

COMPARAÇÃO QUÍMICA E ENZIMÁTICA DE SEIS LINHAGENS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

ANA MARIA ESTEVES¹
CELESTE MARIA PATTO DE ABREU²
CUSTÓDIO DONIZETE DOS SANTOS³
ANGELITA DUARTE CORRÊA²

RESUMO – O feijão é uma importante fonte de proteína na dieta do povo brasileiro, estando presente na alimentação da população rural e urbana, que tem preferência pelo produto de colheita mais recente, já que o tempo de cocção é menor. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de comparar seis linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L), por meio de análises químicas e enzimáticas dos grãos, após a colheita. Os feijões foram provenientes do Departamento de Biologia, Setor de Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Lavras (UFLA)/Lavras/MG. A colheita foi realizada em

novembro/1999, sendo os feijões secos ao sol até umidade entre 12 e 14%. Os grãos secos foram moídos em moinho refrigerado e guardados em frascos de vidro, em temperatura ambiente, até a realização das análises. A linhagem G2333 (tegumento vermelho e baixa absorção de água) apresentou os maiores teores de lignina e polifenóis e maior atividade da enzima peroxidase, enquanto a linhagem IAC-Carioca-Aruã (tegumento bege e alta absorção de água) apresentou teores mais baixos de polifenóis e lignina.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Feijão, lignina, polifenóis, peroxidase, *Phaseolus vulgaris*.

CHEMICAL AND ENZYMATIC COMPARISON OF SIX BEAN LINEAGES (*Phaseolus vulgaris* L.)

ABSTRACT – Common beans are an important protein source in the diet of the Brazilian people, being present in the diet of the rural and urban population, which have preference for the product of recently harvested crops, since the time of cooking is shorter. This work was developed with the objective of comparing six bean lineages (*Phaseolus vulgaris* L), through chemical and enzymatic analyses of the grains. The beans were brought to the Department of Biology, of the Federal University of Lavras(UFLA)/Lavras/MG. They were

picked in November/1999, dried in the sun until humidity reached 12 to 14%. The dry grains were minced in refrigerated mill and kept in glass flasks, at room temperature, until the accomplishment of the analyses. The lineage G2333 (red tegument and low absorption of water) presented the highest lignin and polyphenols contents and larger activity of the enzyme peroxidase, while the lineage IAC-carioca-Aruã (beige tegument and high absorption of water) presented less content of polyphenols and lignin.

INDEX TERMS: Common beans, lignin, polyphenols, peroxidase, *Phaseolus vulgaris*.

INTRODUÇÃO

Entre os vegetais, as leguminosas constituem uma boa alternativa de proteínas e carboidratos, sendo um dos principais suplementos protéicos em áreas onde fontes de proteína animal são escassas ou caras.

A preferência do consumidor brasileiro é pelo produto de colheita mais recente, já que a qualidade do feijão é afetada no decorrer do tempo de armazenamento. Essa perda de qualidade é manifestada pelo aumento no grau de dureza do feijão, causando aumento no tempo de cozimento, além de alterações no sabor e escurecimento do tegumento.

1. Bioquímica., Ms. Ciência dos Alimentos da UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS/UFLA – Caixa Postal 37, 37200-000 – Lavras, MG.

2. Engenheiro Agrônomo, DS. Ciência dos Alimentos, Professor Adjunto do Departamento de Química/UFLA. Bolsista de Produtividade do CNPq.

3. Professor titular do Departamento de Química/UFLA.

Geralmente, o feijão é embebido em água à temperatura ambiente por aproximadamente 12 a 14 horas, fazendo com que o tempo de cozimento seja reduzido. Esse tempo de embebição é suficiente para hidratar feijões secos que serão enlatados (Junek et al., 1980).

O endurecimento dos tecidos vegetais da bainha das vagens de muitas espécies de leguminosas, que acontece pouco depois da colheita, está relacionado com a biossíntese dos compostos da parede celular, entre eles a lignina. A lignificação das membranas celulares lhes proporciona uma considerável resistência e rigidez. A formação de lignina devida à polimerização de fenóis pode estar relacionada com a enzima peroxidase. Essa enzima pode estar envolvida no processo de lignificação da lamela média dos cotilédones (Hincks & Stanley, 1987). A contribuição dos polifenóis no endurecimento dos feijões pode também estar associada com a formação de complexos proteíno-lignínicos. Os polifenóis podem ser responsáveis pelo endurecimento dos feijões por meio de dois mecanismos: por sua polimerização na casca ou pela lignificação dos cotilédones, ambos afetando a capacidade de hidratação das sementes; o primeiro, dificultando a penetração da água, e o segundo, limitando a capacidade de embebição (Moura, 1998).

