrados nas dietas à base de feijão e soja superaram em 35 e 135% a dieta Controle, respectivamente (Tabela 7).

Com relação aos teores de proteína contido em feijões, após cocção e desidratação, Cruz (2000) e Bejarano-Luján & Costa (2004) encontraram variações de 18,6 a 21,6% na cultivar Ouro Branco, 21,7 a 22,5% na cultivar Diamante Negro (feijão preto) e 18,9 a 20,9% na cultivar Pérola. Porém, todos foram relativamente menores do que os apresentados na Tabela 7, com exceção da cultivar Diamante Negro que foi semelhante à dieta à base de feijão preto (cv. Valente).

Já para a dieta à base de soja (DS), os resultados obtidos foram similares aos apresentados por Mendes e cols. (2004), cujos teores oscilaram de 39,9 e 43% de proteína em grãos de soja submetidos a diferentes processamentos térmicos. Entretanto, Café e cols. (2000) encontraram teores de proteína menores (34,9%) para grãos de soja tostados. As variações do teor de proteína dentro de um mesmo grupo de leguminosas pode ser decorrente da diferença entre cultivares, condições de plantio e armazenamento como foi postulado por Coelho (1991) e Sathe (2002).

O perfil aminoacídico das dietas à base de leguminosas e o requerimento de aminoácidos para o rato estão apresentados na Tabela 8. Do ponto de vista qualitativo, as dietas à base de feijão mostraram baixos teores para os seguintes aminoácidos em relação à dieta Controle: sulfurados (54%), ácido glutâmico (43%), valina (32%), leucina (31%), isoleucina (26%), serina (16%), lisina (14%) e prolina (12,5%). Enquanto que a dieta à base de soja apresentou em menor concentração os seguintes aminoácidos: sulfurados (43%), valina (43%), ácido glutâmico (42%), leucina (37,5%), serina (32%), isoleucina (30%) e lisina (27,5%).

TABELA 8. Composição aminoacídica (g/100g proteína) das dietas experimentais e requerimentos nutricionais de aminoácidos do rato.

Aa	Dieta C	Dieta B	Dieta P	Dieta M	Dieta S	Requerimento
	Controle (AIN-93G)	Feijão Branco (Ouro Branco)	Feijão Preto (Valente)	Feijão Carioca (Pérola)	Soja. (Conquista)	Nutricional (rato)
ASP	8,4 ± 0,15	11,7 ± 0,03	11,8 ± 0,18	11,7 ± 0,08	9,2 ± 0,04	
GLU	25,3 ± 0,12	14,5 ± 0,02	14,1 ± 0,02	14,6 ± 0,01	14,7 ± 0,02	33,08
SER	6,6 ± 0,01	5,8 ± 0,04	5,9 ± 0,5	5,9 ± 0,1	4,5 ± 0,01	
GLY	1,0 ± 0,06	3,5 ± 0,07	3,7 ± 0,4	3,7 ± 0,2	3,7 ± 0,01	
HIS	2,8 ± 0,05	12,8 ± 0,02	3,7 ± 0,6	3,3 ± 0,01	2,2 ± 0,02	2,48
ARG	2,9 ± 0,04	5,5 ± 0,2	6,4 ± 0,3	6,3 ± 0,04	6,5 ± 0,03	5,03
THR	2,3 ± 0,07	3,9 ± 0,08	4,6 ± 0,02	4,6 ± 0,33	3,2 ± 0,42	4,21
ALA	2,5 ± 0,04	3,9 ± 0,01	4,1 ± 0,05	3,7 ± 0,55	3,7 ± 0,23	
PRO	4,0 ± 0,02	3,1 ± 0,01	3,7 ± 0,03	3,3 ± 0,6	3,9 ± 0,02	3,3
TYR + PHE	7,8 ± 0,01	8,6 ± 0,02	9,1 ± 0,01	9,6 ± 0,7	7,2 ± 0,04	6,69
VAL	6,9 ± 0,1	4,7 ± 0,04	5 ± 0,01	5 ± 0,01	3,9 ± 0,05	5,04
MET+ CYS	4,4 ± 0,09	1,9 ± 0,03	1,8 ± 0,02	2,1 ± 0,02	2,5 ± 0,35	5,03
ILE	5,3 ± 0,02	3,9 ± 0,18	4,1 ± 0,01	4,2 ± 0,01	3,7 ± 0,11	0,61
LEU	10,4 ± 0,04	7 ± 0,22	7,8 ± 0,01	7,5 ± 0,04	6,5 ± 0,18	6,24
LYS	6,9 ± 0,08	5,8 ± 0,05	6,4 ± 0,01	6,3 ± 0,01	5 ± 0,12	7,52

* Valores médios das amostras (base seca) (média ± desvio-padrão, n=2)

Nutrient requirements of domestic animals – n.º. 10, **Nutrient requirements of laboratory animals 2nd. Ed. 1972

***Triptofano não determinado

Com relação ao requerimento de aminoácidos para o rato, publicado pelo Nutrient requirements of laboratory animals (1972), as dietas experimentais apresentaram baixos teores de aminoácidos sulfurados (60%), serina (56%), lisina (21,5%) e treonina (3%).

Entre os teores médios de aminoácidos, a dieta DB (feijão branco) mostrou maior concentração de histidina (73%), porém com redução em 15% de treonina, 9% de lisina, e de 8% para os aminoácidos aromáticos e leucina, em comparação com as dietas DP (feijão preto) e DM (feijão Carioca). Os teores de alanina e prolina foram maiores na dieta DP (feijão preto), com 8 e 17%, respectivamente. Já a dieta DM (feijão Carioca) possui maior concentração de aminoácidos sulfurados, 13,5% com relação às demais. Já a dieta à base de soja (DS) apresentou como aminoácidos limitantes o ácido glutâmico (55,5%), sulfurados (50%), treonina (24%), valina (22%) e lisina (21,5%).

Comparando os teores médios de aminoácidos entre as dietas experimentais, observa-se que as dietas DB, DP e DM apresentaram quase todos os aminoácidos em teores semelhantes ou superiores à dieta DS, com exceção da prolina e dos sulfurados, cujos valores foram superiores na dieta à base de soja, ou seja, 18 e 31,5% respectivamente.

Minerais

As concentrações de cálcio, magnésio, cobre e zinco das dietas estão apresentados na Tabela 9. De acordo com os resultados, é possível observar diferenças significativas ($P < 0,0001$) entre os tratamentos à base de leguminosas e a dieta Controle.

TABELA 9. Conteúdo de cálcio, magnésio, cobre e zinco (mg/100g)*das dietas experimentais.

Dietas	Ca (mg/100g)	Mg (mg/100g)	Cu (mg/100g)	Zn (mg/100g)
Dieta C (Controle AIN 93G)	500 ± 0,1a	50 ± 0,1c	0,6 ± 0,01b	3 ± 0,1b
Dieta B (feijão branco cv. Ouro Branco)	275 ± 11c	108 ± 28b	0,5 ± 0,04b	2,4 ± 0,1c
Dieta P (feijão preto cv. BRS Valente)	386,9 ± 4b	116 ± 6b	0,7 ± 0,03b	2,7 ± 0,1bc
Dieta M (feijão Carioca cv. Pérola)	480 ± 60a	120 ± 22b	0,8 ± 0,06b	2,5 ± 0,1bc
Dieta S (soja cv. Conquista)	388,4 ± 40b	262,4 ± 15a	1,06 ± 0,07a	5 ± 0,3a

*Valores médios seguidos do Desvio-Padrão das amostras analisadas em triplicata, letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$).

Com relação ao teor de cálcio, as dietas à base de leguminosas variaram de 275 a 480mg/100. Contudo, não atingiram o requerimento de cálcio da dieta Controle

(500mg/100g). Já os teores médios de magnésio das dietas à base de feijão e soja superaram em 129% e 425%, respectivamente, a dieta Controle. Os teores de cálcio e magnésio das dietas DB, DP e DM diferiram dos resultados encontrados por Ferreira e cols. (2001) em feijões obtidos no mercado varejista da Região Sudeste, crus e também cozidos. Esses autores utilizaram a mesma técnica analítica, porém, com oxidação das amostras por via úmida prévia em solução nitroperclórica e aquecimento em chapa. As variedades analisadas foram (mg/100g, para cálcio e magnésio, respectivamente): feijão branco, 140,3 e 174; feijão cariocinha, 75,8 e 62,5; feijão preto, 134,1 e 95,1; e feijão vermelho, 121,3 e 76,5. Já nos feijões vermelho e preto cozidos, os teores foram de 28,4 e 36,3mg para o cálcio e de 43,6 e 57mg para o magnésio, respectivamente.

O teor de cobre da dieta DS superou em 76% a dieta Controle, enquanto que as dietas à base de feijão preto (DP) e Carioca (DM), superaram em 25%. Por outro lado, a concentração de cobre da dieta à base de feijão branco (DB), alcançou apenas 83% do requerimento de cobre oferecido pela dieta Controle. Já o teor de zinco nas dietas à base de feijão foi muito próximo ao requerimento de 3mg/100g da dieta Controle, com variações de 2,5 a 2,7mg/100g. Porém, a dieta DS superou em 66,6% a dieta Controle e em 82% as dietas à base de feijão.