A oxidação enzimática de compostos fenólicos pela peroxidase e polifenoloxidase resulta, reconhecidamente, no escurecimento de tecidos vegetais (Whitehead & Swardt, 1982). A peroxidase é um membro da família das enzimas chamadas oxirredutases, que catalisam a oxidação de amins aromáticas e fenóis pelo peróxido de hidrogênio (Moura, 1998). Ela catalisa a reação geral: $ROOH + AH_2 \rightarrow H_2O + ROH + A$, em que, ROOH pode ser HOOH ou outro peróxido orgânico, como éter peróxido, peróxido de hidrogênio etílico ou peróxido butílico (Fox, 1991).

Neste trabalho, compararam-se seis linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), por meio de análises químicas e enzimáticas, após a colheita e secagem, com a finalidade de fornecer subsídios aos melhoristas.

MATERIAL E MÉTODOS

Linhagens de Feijão

Foram utilizadas seis linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): G2333, Carioca 80, Amarelinho, IAC-Carioca-Aruã, CI.107 e Ouro Negro. Elas foram fornecidas pelo Departamento de Biologia, Setor de Genética e

Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Lavras (UFLA) / Lavras – MG, tendo sido cultivadas no campus da UFLA. Após a colheita das vagens, o feijão foi seco ao sol até atingir umidade de 12 a 14%. Os grãos foram moídos em moinho refrigerado e as farinhas guardadas em frasco de vidro em freezer para realização das análises. Para transformação dos dados em base seca (b.s.), a farinha foi seca em estufa a 105°C até peso constante.

Lignina

Os teores de lignina foram determinados pelo método gravimétrico de oxidação da lignina por permanganato de potássio, proposto por Van Soest citado por Silva (1981), na fibra detergente neutro/ácido. Os resultados foram expressos em g/100 g de farinha b.s.

Polifenóis

Foram extraídos pelo método de Swain & Hillis (1959) utilizando metanol 80% (p:p) como extrator e dosados de acordo com método de Folin-Denis, descrito pela AOAC (1990), usando ácido tânico como padrão. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido tânico/100 g farinha em b.s.

Atividade da Enzima Peroxidase

A atividade da enzima peroxidase expressa em unidade/g de farinha b.s./minuto) foi determinada de acordo com a técnica descrita por Fermann & Diamond (1967), com algumas modificações. O extrato enzimático foi obtido pela homogeneização de 0,5 g de farinha em 15 mL de tampão fosfato 0,1 mol.L⁻¹, pH 6,0, durante 3 minutos a 4°C. Um mL de extrato enzimático foi incubado com 0,4 mL de peróxido de hidrogênio a 3 g/100g e 2,0 mL de tampão citrato fosfato 0,1 mol.L⁻¹, pH 5,0 e 4,0 mL de guaiacol 0,5 g/100g durante 15 minutos a 30°C. Após serem retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 470 nm. Uma unidade enzimática foi considerada como a quantidade de enzima que provocou o aumento de 0,001 unidade de absorvância por minuto de reação, nas condições de ensaio. A atividade enzimática da peroxidase foi expressa em unidade/g de farinha/minuto.

Absorção de água

Os grãos das seis linhagens de feijão foram submetidos ao teste de absorção de água, durante o período

de 4 horas; a cada intervalo de uma hora, as amostras foram pesadas. Empregou-se a relação água destilada e peso de amostra de 4:1, ou seja, 80 g de água destilada para cada 20 g da amostra de feijão. Inicialmente foi colocada, em becker de 100 mL, uma cesta de plástico de mesma forma e tamanho; logo em seguida, foram adicionados 80 g de água destilada. Feito isso, foi retirada a cesta de cada becker e após um período de 2 minutos de descanso, foi feita a pesagem da cesta, convertendo a um fator de correção. Em seguida, foram pesados 20 gramas de grãos de feijão, que foram adicionados nas cestas e, em seguida, nos beckers contendo água destilada. Assim, iniciou-se a contagem do tempo de absorção de água. Após cada intervalo de uma hora, retirou-se a cesta, deixando descansar durante um período de 2 minutos; em seguida, a cesta com grãos foi pesada (cesta + água destilada + grãos). Após o intervalo de 4 horas, foi calculada a quantidade de água absorvida pelos grãos. A capacidade máxima de absorção é aparente, pois a quantidade de água foi calculada com base no ganho de peso dos grãos. As absorções foram calculadas em 100 g de grãos. As absorções foram expressas em g/100 g de farinha b.s. (Dovlo, 1977).