Andrade e cols. (2004) quantificaram o teor de zinco em diferentes tipos de leguminosas cruas e também submetidas à cocção em meio salino e meio aquoso utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica em chama, da AOAC (1984). O teor médio de zinco encontrado nas variedades de feijões foi de 3,2mg/100g para os grãos crus, 2,98mg/100g para os feijões cozidos em meio salino e de 2,59mg/100 para os feijões cozidos em meio aquoso. Comparando estes resultados com os valores das dietas B, P e M, verifica-se que estas apresentaram um déficit de 23, 9% e 13% com relação às variedades feijão branco (3,14mg/100g), feijão preto (2,97mg/100g) e feijão cariocinha (2,88mg/100g), cozidos em meio aquoso. Já Café e cols. (2000) quantificaram os teores de diversos minerais em grãos de soja tostados, cujos resultados são semelhantes aos apresentados na Tabela 11, ou seja, 0,39% para Ca, 0,26% para Mg e 54mg/100g de Zn.

A capacidade das leguminosas de armazenar nutrientes minerais está relacionada com a necessidade fisiológica da planta e a capacidade de reconhecimento dos elementos minerais pelas membranas transportadoras (específicas ou não), localizadas no

córtice da raiz (GRUSAK, 2002). Para que este processo seja cumprido eficientemente devem-se oferecer condições ambientais e nutricionais favoráveis à planta para que, após a absorção do nutriente, este possa seguir em direção às organelas vegetais por meio do sistema xilema do parênquima celular do caule na forma quelada ou solubilizada, envolvendo também a via floema para armazenamento temporário nos tecidos folhosos e nas sementes (GRUSAK & DELLAPENNA, 1999).

Fitatos

Os teores médios de fitatos das dietas de feijão e soja estão apresentados na Figura 1. A dieta DB apresentou o menor teor de fitatos, com 3,1mg/g, e a dieta S, o maior teor, 6,5mg/g. As dietas DP e DM apresentaram a mesma concentração de fitatos, ou seja, 3,9mg/g. Estes resultados estão de acordo com os teores de fitatos de amostras de feijões (IAC-Carioca) submetidas à cocção, com e sem água de maceração, cujos teores médios foram de 2 e 2,29mg/g (Oliveira e cols. 2001). Porém, diferem dos encontrados por Helbig e cols. (2003) em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L. cv. IAC-Carioca), submetidos a diferentes métodos de processamento, cujos teores de ácido fítico foram: 11,6mg/g (grão cozido sem prévia maceração), 6,9mg/g (grão macerado e cozido com a água de maceração) e 5,8mg/g (grão macerado e cozido sem a água de maceração). Segundo Kon & Sanchuck (1981), quanto mais longo o tempo de cocção maior é a lixiviação dos fitatos, reduzindo assim o teor total de ácido fítico nos feijões cozidos.

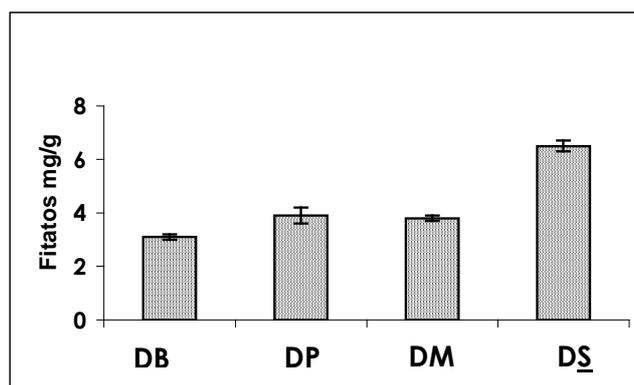


FIGURA 1. Teor de fitatos das dietas DB (feijão branco, cv Ouro Branco), DP (feijão preto, cv Valente), DM (feijão Carioca, cv Pérola) e DS (soja, cv Conquista).

Outra maneira de reduzir o teor de ácido fítico em leguminosas é pela fermentação, como foi mostrado por Porres e cols. (2003) em feijões fermentados

naturalmente ou por fermentação controlada. A redução do teor de ácido fítico foi de aproximadamente 34,5%, o que também implicou em um relativo aumento dos teores de nitrogênio, fósforo, cobre e magnésio nas amostras tratadas. Resultados semelhantes foram obtidos por Barampama & Simard (1994), em feijões macerados-cozidos que apresentaram uma redução de 47% nos teores iniciais de ácido fítico, em comparação aos feijões crus. Nos feijões fermentados, o decréscimo foi de 20% e, para os fermentados-cozidos, de 31,57%.

De acordo com a literatura, os fitatos, ácido fítico ou hexafosfato de inositol, estão presentes de 1 a 3% nas sementes de leguminosas e respondem por cerca de 80% do fósforo total nestes grãos. Estão associados aos componentes da fibra solúvel localizados nos corpos protéicos dos cotilédones (IYER, 1980; RABOY, 2002; SANDBERG, 2002) e desempenham um papel fisiológico nas plantas de estoque de fósforo, reserva de grupos fosfato reativos, estoque energético, fonte de cátions e iniciação da dormência (CHERYAN, 1980).

Martinez-Domínguez e cols. (2002) citam ainda outras funções fisiológicas do ácido fítico relacionadas com as sementes de leguminosas tais como: mobilização das reservas de fósforo inorgânico na forma de fosfato e *m*-inositol e determinados cátions (Mg^{2+}) que participam na síntese de ácidos nucléicos durante a germinação. Além disso, o *mi*-inositol é um importante precursor dos polissacarídeos da parede celular e de fosfolipídios que participam no sinal de tradução. Por outro lado, mencionam que a capacidade antioxidante do ácido fítico faz com que este contribua também com o aumento do tempo de dormência da semente, já que previne a peroxidação de lipídios.

ENSAIO BIOLÓGICO

Crescimento

A Tabela 10 apresenta a evolução de crescimentos dos animais durante os 12 dias de ensaio biológico experimental. Verifica-se que a média aritmética de crescimento dos grupos experimentais acompanhou os valores médios apresentados pelo grupo Controle até o 4º dia. Porém, a partir do 6º dia, e até o fim do período experimental, as dietas à base de leguminosas não foram suficientemente eficientes para proporcionar um ganho de peso similar ao do grupo Controle, devido ao fato dos animais recusarem dietas que

não sejam balanceadas às suas necessidades fisiológicas, o que justifica, conseqüentemente, a baixa ingestão das mesmas.

TABELA 10. Evolução de crescimento (g) dos grupos experimentais Controle (AIN93-G), GB (feijão branco), GP (feijão preto), GM (feijão Carioca) e GS (soja) submetidos a doze dias de tratamento.

Dias	Controle (AIN93-G)	GB (Feijão Branco)	GP (Feijão Preto)	GM (Feijão Carioca)	GS (Soja)
0	61,7 ± 4,8	56,5 ± 3,3	60,1 ± 5,5	56,4 ± 4,9	58,4 ± 5,9
2	67,9 ± 5,0	58,2 ± 3,7	61,7 ± 5,6	57,6 ± 4	58,7 ± 6,2
4	69 ± 8,3	60,5 ± 4,2	58,9 ± 4,3	58,7 ± 5,7	60,5 ± 6,6
6	80,8 ± 9,2	63,4 ± 4,8	66,1 ± 6,4	61,8 ± 4,6	61,7 ± 5,5
8	84,6 ± 14,1	64,9 ± 5,9	69,2 ± 6,4	65,6 ± 4,3	64,5 ± 6,1
10	94,5 ± 14,3	66,5 ± 5,6	68,7 ± 6,2	66,2 ± 4,4	64,7 ± 6
12	106,7 ± 15,3	67,5 ± 6,2	70,1 ± 5,4	64,5 ± 7,1	67,6 ± 6,5
Ganho de peso final (g)	51,9 ± 14,9	13,2 ± 4	12,1 ± 2,2	7,9 ± 6,8	10,9 ± 2,6

Quociente de eficiência alimentar (QEA)

Sabe-se que a quantidade e a qualidade do alimento ingerido podem promover alterações significativas no crescimento do animal. Assim sendo, procura-se eliminar o fator quantidade medindo-se o consumo de alimento e relacionar esta variável com o aumento de peso. Esta relação constitui o índice de quociente de eficiência alimentar - QEA (FARIA-OLIVEIRA e cols. 1989), como está apresentado na Tabela 11.

TABELA 11. Ganho de peso, consumo de dieta e quociente de eficiência alimentar (QEA), após doze dias de ensaio biológico.

Tratamentos	Ganho de Peso (g)	Consumo de Dieta Total (g)	Quociente de Eficiência Alimentar (QEA)
Controle (C)	51,9 ± 15a	128,4 ± 24a	0,39 ± 0,06a
GB	13,1 ± 4b	88,5 ± 11b	0,14 ± 0,04b
GP	12,1 ± 2b	102,4 ± 8b	0,12 ± 0,02bc
GM	7,9 ± 7b	96,6 ± 9b	0,08 ± 0,07c
GS	10,9 ± 3b	60,6 ± 8c	0,18 ± 0,04b

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=8). Médias seguidas por letras diferentes na vertical indicam diferença estatística (P<0,05)

De acordo com a Tabela 11, todos os grupos experimentais apresentaram valores de QEA menores que o grupo Controle. Porém, comparando os resultados de QEA entre os tratamentos à base de leguminosas, verifica-se que somente o grupo GM diferiu estatisticamente dos grupos GB e GS ($P < 0,00001$), por apresentar menor índice de QEA, ou seja, 0,08.

Com relação ao ganho de peso final dos grupos experimentais, observa-se que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos à base de leguminosas, porém estes foram significativamente inferiores ao do grupo Controle ($P < 0,00001$). Contudo, o grupo GB, cuja dieta era à base de feijão branco, apresentou melhor crescimento em relação aos grupos GP, GM e GS. A possível justificativa para este melhor desempenho de crescimento do GB, pode estar associada com o perfil nutricional do feijão branco (Tabela 7), que proporcionou também melhor índice de quociente alimentar em relação às dietas à base de feijão. Por outro lado, o alto teor protéico da dieta à base de soja, não refletiu um crescimento maior para o GS como poderia ser esperado, mesmo que este grupo tenha apresentado um índice de QEA maior em relação aos grupos tratados com feijão. Isso se deve ao reconhecido perfil incompleto de aminoácidos das leguminosas, principalmente em aminoácidos sulfurados, o que resulta em menor taxa de crescimento, em relação ao do grupo Controle, cuja dieta atende todas as necessidades nutricionais e promove o máximo potencial de crescimento, mesmo que estas sementes sejam ricas em proteínas e calorias, como foi demonstrado em estudo de balanço e PER com ratos Wistar, recém-desmamados, submetidos a dietas com teores crescentes de uma mistura aminoacídica sintética, não balanceada (BARRUETO-GONZÁLEZ & AMAYA-FARFÁN, 2000).

Consumo alimentar

Na Tabela 12 estão apresentados os dados sobre consumo de dieta, ingestão protéica (expressos em g/rato/dia) e ingestão de fitatos (expressos em mg/rato/dia) dos animais submetidos à dieta exclusiva à base de feijão branco, preto, Carioca e soja, provenientes das variedades Ouro Branco, Valente, Pérola e Conquista, respectivamente, e dieta Controle AIN-93G.

Os dados de ingestão indicam que as dietas à base de leguminosas tiveram baixa aceitação, em relação à dieta AIN-93G. Por isso, o consumo alimentar dos grupos

tratados à base de feijão e soja, representam apenas 73 e 47%, respectivamente, do total de dieta ingerida pelo grupo Controle. Outros estudos de balanço mineral, conduzidos de maneira similar à proposta deste trabalho, demonstraram também que ratos Wistar, recém-desmamados submetidos a dietas exclusivas à base de leguminosas, apresentaram baixo consumo alimentar diário, ou seja, de 9,1 a 10,7g de dieta (NESTARES e cols. 1997; NESTARES e cols. 1999; URBANO e cols. 1999; PORRES e cols. 2004).

TABELA 12. Consumo de dieta, proteína e ingestão de fitatos dos grupos GB, GP, GM e GS, tratados à base de feijão branco, preto, Carioca e soja durante 12 dias de ensaio biológico.

	C (Controle)	GB (feijão branco)	GP (feijão preto)	GM (feijão Carioca)	GS (soja)
Consumo de dieta (g/d)	9,2 ± 1,7a	6,3 ± 0,8b	7,3 ± 0,6b	6,9 ± 0,6b	4,3 ± 0,6c
Proteína Ingerida (g/d)	1,5 ± 0,3	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,2
Fitatos Ingeridos (mg/d)	-	19,6 ± 2,5b	27,8 ± 3,4a	26,9 ± 2,6a	27,3 ± 1,4a

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=8). Médias seguidas por letras diferentes na horizontal indicam diferença estatística (P<0,05)

Por outro lado, o baixo consumo alimentar não interferiu com a quantidade de proteína ingerida, como mostrou a análise de variância (P<0,05), devido à alta concentração protéica existente nestas fontes alimentares, em relação à dieta Controle (Tabela 7). Já a ingestão de ácido fítico foi proporcional à concentração deste composto nas dietas (Figura 1), como pode ser observado pelo consumo do grupo GB (19,6mg/d) o qual difere significativamente (P<0,00001) dos demais grupos, cujos valores médios de ingestão foram de 27mg/d, aproximadamente.

UTILIZAÇÃO METABÓLICA DE MINERAIS

Para que possam ser utilizados pelo organismo, inicialmente os minerais ingeridos devem ser extraídos da matriz alimentar e solubilizados no meio gastrointestinal. Sua solubilidade no meio aquoso do trato digestório é influenciada pelo gradiente de pH, por sua valência e pela presença de componentes orgânicos reativos, com os quais pode formar compostos de características variadas em termos de solubilidade, oxidação, redução, formação de complexos no meio aquoso intraluminal. Conseqüentemente, a biodisponibilidade destes nutrientes varia enormemente em função da composição das refeições e condições do trato (COELHO & DOMENE, 2004).

Cálcio

Na Tabela 13, estão apresentados os dados sobre a ingestão, excreção, absorção e índices de balanço bioquímico de cálcio. A análise de variância apontou diferenças estatísticas significativas para ingestão ($P < 0,00001$), excreção fecal ($P < 0,0012$), excreção urinária ($P < 0,0182$) e também para os índices de utilização digestiva e metabólica do cálcio ($P < 0,00001$).

TABELA 13. Ingestão, absorção e balanço metabólico de cálcio.

Cálcio	Controle (AIN-93G)	GB (Feijão Branco)	GP (Feijão Preto)	GM (Feijão Carioca)	GS (Soja)
Ca ingerido (mg/d)	45,8 ± 8,7a	17,5 ± 2,2c	28,3 ± 2,2b	29,5 ± 2,8b	16,8 ± 2,1c
Ca fecal (mg/d)	4,2 ± 1,7bc	3,3 ± 1,1cd	4,9 ± 1,4ab	2,2 ± 1,3d	2,4 ± 1,2d
Ca absorvido (mg/d)	41,6 ± 8,4a	14,2 ± 2,1c	23,4 ± 1,9b	27,3 ± 2,5b	14,4 ± 2,1c
Ca urinário (mg/d)	2,08 ± 0,6ac	1,3 ± 0,7ac	0,8 ± 0,6bc	1,9 ± 1,5ac	0,05 ± 0,01bc
CDA (%)*	90,7 ± 3,3ab	81,01 ± 5,6b	82,8 ± 4,5b	92,5 ± 3,9a	85,8 ± 6,9b
Balanço (mg/d)	39,6 ± 8,5a	12,8 ± 2c	22,6 ± 2b	25,4 ± 3,3b	14,4 ± 2c
R/A (%)**	94,8 ± 2ab	90,6 ± 4,7b	96,7 ± 2,7ab	92,8 ± 6cb	99,9 ± 0,4a

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=8). Médias seguidas por letras diferentes, na horizontal, indicam diferença estatística ($P \leq 0,05$)

*CDA: coeficiente de digestibilidade aparente

**R/A: taxa de retenção/absorção

De acordo com a Tabela 13, observa-se que todos os grupos diferiram estatisticamente com relação ao grupo Controle, quanto à ingestão de cálcio. Por outro lado, dentre os tratamentos à base de leguminosas, os grupos GP e GM apresentaram as maiores médias de ingestão para este mineral, ou seja, aproximadamente 29mg/dia, e diferiram estatisticamente dos grupos GB e GS, cujos valores médios foram menores, em torno de 17mg/dia.

Com relação ao cálcio excretado nas fezes, o grupo GB e GP apresentaram as maiores perdas, ou seja, 3,3 e 4,9mg/dia, respectivamente, não diferindo estatisticamente do grupo Controle (4,2mg/dia). Estes resultados diferem também estatisticamente dos demais tratamentos, principalmente dos grupos GM e GS, cujas perdas foram menores, em torno de 2,4mg/dia. Estes resultados poderiam ser explicados pela presença das

frações de fibra alimentar e ácido fítico nas dietas à base de leguminosas, pois são reconhecidos quelantes de minerais. Porém, a fibra alimentar que nos feijões compõem em torno de 32 a 38% (CRUZ e cols. 2004), seria a principal envolvida nas perdas de cálcio pelas fezes, já que os teores de ácido fítico ingerido não diferiram estatisticamente entre os grupos GP, GM e GS (Tabela 12).

Contudo, somente a dieta à base de feijão preto refletiu o efeito da presença destes carboidratos complexos, cujos teores estão em torno de 37% (CRUZ e cols. 2004). Ou seja, contribuíram com maior excreção e peso das fezes e, conseqüentemente, com as perdas para este mineral. Por outro lado, estes mesmos efeitos não se observaram com relação ao feijão Carioca, que dentre os feijões, cotem maior teor de fibra alimentar, ou seja, 38,2% (CRUZ e cols. 2004) e menor perda de cálcio (2,2mg/dia).

Tampouco é possível afirmar se este efeito na eliminação do cálcio está relacionado com a presença do ácido fítico, que tanto no feijão preto como no Carioca foi de 3,9mg/100g. Embora, Martinez-Domínguez e cols. (2002), em sua revisão sobre interações entre cálcio e ácido fítico, afirmam que estudos realizados em humanos mostraram que o ácido fítico reduz a absorção de cálcio, e que a diminuição dos fitatos na soja mediante melhoramento genético, acarreta um incremento na biodisponibilidade deste mineral. Entretanto, resultados obtidos em ratos são contraditórios: alguns estudos indicam a existência de um efeito inibidor do ácido fítico na absorção de cálcio, enquanto que em outros não se obteve efeito significativo. Tem sido sugerido que a presença da enzima fitase no trato digestório destes animais desempenha um papel favorável na absorção do cálcio (SANDBERG, 2002). Já o cálcio absorvido, estimado a partir do total ingerido e excretado nas fezes, foi maior nos grupos GM (27,3mg/dia) e GP (23,4mg/dia), sendo relativamente baixo para os grupos GS e GB, ambos com 14mg/d, porém todos foram menores que o grupo Controle (41,6mg/dia).

A fração absorvida de cálcio (eficiência absorviva), de modo geral, varia aproximada e inversamente com a ingestão. Assim, o índice de balanço de cálcio foi nitidamente maior para o grupo Controle, que também diferiu estatisticamente dos demais. Mas, comparando os resultados de balanço entre os tratamentos à base de leguminosas, observa-se que os grupos que receberam as dietas de feijão preto (GP) e Carioca (GM) mostraram maiores índices de balanço de cálcio, superando em torno de 40% os tratamentos com feijão branco (GB) e soja (GS).