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos (seis linhagens) e 4 repetições. As comparações múltiplas entre as médias

dos parâmetros estudados foram realizadas utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Lignina

Houve diferença significativa entre as linhagens estudadas para os teores de lignina. De acordo com a Figura 1, os teores de lignina expressos em g/100g farinha b.s., foram de 1,72 (Amarelinho), 1,70 (Ouro Negro), 1,70 (Carioca-80), 1,51 (G2333), 1,27 (CI 107) e 0,96 (IAC-Carioca-Aruã). A linhagem Amarelinho apresentou teor mais elevado de lignina, e a linhagem IAC-Carioca-Aruã, o teor mais baixo. Esses resultados estão próximos aos teores encontrados por Champ et al. (1986), ou seja, entre 1,2 e 1,7g/100 g, e por Sris uma et al.(1991), que são de 1,4 e 1,9g/100 g.

A lignificação das membranas celulares lhes proporciona uma considerável resistência e rigidez (Fenema, 1993) e está relacionada a maiores teores de polifenóis. Pode-se observar na Figura 2 que a linhagem IAC-Carioca-Aruã apresentou o teor mais baixo de polifenóis e também os menores teores de lignina (Figura 1). Como conseqüência, foi a linhagem que apresentou a maior capacidade de absorção de água. Já para a linhagem G 2333 e Amarelinho, ocorreu o inverso.

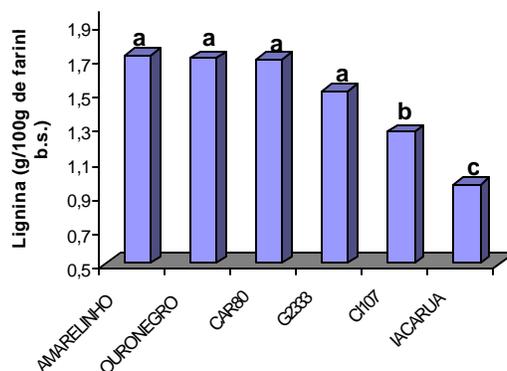


FIGURA 1 – Teores médios de Lignina das farinhas de seis linhagens de feijão. Letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Polifenóis

Houve diferença significativa entre as linhagens para o teor de lignina. A linhagem G 2333 foi a que apresentou o teor mais elevado de polifenóis entre as linhagens estudadas, tendo um teor médio de 830,71 mg de equivalentes de ácido tânico/100 g de farinha b.s.(Figura 2). A linhagem IAC-Carioca-Aruã foi a que apresentou o teor mais baixo de polifenóis (537,82 mg de equivalentes de ácido tânico/100 g de farinha b.s.). Rios (2000) encontrou teores médios entre 410 e 450 mg de equivalentes de ácido tânico/100 g de farinha b.s. em três cultivares de feijão logo após a colheita, valores esses inferiores aos encontrados neste trabalho.

De acordo com Tibúrcio (1992), o teor de polifenóis em feijão, independente das condições de armazenamento e época de plantio, é cerca de 7 a 11 vezes maior na casca que no resto do grão.

Moura (1998) relacionou a cor do tegumento com os polifenóis, pois os feijões de tegumentos mais claros apresentaram decréscimos nos polifenóis após o armazenamento, enquanto outra cultivar com tegumento mais escuro apresentou aumento após armazenamento.

O teor de polifenóis parece influenciar a capacidade de hidratação dos grãos, uma vez que a linhagem que apresentou teor mais elevado de polifenóis foi a que apresentou menor capacidade de absorção de água, e a que apresentou menores teores de polifenóis absorveram maior quantidade de água.

Segundo Bressani et al. (1988), há relação entre a intensidade de coloração da casca e o teor de polifenóis, fato confirmado neste trabalho, pois a linhagem G 2333

apresenta coloração vermelha, ao passo que a linhagem IAC-Carioca-Aruã apresenta coloração clara (tipo carioca). Esse fato também foi observado por Iaderoza et al. (1989), os quais observaram que as amostras claras tiveram concentração de polifenóis menor do que nas amostras escuras para as cultivares Carioca e Catu estudadas. Moura (1998) também relacionou a cor do tegumento com os fenólicos, pois os feijões CMG e H4, de tegumentos mais claros, apresentaram um decréscimo nos teores de polifenóis após o armazenamento, enquanto a cultivar Carioca (com tegumento mais escuro após armazenamento) apresentou leve aumento nos seus níveis de polifenóis.

Atividade da Peroxidase

Observou-se que a atividade da peroxidase (PER) apresentou diferença significativa entre as seis linhagens estudadas. A linhagem G 2333 foi a que apresentou maior atividade enzimática (634,54 U/g de farinha) (Figura 3) e a Ouro Negro, a menor atividade (431,74 U/g farinha). Esses valores estão próximos aos encontrados por Rios (2000), que foi de 680,20 U/g de farinha para a atividade dessa enzima, para feijões colhidos em época normal e analisados logo após a colheita.

A oxidação enzimática de polifenóis pela PER e polifenoloxidase resulta no escurecimento de tecidos vegetais (Whitehead & Swardt, 1982). Em caso de armazenamento, a G2333 apresentará maior escurecimento por apresentar teor mais elevado de polifenóis e maior atividade da PER.

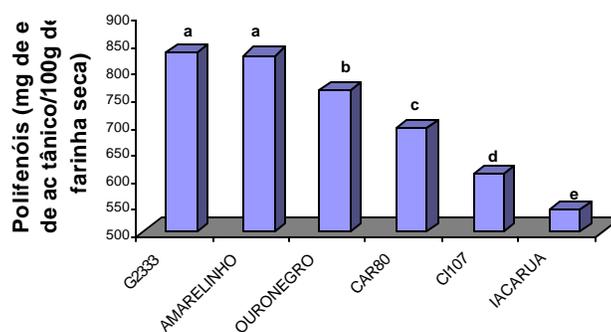


FIGURA 2 – Teores médios de Polifenóis das farinhas de seis linhagens de feijão. Letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Capacidade de Absorção de Água

Na Figura 4 encontram-se os níveis médios da capacidade de absorção de água dos grãos das seis linhagens de feijão. Observou-se que a linhagem IAC-Carioca-Aruã apresentou a maior capacidade de absorção de água, tendo um valor médio de 169,14% de água absorvida em relação ao seu peso inicial, enquanto a li-

nhagem G 2333 foi a que apresentou a menor capacidade de absorção de água, com um valor médio de 119,60% de água absorvida em relação ao seu peso inicial.

Rios (2000) verificou que a cultivar Carioca apresentou 118,19% de água absorvida em relação ao seu peso inicial.

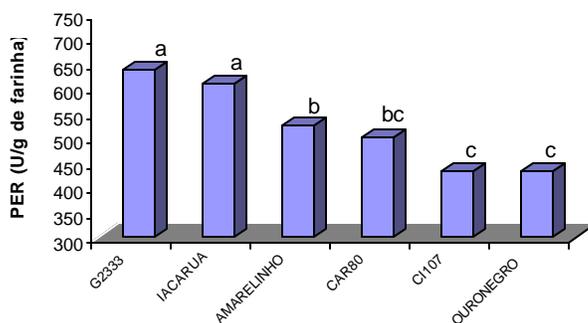


FIGURA 3 – Atividade média da PER das farinhas de seis linhagens de feijão. Letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

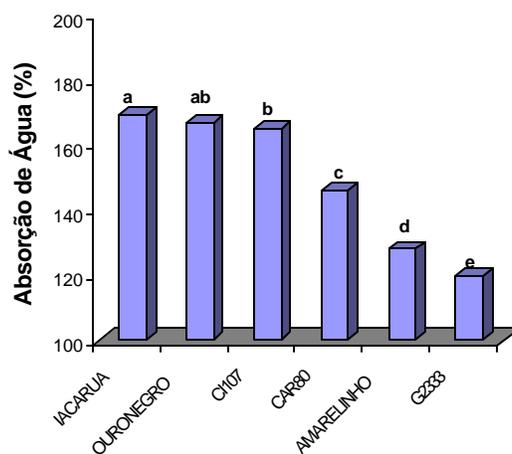


FIGURA 4 – Teores médios de capacidade de absorção de água dos grãos de seis linhagens de feijão. Letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A capacidade de absorção de água é importante porque influencia no tempo de cozimento, o que significa que a linhagem G 2333 deve ser a que levará mais tempo para cozinhar, já que absorveu 30% a menos de água em relação à IAC-Carioca-Aruã.