Com relação ao coeficiente de digestibilidade aparente (CDA), as dietas de feijão Carioca e Controle mostraram as maiores taxas de digestibilidade, ou seja, 92,5 e 90,7%, respectivamente, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, cujos resultados de CDA oscilaram entre 81 e 85%. Já a taxa de retenção e absorção (R/A) foi maior no grupo GS, cuja ingestão de cálcio foi nitidamente baixa em comparação com os demais grupos. Contudo, dentre os tratamentos à base de feijão, este índice não diferiu estatisticamente.

De acordo com os índices de biodisponibilidade de cálcio da Tabela 13, em relação a outras fontes alimentares, como nos estudos realizados por Nestares e cols. (1999) em grão-de-bico (*in natura*, macerado e cozido), por Urbano e cols. (1999) em lentilhas (*in natura*, maceradas e cozidas) e também por Porres e cols. (2004) em lentilhas germinadas, verifica-se que o cálcio das cultivares nacionais de feijão e soja é mais biodisponível.

Para compreender melhor a dinâmica da biodisponibilidade de cálcio, é importante saber que este mineral nos alimentos ocorre como sais ou associado a outros componentes da dieta na forma de complexos de íons de cálcio. Ele precisa ser liberado em uma forma solúvel e provavelmente ionizada, antes que possa ser absorvido. O cálcio é absorvido no intestino por duas vias: transcelular e paracelular. A via transcelular envolve o transporte ativo de cálcio pela proteína de transporte de cálcio da mucosa, calbindina, que é saturável e sujeita à regulação fisiológica e nutricional regulada pelo componente ativo da vitamina D, o calcitriol (van DOKKUM, 2003). A via paracelular envolve o transporte passivo de cálcio através das zônulas de oclusão entre as células da mucosa; é insaturável, essencialmente independente da regulação nutricional e fisiológica (STRAIN & CASHMAN, 2005).

Segundo Hegsted (1986), citado por Amaya-Farfan (1994), as proteínas aumentam a excreção urinária de cálcio, mas seu efeito na retenção de cálcio é controverso. Cada grama de proteína metabolizada aumenta os níveis de cálcio urinário em aproximadamente 1,75mg. Assim, ao dobrar a quantidade de proteína ou de aminoácidos na dieta, aumenta-se a excreção de cálcio urinário em cerca de 50%. Entretanto, os nossos resultados indicam que as diferentes concentrações de proteína dos feijões não tiveram efeito, ora no coeficiente de digestibilidade do cálcio, ora na excreção urinária do íon. De fato, a soja, que continha aproximadamente o dobro de

proteína que os feijões, promoveu excreção urinária de cálcio menor àquela dos tratamentos experimentais e, inclusive, do Controle. Isso se deve aos baixos teores de cisteína, que é o aminoácido que mais influencia a excreção urinária de cálcio, assim os altos níveis de proteína tiveram pouco ou nenhum efeito na excreção de cálcio. Também Proulx e cols. (1993) demonstraram que a biodisponibilidade de cálcio não era afetada pela atividade do inibidor de tripsina e tampouco pelo conteúdo de tanino presente nos feijões (*P. vulgaris*). Assim, fazem-se necessários então novos estudos que relacionem outros fatores, ainda não relacionados pela literatura, que não sejam a fibra alimentar, o ácido fítico e a proteína das fontes leguminosas como principais interferentes da absorção e utilização metabólica do cálcio.

Magnésio

Os dados sobre a ingestão, excreção, absorção e índices de utilização metabólica do magnésio dos tratamentos Controle e experimentais estão apresentados na Tabela 14. De acordo com a análise de variância, existem diferenças estatísticas significativas ($P < 0,00001$) para ingestão, excreção fecal e urinária, bem como para os índices de utilização digestiva e metabólica deste mineral entre os grupos experimentais e Controle.

TABELA 14. Ingestão, absorção e balanço metabólico de magnésio.

Magnésio	Controle (AIN-93G)	GB (Feijão Branco)	GP (Feijão Preto)	GM (Feijão Carioca)	GS (Soja)
Mg ingerido (mg/d)	4,6 ± 0,9d	6,6 ± 0,8c	8,8 ± 0,7b	6,2 ± 0,6c	11,4 ± 1,4a
Mg fecal (mg/d)	1,1 ± 0,4b	4,3 ± 1,1a	5,4 ± 2,8a	1,1 ± 0,3b	3,7 ± 1,8a
Mg absorvido (mg/d)	3,5 ± 1c	2,3 ± 0,9c	3,5 ± 2,3c	5,1 ± 0,6b	7,7 ± 1,8a
Mg urinário (mg/d)	12,6 ± 5,1a	2,7 ± 1,4b	0,9 ± 0,8b	3,4 ± 3,5b	2,9 ± 1,5b
CDA (%)*	75,6 ± 8,7a	34,8 ± 13,4b	40,4 ± 26b	82,7 ± 3,8a	67,9 ± 14,6a
Balanço (mg/d)	-9,1 ± 5,8c	-0,4 ± 1,5b	2,6 ± 2,2ab	1,7 ± 3,4ab	4,7 ± 2,6a
R/A (%)**	-12,7 ± 8,6c	-2,6 ± 6c	7,1 ± 2,5a	2 ± 4,2b	6,8 ± 3a

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=8). Médias seguidas por letras diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($P < 0,05$)

*CDA: Coeficiente de digestibilidade aparente

**R/A: taxa de retenção e absorção

De acordo com os resultados, a ingestão média de magnésio dos grupos experimentais foi maior que a do grupo Controle em razão do maior teor de magnésio nas

leguminosas, principalmente a dieta à base de soja, que superou o requerimento nutricional dos animais em 424% (Tabela 9), mesmo que o consumo de dieta tenha sido menor para todos os grupos em relação ao Controle. Assim, a ingestão de magnésio foi inversamente proporcional à concentração na dieta. Por isso, o grupo GS apresentou maior ingestão (11,4mg/dia) em relação aos demais grupos. Já dentre os tratamentos à base de feijão, o grupo GP apresentou maior ingestão de magnésio, ou seja, 8,8mg/dia.

A excreção de magnésio pelas fezes dos grupos de leguminosas, principalmente a do grupo GB, GP e GS, foi maior do que a do grupo Controle e GM, ambos com perdas de 1,1mg/d, diferindo também estatisticamente ($P < 0,05$) dos demais grupos. Contudo, a excreção urinária de magnésio não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos experimentais, cujos valores oscilaram entre 0,9 e 3,4mg/dia.

Com relação ao índice de absorção, os grupos GS e GM apresentaram as maiores médias, 7,7 e 5,1mg/dia, em comparação com os demais grupos, diferindo destes estatisticamente ($P < 0,00001$). Entretanto, os grupos GB e GP não diferiram estatisticamente do Controle. Contudo, o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) foi nitidamente elevado para o grupo GM (76%), Controle (75,6%) e GS (67,9%), diferindo estatisticamente dos grupos GP e GB, cujos valores médios foram de 40,4 e 34,8%.

Os valores de balanço e taxa de retenção e absorção foram relativamente maiores para os grupos GP e GS (7%) e baixo para o GM (2%). Contudo, estes índices foram negativos para os grupos Controle e GB, cujos resultados foram semelhantes aos encontrados em grão-de-bico (NESTARES, e cols. 1997) e feijão fava (NESTARES e cols. 2003), nos estudos de balanço metabólico em condições experimentais similares as aplicadas neste estudo.

O magnésio é amplamente distribuído nos alimentos, mas em diferentes concentrações, sendo os vegetais as principais fontes por possuírem o pigmento fotossintetizador, clorofila. A fração absorvida por seres humanos saudáveis, é influenciada pela sua concentração na dieta e pela quantidade ingerida, assim como pela presença na dieta de componentes inibidores ou promotores da sua absorção. A absorção deste mineral em função da ingestão é curvilínea e reflete um processo saturável com difusão passiva. Além disso, os dados sobre frações de absorção e estudos de balanço são muito

variáveis, dependendo da fonte alimentar ou dieta, podendo oscilar entre 35 e 70% (SHILS, 2003).

Sabe-se que a principal função bioquímica do magnésio está no auxílio da retenção do cálcio no organismo. Tendo em vista o fato de que a soja foi a leguminosa mais rica em magnésio, dentre as aqui estudadas, não foi surpreendente termos observado também que o grupo GS mostrou a menor excreção de cálcio urinário (Tabela 14). Contudo, e devido ao conjunto global de nutrientes e aos baixos níveis de consumo alimentar dos grupos experimentais, o balanço e a retenção de magnésio foi baixa para os grupos GM e GP e negativos para o grupo GB e também Controle.

Cobre

Os dados sobre a ingestão, absorção e excreção, índices de utilização metabólica do cobre dos tratamentos Controle e experimentais estão apresentados na Tabela 15. De acordo com a análise de variância, existe diferença significativa para os dados de ingestão ($P < 0,00001$), excreção fecal ($P < 0,0049$) e urinária ($P < 0,0607$) e índices de utilização metabólica ($P < 0,00001$).

TABELA 15. Ingestão, absorção e balanço metabólico de cobre.

Cobre	Controle (AIN-93G)	GB (Feijão Branco)	GP (Feijão Preto)	GM (Feijão Carioca)	GS (Soja)
Cu ingerido (mg/d)	0,05 ± 0,01b	0,03 ± 0,04b	0,05 ± 0,004b	0,04 ± 0,004b	0,1 ± 0,01a
Cu fecal (mg/d)	0,04 ± 0,01bc	0,05 ± 0,02bc	0,07 ± 0,03a	0,06 ± 0,02ac	0,03 ± 0,02b
Cu absorvido (mg/d)	0,01 ± 0,02c	-0,01 ± 0,02b	-0,02 ± 0,03b	-0,02 ± 0,02b	0,06 ± 0,02a
Cu urinário (mg/d)	0,2 ± 0,02a	0,1 ± 0,003bc	0,1 ± 0,006abc	0,1 ± 0,002bc	0,02 ± 0,01ac
CDA (%)*	20,4 ± 29b	-44,5 ± 39,4c	-38,1 ± 45,3c	-40,3 ± 62,3c	65,8 ± 25,3a
Balanço (mg/d)	-0,01 ± 0,03b	-0,02 ± 0,01b	-0,03 ± 0,02b	-0,02 ± 0,03b	0,05 ± 0,02a
R/A (%)**	302,4 ± 1794a	264,8 ± 186b	139,8 ± 118,4b	122,4 ± 49b	49,2 ± 82,7c

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=8). Médias seguidas por letras diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($P < 0,05$)

*CDA: coeficiente de digestibilidade aparente

**R/A: taxa de retenção e absorção

De acordo com os resultados, a ingestão de cobre foi maior para o grupo GS (0,1mg/dia) em relação aos demais, cujos valores médios oscilaram entre 0,03 e 0,05mg/dia. Além disso, estes grupos não apresentaram diferença estatística significativa entre si, porém diferiram do GS ($P < 0,00001$) quanto ao teor de cobre ingerido na dieta. Por outro lado, a absorção, o coeficiente de digestibilidade aparente e o balanço, tiveram tendência a valores negativos nos grupos alimentados com feijões. Estes índices negativos de utilização digestiva e metabólica do cobre foram, aparentemente, devido às perdas fecais e urinárias terem sido maiores que a ingestão. Isto pode ser indicação de interferência de fatores dietéticos presentes nas leguminosas, principalmente nos feijões, como a fibra alimentar e o ácido fítico (MARTÍNEZ-DOMÍNGUEZ e cols. 2002). Porém, a soja que contém mais ácido fítico e menor teor de fibras em relação aos feijões, não se observou tal efeito, pois o grupo tratado com dieta à base de soja apresentou índices de CDA e balanço positivos. Assim, outra possível hipótese para justificar os resultados encontrados com relação aos grupos tratados à base de feijão seria a possível interferência do cobre com as substâncias fenólicas e taninos contidas nestas sementes.

Por outro lado, a taxa de retenção e absorção variou largamente não diferindo estatisticamente entre os grupos à base de feijões. Os valores médios oscilaram entre 49,2% (GS) a 302,4% (Controle). Infelizmente, dados sobre a biodisponibilidade de cobre em leguminosas, seguindo o mesmo modelo experimental aqui aplicado, são escassos ou inexistentes até o presente.

Zinco

Os dados sobre a ingestão, excreção, absorção e índices de utilização digestiva e metabólica do zinco dos tratamentos Controle e experimentais estão apresentados na Tabela 16. De acordo com a análise de variância, existe diferença significativa ($P < 0,00001$) para os dados de excreção urinária, absorção e índices de utilização digestiva e metabólica do zinco.

De acordo com os resultados, a ingestão de zinco não diferiu estatisticamente entre os grupos tratados e Controle, variando em média de 0,2 – 0,3mg/dia. As perdas de zinco nas fezes oscilaram de 0,16mg/dia (GS) a 0,34mg/dia (GP), contudo estes resultados não diferiram estatisticamente entre si nem do grupo Controle. Dentre as leguminosas, o zinco proveniente da dieta à base de soja foi mais absorvido, contribuindo com o alto

índice de CDA, diferindo estatisticamente dos grupos à base de feijão ($P < 0,00001$). Por outro lado, os grupos tratados à base de feijão apresentaram índices de absorção, CDA e Balanço negativos. Já, a taxa de retenção e absorção do GS e GP foi nitidamente inferior aos demais grupos, apresentando valores negativos.

TABELA 16. Ingestão, absorção e balanço metabólico de zinco.

Zinco	Controle (AIN-93G)	GB (Feijão Branco)	GP (Feijão Preto)	GM (Feijão Carioca)	GS (Soja)
Zn ingerido (mg/d)	0,3 ± 0,05	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,03
Zn fecal (mg/d)	0,23 ± 0,1	0,21 ± 0,1	0,34 ± 0,3	0,24 ± 0,2	0,16 ± 0,1
Zn absorvido (mg/d)	0,04 ± 0,1b	-0,06 ± 0,8c	-0,14 ± 0,3c	-0,05 ± 0,2c	0,06 ± 0,1a
Zn urinário (mg/d)	0,03 ± 0,02b	0,01 ± 0,003b	0,25 ± 0,2a	0,01 ± 0,002b	0,23 ± 0,1a
CDA (%)*	13,8 ± 36b	-36,0 ± 52c	-62,6 ± 143c	-21,5 ± 96c	28,2 ± 51ab
Balanço (mg/d)	0,01 ± 0,1a	-0,07 ± 0,1c	-0,4 ± 0,3b	-0,05 ± 0,2c	-0,2 ± 0,1b
R/A (%)**	41,6 ± 213b	79 ± 59a	-2138 ± 5272c	87 ± 14a	-12321 ± 34579c

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=8). Médias seguidas por letras diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($P < 0,05$)

*CDA: coeficiente de digestibilidade aparente

**R/A: taxa de retenção e absorção

Estes dados diferem dos encontrados por Kannan e cols. (2001) em estudo sobre a biodisponibilidade de zinco em feijão preto, fermentado e germinado, como complemento alimentar em dietas pediátricas. Segundo os autores, a absorção de ^{65}Zn dos produtos fermentados foi de 79-87% e a porcentagem de retenção foi de 58-69,2%. Nos produtos germinados a absorção variou entre 75 e 87% e a porcentagem de retenção, de 65-72%. Estes resultados indicam que em dietas completas, os tratamentos à base de feijões fermentados proporcionaram um aumento na retenção de zinco, mas sem melhorar a absorção. A retenção de zinco foi significativamente alta nos ratos alimentados com os feijões fermentados e cozidos (69%), em comparação com os animais alimentados com feijões apenas cozidos (60%). Já, a absorção e a retenção foram significativamente aumentadas após tratamento de germinação, embora não tenham observado alterações nos níveis de fitatos nos tratamentos feijão cozido (14,9mg/g), fermentado-cozido (14,3mg/g) e germinado-cozido (15mg/g). Estudos anteriores sobre a biodisponibilidade de zinco em produtos à base de soja indicam alta

variação quanto à utilização deste mineral (ERDMAN e cols. 1980), mesmo em isolados contendo teores de fitatos iguais (LEASE, 1967), o que sugere que o teor de fitatos não pode ser o fator causador desta variação (PRATTLEY e cols. 1982).

De acordo com Yuyama e cols. (2005), o zinco pode estar presente na dieta associado a moléculas orgânicas (proteínas, fitatos e carboidratos) ou na forma de sais inorgânicos (como suplementos ou alimentos fortificados). Durante a digestão ocorre degradação das moléculas orgânicas e, provavelmente, dissociação dos sais inorgânicos que liberam o zinco do composto original. Apesar do pH ácido promover a solubilização do zinco, a absorção deste mineral no estômago é mínima.

Estudos realizados em humanos por Lee e cols. (1989) demonstraram que o zinco era absorvido em toda a extensão do intestino delgado, principalmente no jejuno. A cinética de absorção parece ser por difusão passiva e por processo mediado por carreadores localizados na borda em escova do enterócito. O zinco livre, por sua vez, pode se ligar novamente a outros compostos resultantes da digestão que estão presentes no lúmen, como peptídios, aminoácidos, ácidos orgânicos, fosfatos, prostaglandinas E2 e F2, ácido cítrico e ácido picolínico. A função da metalotioneína citoplasmática está na captação do zinco, podendo este elemento ser utilizado pelo enterócito ou passar para a circulação portal, onde será transportado pela albumina.

O zinco também pode ser perdido nas fezes, junto com enterócitos descamados, na renovação celular da mucosa (YUYAMA e cols. 2005). As perdas fecais de zinco são uma combinação de zinco dietético não absorvido e secreções endógenas deste mineral. As secreções pancreáticas são uma fonte importante de zinco endógeno. Outras fontes incluem secreções biliares e gastroduodenais, fluxo transepitelial de zinco a partir das células mucosas e descamação de células mucosas velhas para dentro do tubo digestivo. Em estudos de perfusão que cerca de 0,04 a 0,07mmol (2,5-4,8mg) de zinco são secretados para dentro do duodeno após a ingestão de uma refeição, presumivelmente sob a forma de secreções pancreáticas estimuladas pela refeição, e que grande parte do zinco secretado para dentro do tubo digestivo era absorvido e retornado ao corpo. Este mecanismo está sujeito a variações dependentes da ingestão alimentar de zinco. Em seres humanos, as perdas fecais endógenas podem variar de 15mmol/dia (<1mg/dia) com ingestões extremamente baixas, a mais de 80mmol/dia (>5mg/dia) com ingestões extremamente altas. As perdas urinárias de zinco variam de 6 a 9mmol/dia (400-600mg).

Estas perdas originam-se principalmente da porção ultrafiltrável do zinco plasmático, podendo ser influenciadas ainda pela quantidade de zinco ingerido, apresentando alta correlação com a taxa de produção urinária e a excreção de creatinina. Outras perdas de zinco corporal ocorrem na descamação da pele, crescimento de pêlos e suor contribuindo com perdas aproximadas de 15mmol/dia (1mg) (KING & KEEN, 2003).