Wyatt (1977) destacou, especificamente para o feijão, características do tegumento, entre elas espessura, peso, aderência aos cotilédones, elasticidade, porosidade e propriedades coloidais, como interferentes na absorção de água.

CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos no presente trabalho, concluiu-se que:

Três linhagens (Carioca-Aruã, Ouro Negro e CI 107) apresentam boa capacidade de absorção de água e três linhagens (Carioca-80, Amarelinha e G2333) apresentam baixa capacidade de absorção de água. Mediante esses resultados, infere-se que há uma relação inversa entre o teor de polifenóis, lignina e atividade da peroxidase e a capacidade de absorção de água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis**. 15. ed. Washington, 1990. 2 v.

BRESSANI, R.; HERNADEZ, E.; BRAHAM, E. Relationship between content and intake of bean polyphenolics and protein digestibility in humans. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 38, p. 5-21, 1988.

CHAMP, M.; BRILLOUET, J. M.; ROUAU, X. Nonstarchy polysaccharides *Phaseolus vulgaris*, *Lens esculenta*, and *Cicer arietinum* Seeds, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 34, n. 2, p. 326-329, Mar./Apr. 1986.

DOVLO, F. E. Criteria for cooking quality and acceptability of cowpeas. In: HULSE, J.; RACHIE, D. O.; BILLINGSLEY, L. W. **Nutritional standards and methods of evaluation for legume breeders**. Ottawa: IDRC, 1977. p. 85-87.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 1095 p.

FERHMAN, H.; DIAMOND, A. E. Peroxidase activity and phytophthora resistance in different organs of the potato plant. **Phytopathology**, Lancaster, v. 57, n. 1, p. 69-72, Jan. 1967.

FOX, P. F. (Ed.). **Food enzymology**. London/New York: Elsevier Applied Science, 1991. v. 2, 378 p.

HINCKS, M. J.; STANLEY, D. W. Lignification: evidence for a role in hard-to-cook beans. **Journal Food Biochemistry**, Wetport, v. 11, n. 1, p. 41-58, Mar. 1987.

IADEROZA, M.; SALES, A. M.; BALDINI, V. L. S.; SARTORI, M. R. E.; FERREIRA, V. L. P. Polyphenol oxidase activity and alterations on colour and levels of condensed tannins during storage of new bean (*Phaseolus*) cultivars. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 154-164, July/Dec. 1989.

JUNEK, J. J.; SISTEUNK, W. A.; NEELEY, M. B. Influence of processing methodology in quality attributes of canned dry beans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 45, n. 4, p. 821, July/Aug. 1980.

MOURA, A. C. de C. **Análises físico-químicas e enzimáticas antes e após armazenamento em grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) submetidos a diferentes tempos e tipos de secagem**. 1998. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RIOS, A. de O. **Avaliação da época de colheita e do armazenamento no escurecimento e digestibilidade de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.)**. 2000. 59 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, D. J. da. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV, 1981. 176 p.

SRISUMA, N.; RUENGSAKULRACH, S.; UEBERSAX, M. A.; BENNINK, M. R.; HAMMERCHMIDT, R. Cell wall polysaccharides of navy beans (*Phaseolus vul-*

garis). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 39, n. 5, p. 855-858, Mar.1991.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Food and Agriculture**, London, v. 10, n.1, p. 63-68, Jan.1959.

TIBURCIO, G. T. **Alteração na composição centesimal nos polifenólicos e na digestibilidade *in vitro* da proteína em seis variedades de feijão alado (*Psophocarpus tetragonolobus*) após armazenamento.** 1992. 54 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte.

WHITEHEAD, C. S.; SWARDT, G. H. Extration and activity of polyphenoloxidase and peroxidase

from senescing leaves of *Protea neriifolia*. **South African Journal of Botany**, Pretória, v. 1, p. 127-130, 1982.

WYATT, J. C. Seed coat and water absorption properties of seed of nearisogenic snap bean lines differing in seed coat color. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Saint Joseph, v. 102, n. 4, p. 478-480, Apr. 1977.