Como acontece com a absorção da maioria dos minerais provenientes da dieta, a absorção de zinco pode ser influenciada por promotores ou antagonistas potenciais de absorção. Substâncias orgânicas solúveis de baixo peso molecular, como aminoácidos e hidroxíácidos, podem agir como ligantes, unindo o zinco e facilitando a absorção. Por sua vez, os componentes orgânicos que formam complexos estáveis e pouco solúveis com o zinco podem reduzir a absorção. Interações entre o zinco e outros íons com propriedades físico-químicas semelhantes (como o cádmio), quando presentes em excesso, podem diminuir a entrada de zinco na célula, seu transporte intestinal e, portanto, sua absorção. Três fatores provenientes da dieta foram identificados em estudos com isótopos em humanos como os mais importantes para a biodisponibilidade do zinco: hexafosfato de mio-inositol (fitato), teor de proteína na dieta e total de zinco na dieta (YUYAMA e cols. 2005).

Porém, para Martinez-Domínguez (2002), quando em um alimento confluem diferentes constituintes capazes de exercer uma ação antinutritiva frente a cátions, tal como os oxalatos, taninos, fibra alimentar e ácido fítico, resulta complicado estabelecer uma ordem de importância com relação às forças de união que cada um deles exerce. A maioria dos alimentos que apresentam elevado teor de ácido fítico são também boas fontes de fibra alimentar, a qual possui grande afinidade pelos minerais e ainda que os fitatos e a fibra alimentar sejam separados e avaliados independentemente nos diversos estudos, é difícil atribuir os efeitos negativos na biodisponibilidade mineral unicamente aos fitatos.

Retenção mineral e estudo histomorfométrico

O conteúdo de cálcio, magnésio, cobre e zinco, determinados por absorção atômica no tecido ósseo (fêmures de ambas extremidades), estão apresentados na Tabela 17.

TABELA 17. Quantificação de cálcio e magnésio, cobre e zinco (mg/g de osso) no fêmur dos animais submetidos a doze dias de tratamento.

Tratamentos	Ca (mg/g)	Mg (mg/g)	Cu (mg/g)	Zn (mg/g)
C (Controle AIN-93G)	60,5 ± 10a	2,6 ± 1b	0,008 ± 0,001	1,7 ± 2
GB (feijão branco)	30,5 ± 7b	1,5 ± 0,8b	0,007 ± 0,001	1,3 ± 2
GP (feijão preto)	29,7 ± 8b	1,6 ± 0,5b	0,013 ± 0,002	1 ± 1,6
GM (feijão Carioca)	51,2 ± 14a	1,9 ± 0,8b	0,008 ± 0,001	0,8 ± 0,3
GS (soja)	59,8 ± 16a	5,3 ± 7a	0,007 ± 0,001	0,90 ± 0,2

Valores expressos como média ± desvio padrão (n=8 animais/2 fêmures). Médias seguidas por letras diferentes na vertical indicam diferença estatística (P<0,05)

A análise de variância não indicou diferenças estatísticas significativas para a concentração de cálcio femoral entre os grupos GM, GS e Controle, cujos teores foram 51,2-60,5mg/g. Estes valores diferiram dos grupos GB e GP, cujos teores médios foram menores, ou seja, 30,5 e 29,7mg/g, respectivamente. Com relação ao magnésio, somente o grupo GS diferiu estatisticamente dos demais, superando também o grupo Controle em 104% e nos feijões, em 230%. Já os teores de cobre e zinco femoral não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos e o Controle.

Embora o cobre não faça parte da estrutura óssea, sua participação é vital na hidroxilação dos filamentos de colágeno pela lisina-oxidase. Sem a conversão das lisinas para hidroxilinas, as fibrilas imaturas de colágeno não desenvolverão ligações cruzadas, que são a base da resistência mecânica da matriz colagenosa madura do osso (STRYER, 1988 citado por AMAYA-FARFAN, 1994).

Resultados semelhantes foram encontrados por Nestares e cols. (2003) em ratos recém-desmamados submetidos à dieta exclusiva à base de feijão comum macerado, em soluções com diferentes pHs, e cozido. Segundo estes autores, o baixo conteúdo de cálcio femoral estava correlacionado com o baixo índice de balanço. Por outro lado, este efeito não foi observado para o teor de magnésio femoral. Já Urbano e cols. (1999) compararam a retenção de cálcio femoral de ratos submetidos exclusivamente a dietas à base de lentilhas in natura, cozidas e germinadas, cujos resultados demonstraram ser favoráveis para o grupo à base de lentilhas germinadas, devido principalmente a redução do teor de ácido fítico e conseqüentemente, aumento da absorção de cálcio. Nestares e cols. (1997) observaram que dietas à base de grão-de-bico proporcionavam boa

retenção de cálcio e magnésio femoral, com resultados próximos e até superiores aos apresentado pelo grupo Controle.

O mecanismo pelo qual a mineralização ocorre não está claro, embora se acredite que as vesículas da matriz extracelular (produzidas pelos osteoblastos) iniciem a mineralização concomitantemente com a remoção dos inibidores da mineralização, tais como o pirofosfato e adenosina trifosfato (ATP) da matriz, ou pelo aumento da concentração local de cálcio e fosfato que possibilitam a cristalização. Os cristais de hidroxiapatita podem entesar os cátions e ânions provenientes da dieta para dentro da treliça. Magnésio ou estrôncio podem substituir o cálcio nos cristais entrelaçados, resultando em cristais menores e imperfeitos, enquanto a incorporação de fluoreto aumenta o tamanho dos cristais e diminui a solubilidade. Embora o cálcio predomine em estudos sobre metabolismo do esqueleto, principalmente por ser o mais abundante elemento mineral presente no tecido ósseo, que pode chegar a constituir até 2kg do total de massa óssea, ou 99% do total de cálcio corporal (BERNE e cols. 2004), vários outros minerais têm sido apontados como essenciais à manutenção do tecido ósseo como fósforo, flúor, magnésio, zinco, manganês, cobre, boro, silício, vanádio (AMAYA-FARFÁN, 1994).

Apesar do conteúdo mineral femoral dos grupos experimentais GM e GS, tenha indicado uma deposição de cálcio semelhante ao grupo Controle e não terem sido observadas significativas diferenças para o conteúdo de magnésio e zinco entre os tratamentos, como mostrou a análise de variância (Tabela 17), as medidas da altura média da cartilagem de crescimento e espessura do osso cortical da diáfise da tíbia foram significativamente diferente ($P < 0,00001$) entre os grupos e o Controle, como pode ser observado nas Figuras 2 e 3. A altura média da cartilagem de crescimento do osso cortical da tíbia dos animais dos tratamentos variou entre 290mm (GP) e 330mm (GS), diferindo estatisticamente ($P < 0,00001$) do grupo Controle o qual apresentou maior média, ou seja 742mm. Contudo, os tratamentos de leguminosas não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre as médias, que foram de 290-303mm (Figura 3).

De maneira semelhante, os tratamentos diferiram do Controle quanto à espessura média do osso cortical da diáfise da tíbia ($P < 0,00001$). Dentre os tratamentos, os grupos GB e GP apresentaram as maiores médias, 195 e 190mm respectivamente, em

comparação com os grupos GM e GS, cujos valores foram 160 e 170mm, respectivamente (Figura 3).

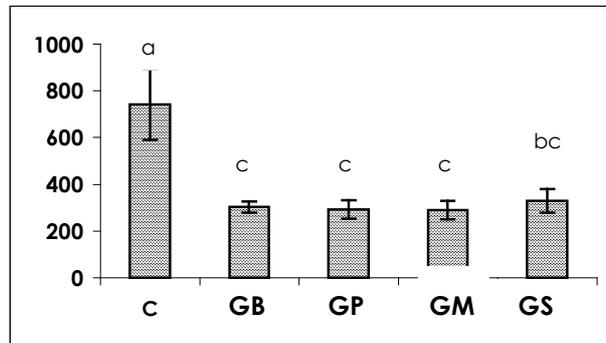


FIGURA 2. Altura média (μm) da cartilagem de crescimento do osso cortical da tíbia (direita e esquerda) dos animais ($n=2$)

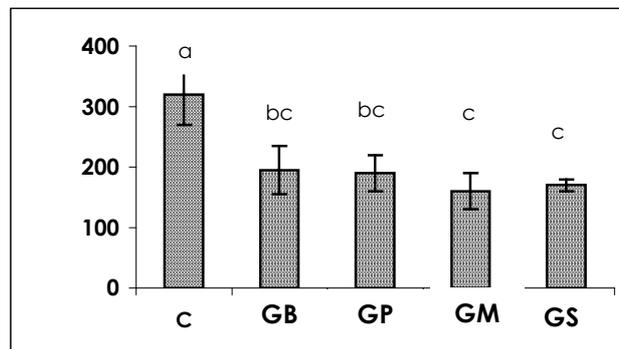


FIGURA 3. Espessura média (μm) do osso cortical diáfise da tíbia (direita e esquerda) dos animais ($n=2$)

Estes resultados indicam que o cálcio proveniente das dietas, não foi suficiente para promover crescimento ósseo adequado como no grupo Controle, o qual superou, em média de 60% os grupos experimentais, como pode ser observado nas imagens histológicas (Fig. 4). Porém, nas condições aplicadas, não se observou muita diferença histológica entre os grupos com leguminosas, mas todos eles mostram diferenças histomorfológicas com a dieta padrão.

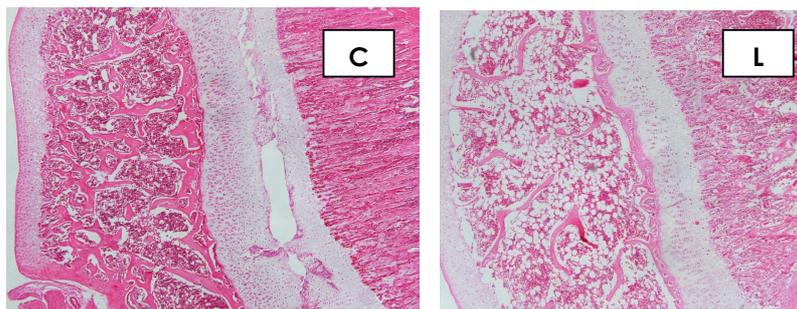


FIGURA 4. Imagens histológicas do osso cortical da tíbia dos ratos com 35 dias (n=2) tratados com dieta Controle (C) e leguminosas (L) (HE; 10X)

A espessura do osso cortical da diáfise da tíbia do grupo Controle superou em 40% os valores médios dos grupos experimentais, o que indica mobilização de cálcio dos reservatórios de troca rápida que estão provavelmente localizados na superfície de ossos recente ou parcialmente mineralizados. Assim, a quantidade de massa óssea presente no esqueleto é o resultado da formação e da reabsorção. Este *turnover* está diretamente relacionado à necessidade corporal de manter uma concentração fisiológica de cálcio ionizado nos fluídos orgânicos e, especialmente, à necessidade de manter a integridade estrutural do esqueleto (BERNE e cols. 2004).

CONCLUSÃO

Pelo exposto, conclui-se que:

- Os índices de absorção e balanço metabólico de cálcio foram relativamente similares entre as cultivares de feijão e soja, não sendo possível identificar a interferência da fibra alimentar e a concentração de fitatos nos resultados obtidos. Contudo, a taxa de retenção e absorção de cálcio para todos os tratamentos à base de leguminosas, foi superior a 90%;
- Com relação ao magnésio, as cultivares de feijão Carioca (cv. Pérola) e soja (cv. Conquista) promoveram resultados semelhantes à dieta padrão quanto ao índice de digestibilidade aparente. Com relação aos índices de balanço e taxa de retenção e absorção, as cultivares de feijão preto (cv. Valente), Carioca (cv. Pérola) e soja (cv.

Conquista) apresentaram resultados positivos em relação a cultivar de feijão branco (cv. Ouro Branco) e também à dieta Controle;

- Os índices metabólicos de balanço e coeficiente de digestibilidade aparente do cobre mostraram-se negativos nas cultivares de feijão branco (cv. Ouro Branco), preto (cv. Valente) e Carioca (cv. Pérola), indicando interações com os compostos antinutricionais não-protéicos. Por outro lado, estas cultivares apresentaram alta taxa de retenção e absorção, superando a soja (cv. Conquista). Contudo, a dieta à base de soja teve o maior índice de digestibilidade aparente entre todos os grupos;

- Com relação ao zinco, a dieta à base de soja promoveu maior coeficiente de digestibilidade aparente, superando também a dieta Controle. Por outro lado, os índices de balanço e taxa de retenção e absorção foram baixos e com valores negativos tanto no grupo GS como também no GP, indicando possíveis interações com os fitatos; já os grupos BG e GM apresentaram alta taxa de retenção e absorção de zinco, superando também o grupo Controle, embora ambos tenham apresentado valores negativos de balanço e coeficiente de digestibilidade aparente;

- Os estudos histomorfométricos não indicaram diferenças significativas entre os tratamentos à base de feijão e soja. Por outro lado, a baixa ingestão de cálcio devido ao baixo consumo das dietas à base de leguminosas, promoveu profundos efeitos no sistema esquelético dos animais, como redução da altura da cartilagem de crescimento e da espessura óssea, apesar da retenção mineral de cálcio femural ter sido significativamente melhor nos grupos tratados com feijão Carioca (cv. Pérola) e soja (cv. Conquista).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 40ª ed. Washington, 1984.

ALMEIDA, A. A. **Procedimento operacional padrão para operação do espectrofotômetro de absorção atômica (GBC AA 932)**. Centro de Assistência Toxicológica (CEATOX), Universidade Estadual Paulista UNESP, Botucatu. 2002.

AMAYA-FARFÁN, J. Fatores nutricionais que influem na formação e manutenção do osso. **Rev. Nutr.** v. 7, n. 2, p. 148-172, 1994.

ANDRADE, E.C.B. et al. Composição dos teores de cobre e zinco em leguminosas cruas e após serem processadas termicamente em meio salino e aquoso. **Ciênc. Tecnol. Alim.** Campinas, v.24, n. 3, p. 316-318, jul.-set. 2004.

BARAMPAMA, Z. & SIMARD, R. E. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) grown in Burundi. **Food Chem.** v. 47, p. 159-167, 1993.

BARRUETO-GONZÁLEZ, N. B. & AMAYA-FARFAN, J. **Caracterização química parcial e avaliação nutricional de uma mistura de aminoácidos sintéticos.** 2000. 79p. Dissertação (Mestrado em Ciências Nutricionais), Universidade Estadual de Campinas.

BEEBE, S.; GONZALEZ, A. V.; RENGIFO, J. Research on trace element minerals in the common bean. **Food Nutr. Bull.** v. 21, p. 387-391, 2000.

BEJARANO-LUJÁN, D. L. & COSTA, N. M. B. **Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade protéica, na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos.** 2004. 108p. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição), Universidade Federal de Viçosa.

BERNE, R. M. et al. **Fisiología.** Elsevier, 5ª. ed, p. 845-869. 2004.

BLIGH, E. G. & DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian **J. Biochem. Physiol.** v.37, p.911-917, 1959.

BORKET, C.M.; LANTMANN, AF. Enxofre e micronutrients na agricultura brasileira. In: **Reunião brasileira de fertilidade do solo**, 17, 1988, Londrina. Brasília, DF: EMBRAPA, CNPq/IAPAR/BCS, 1988. 317p.

CAFÉ, MB, SAKOMURA, NK, JUNQUEIRA, OM et al. Determinação do valor nutricional das sojas Integrais processadas para aves. **Rev. Bras. Cienc. Avic.** jan./abr., v. 2, n.1, p. 67-74, 2000.

CANNIATTI-BRAZZACA, S. G.; MANCINI FILHO, J. LAM-SANCHÉS, A. Melhoramento genético na qualidade nutricional de alimentos vegetais: I. generalidades, valor tecnológico. Proteínas e aminoácidos. Cereais. **Cad. Nutr. SBAN**, v. 5 p. 36-62, 1992.

CARBONARO, M., et al. Solubility-digestibility relationship of legume proteins. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p. 3387-3394, 1997.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** v.13 n. 4, p. 297-335, 1980.

COELHO, R. G. Considerações sobre as proteínas de feijão. **Rev. Nutr.** v.4 (1/2), p. 122-145, jan./dez., 1991.

COELHO, R. G.; DOMENE, S. M. A. Interações nutricionais. In: Reis, N. T. **Nutrição clínica – interações.** Rio de Janeiro, Rúbio, p. 367-391, 2004.

CONAB – Centro Nacional de Abastecimento, 2005. Disponível em: www.conab.gov.br

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. **Rev. Nutr.** v. 10, n. 2, p. 87-98, jul./dez., 1997.

COSTA DE OLIVEIRA, A. et al. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais, fitatos e taninos, no teor de amido resistente e em fatores de flatulência, rafinose, estaquiose e verbascose. **Arch. Latinoam. Nutr.** v. 5, n. 3, p. 276-283, 2001.

CRAWFORD, A M. **Alimentos, seleção e preparo.** 2ª. ed. Rio de Janeiro, Record, p. 246-258, 1986.

CRUZ, G. A D. R. **Avaliação da qualidade e digestibilidade in vivo da proteína de cultivares de feijão (*P. vulgaris*)** Viçosa, MG: UFV, 2000. 72p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2000.

CRUZ, G. A D. R. et al. Avaliação da digestibilidade protéica, inibidor de protease e fibras alimentares de cultivares de feijão (*P. vulgaris*). **Braz. J. Food Technol.** v. 7, n. 2, p.103-109, jul/dez., 2004.

DOMENE, S. M.; TORIN, H. R.; AMAYA-FARFAN, J. Dietary zinc improves and calcium depresses growth and zinc uptake in rats fed rice bran. **Nutr. Res.** v. 21, p. 1493-1500, 2001.

EGGUM, B. O et al. Nutritive quality and energy yield of high oil, opaque-2 and waxy maize hybrids. **Qual. Plant Food Hum. Nutr.** v. 35, n. 2, p. 165-174, 1985.

ELKIM, R. G. & WASYNESUK, A. M. Amino acid analysis of feedstuff hidrolysates by precolumn derivatization with phenylisothiocyanate and reversed – phase high performance liquid chromatography. **Cer. Chem.** v. 64, n. 4, p. 226-229, 1987.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistema de produção de cultivares de soja.** In: _____. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/pesquisa/feijao.htm>> Acesso em 11 de setembro de 2003.

ERDMAN, J.R. et al. Zinc and magnesium bioavailability from acid-precipitated and neutralized soybean protein products. **J. Food Sci.** v. 45, p.1193-1199, 1980.

FARIA-OLIVEIRA, O. M.; BELDA, M. C. R.; SHINOHARA, L. N. Resposta da atividade enzimática hepática e cerebral em função de diferentes níveis de restrição alimentar: I-fosfatase alcalina e amilase. **Rev. Alim. Nutr. UNESP**, v. 1, p. 87-108, 1989.

FERREIRA, K. S.; GOMES, J. C.; BELLATO, C. R. Concentrações de cálcio e de magnésio em alguns alimentos consumidos no Brasil. **Braz. J. Food Technol.** v.4, p.123-130, 2001.

GRUSAK M. A. Enhancing mineral content in plant food products. **J. Am. Coll. Nutr.** v. 21, p. 178S-183S, 2002.

GRUSAK, M. A. & DELLAPENNA, D. Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health. **Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 50, p. 133-161, 1999.

HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of aminoacids in foods. **J. Assoc. Anal. Chem.** v. 2, n. 06,1989.

HEGSTED, D. M. Calcium and osteoporosis. **J. Nutr.** v. 116, p. 2316-2319, 1986.

HELBIG, E. et al. Effect of soaking prior to cooking on the levels of phytate and tannin of the common bean (*Phaseolus vulgaris*, L) and the protein value. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** v. 49, p. 81-86, 2003.

IYER, V. et al. Quick-cooking beans (*Phaseolus vulgaris* L.): II. Phytates, oligosaccharides, and antienzymes. **Plant Food Hum. Nutr.** v. 30, p. 45-52, 1980.

KANNAN, S. et al. Iron and zinc bioavailability in rats fed intrinsically labeled bean and bean-rice infant weaning food products. **J. Agric. Food Chem.** v. 49, p. 5063-5069, 2001.

KING, J. C. & KENN, C. L. Zinco. In: SHILS, M. E. et al. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**, v.1, p. 239-256. Manole, São Paulo, 2003.

KON, S. & SANSHUCK, D. W. Phytate content and its effects on cooking quality of beans. **J. Food Process. Preserv.** v.5, p. 169-178, 1981.

LAM-SANCHÉS, A. Contribuição da genética na produção de alimentos. In: **Jornada sobre temas de genética e melhoramento vegetal**, Jaboticabal, 1990. Anais. Jaboticabal, FUNEP, p. 58-71, 1990.

LATTA, M. & ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **J. Agric. Food Chem.** v.28, n. 5, p. 1313-1315, 1980.

LEASE, J. G. Availability to the chick of zinc-phytate complexes isolated from oilseed meals by an in vitro digestion method. **J. Nutr.** v. 93, p.523-532, 1967.

LEE, H. H. Et al. Zinc absorption in human small intestine. **Am. J. Physiol.** v. 256 (Gastrointest Liver Physiol. n. 19), p. G87-G91, 1989.

MANDARINO, J.M.G. & CARRÃO-PANIZZI, M. C. **A soja na cozinha**. Londrina: EMBRAPA Soja, 1999, 59p.

MARTINEZ-DOMÍNGUEZ, B. M., IBAÑES GÓMES, M. V. e RINCÓN LÉON, R. Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Arch. Latinam. Nutr.** v. 52, n. 3, p. 219-231, 2002.

MENDES, W. S. et al. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 56, n. 2, p. 207-213, 2004.

MESSINA, M. J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **Am. J. Clin. Nutr.** v.70(suppl), p. 439S-450S. 1999.

National Research Council. **Nutrient requirements of laboratory animals**. 4ed. Rev. Washington, DC: National Academy Press, 1995.

NESTARES, T. et al. Effect of different soaking solution on nutritive utilization of minerals (calcium, phosphorus, and magnesium) from cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in growing rats. **J. Agric. Food Chem.** v. 51, p. 515-520, 2003.

NESTARES, T. et al. Effect of processing methods on the calcium, phosphorus, and phytic acid contents and nutritive utilization of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **J. Agric. Food Chem.** v. 47, p. 2807-2812, 1999.

NESTARES, T. et al. Nutritional assessment of magnesium from raw and processed chickpea (*Cicer arietinum* L.) in growing rats. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p. 3138-3142, 1997.

OLIVEIRA AC, QUEIROZ KS, HELBIG E, REIS SM, CARRARO F. The domestic processing of the common bean resulted in a reduction in the phytates and tannins antinutritional factors, in the starch content and in the raffinose, stachiose and verbascose flatulence factors. **Arch Latinam. Nutr.** v. 51, n. 3, p. 276-283, 2001.

PORRES, J.M. et al. Effect of natural and controlled fermentation on chemical composition and nutrient dialyzability from beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **J. Agric. Food Chem.** v. 51, p. 5144-5149, 2003.

PORRES, J. M. et al. Bioavailability of phytic acid-phosphorus and magnesium from lentils (*Lens culinaris* M.) in growing rats: influence of thermal treatment and vitamin-mineral supplementation. **Nutrition**, v. 20, p. 794-799, 2004.

PRATTLEY, C.A et al. Protein-phytate interaction in soybeans. III The effect of protein-phytate complexes on zinc bioavailability. **J. Food Biochem.** v. 6, p. 273-282, 1982.

PROULX, W. R. et al. Trypsin inhibitor activity and tannin content do not affect calcium bioavailability of three commonly consumed legumes. **J. Food Sci.** v. 58, n. 2, p. 382-384, 1993.

RABOY, V. Progress in breeding low phytate crops. In: Symposium: Plant Breeding: A new Tool for Fighting Micronutrient Malnutrition. **J. Nutr.** v.132, p. 503S-505S, 2002.

REDDY, N. R. et al. Chemical, nutritional and physiological aspects of dry bean carbohydrates. **Food Chem.** v. 13, p. 25-69, 1984.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76 A rodent diet. **J. Nutr.** v. 123, p 1939-1951, 1993.

SANDBERG, A. S. Bioavailability of mineral in legumes. **British J. Nutr.** v.88 (Suppl 3), p. S281-285, 2002.

SATHE, S. K. Dry bean protein functionality. **Critical Rev. Biotechnol.** vol. 22, n. 2, p. 175-223, 2002.

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento.** São Paulo, UNICAMP, ALMED, p. 260, 380-381. 1987.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações,** Varela, São Paulo, p. 205-229, 1996.

SHILS, M. E. Magnésio. In: SHILS, M. E. et al. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença,** Manole, São Paulo, v.1, p. 181-205, 2003.

STRAIN, J.J. & CASHMAN, K.D. Minerais e oligoelementos. In: GIBNEY et al. **Introdução à nutrição humana.** The Nutrition Society (Grã-Bretanha). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 162-200, 2005.

TORIN, H. R & AMAYA-FARFAN, J. **Dietas a base de farelo de arroz. Efeito na composição mineral do fêmur de rato, avaliado por processamento da imagem radiográfica.** 1996. 104p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

URBANO, G. et al. Ca and P bioavailability of processed lentils as affected by dietary fiber and phytic acid content. **Nutr. Res.** v. 19, p. 49-64, 1999.

van DOKKUM, W. The concept of mineral bioavailability. In: **Bioavailability of micronutrients and minor dietary compounds. Metabolic and technological aspects.** Ed. Research Signpost. Ed. M. Pilar Vaquero, Trinidad García-Arias, Ángeles Carvajal and Francisco José Sánchez-Muniz. Kerala, India, p. 1-18, 2003.

WANG, T. L. et al. Can we improve the nutritional quality of legume seeds? **Plant Physiol.** v. 131, p. 886-891, 2003.

WELCH, R. M. et al. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **J. Agric. Food. Chem.** v.48, p.3576-3580, 2000.

WHITE, J. A. & KRY, J. C. An evaluation of the Waters pico-tag system for the amino acid analysis of food material. **J. Clin. Lab. Autom.** v. 8, 1986.

WILLIAMS, P. C. The use of titanium dioxide as a catalyst for large scale Kjeldahl determination of the total nitrogen content of cereal grains. **J. Sci. Food Agric.** v. 24, p. 343-48, 1973.

YUYAMA, L. K. O et al. Zinco. In: **Biodisponibilidade de nutrientes.** COZZOLINO, S. M. F. São Paulo, Manole, p. 513-538, 2005.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As leguminosas são importantes fontes alimentares e o desenvolvimento de novas variedades, com alto desempenho de produção, resistência a doenças e características sensoriais desejáveis, é um fator relevante para a segurança alimentar e nutricional. Tal enfoque é tema atual e de preocupação global no combate à escassez de alimentos e consequentemente, de recursos naturais.

Como foi observado no decorrer do trabalho, apesar das leguminosas pertencerem à mesma família botânica, a composição nutricional destas variedades de diferiu nas concentrações de proteínas, perfil aminoacídico e também de minerais, principalmente nos teores de cálcio e cobre. Porém, é sabido que o valor nutritivo do alimento é determinado também pela presença ou ausência de fatores promotores ou inibidores de absorção, como os fitatos. Assim, de acordo com o protocolo experimental aplicado para o estudo da biodisponibilidade de minerais, *in vivo*, ficou confirmada a relação entre a concentração de ácido fítico das leguminosas e a redução da absorção de cobre e zinco. Porém, contrariando a literatura, o mesmo não foi observado para o cálcio e o magnésio.

Considerando a importância do ácido fítico para o armazenamento do fósforo inorgânico nas plantas, a seleção genética de cultivares de leguminosas com teores reduzidos de fitatos poderá contribuir com a melhoria da biodisponibilidade de diversos minerais de relevância nutricional. Todavia não se pode excluir a importância dos estudos de biodisponibilidade de minerais em variedades de leguminosas de consumo regional, já que o Brasil apresenta grande diversidade de ecossistemas com características edafoclimáticas variadas. Sendo possível assim, identificar e incentivar o consumo daquelas que mais se destacaram na capacidade de armazenar nutrientes.

Anexo

Protocolo Comissão de Ética na Experimentação Animal



Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 799-1, sobre "BIODISPONIBILIDADE DE MINERAIS EM LEGUMINOSAS" sob a responsabilidade de Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfan / Norka Beatriz Barrueto González está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 06 de abril de 2005.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 799-1, entitled "MINERAL BIOAVAILABILITY IN LEGUMES", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on April 6, 2005.

Campinas, 06 de abril de 2005.

Profa. Dra. Liana Verinaud
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Fátima Alonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP