

RETIRADA DO TEGUMENTO E DA EXTRAÇÃO DOS PIGMENTOS NA QUALIDADE PROTÉICA DO FEIJÃO-PRETO

EFFECT OF REMOVAL OF TEGUMENT AND EXTRACTION OF PIGMENTS ON PROTEIN QUALITY OF BLACK BEANS

Ana Cristina Nascimento CHIARADIA¹

Neuza Maria Brunoro COSTA²

José Carlos GOMES³

RESUMO

O feijão é cultivado e consumido mundialmente e é a leguminosa mais consumida na América Latina. O baixo valor biológico das proteínas do feijão pode ser resultante, dentre outros, da presença de fatores antinutricionais presentes no tegumento do grão. Este trabalho visou avaliar, através de ensaios biológicos, o efeito da retirada do tegumento e das antocianinas e outros polifenóis do feijão-preto, na qualidade de suas proteínas. Foram analisados o quociente de eficiência protéica, o quociente de eficiência líquida protéica e a utilização líquida da proteína, e digestibilidade. Os resultados obtidos mostraram que a eliminação parcial do tegumento dos grãos cozidos e secagem em estufa diminuíram significativamente o valor do quociente de eficiência protéica comparativamente ao do grão integral cozido e secado nas mesmas condições. A extração, com etanol acidificado, de 27,5% dos polifenóis não influenciou significativamente no valor protéico do feijão-preto. Concluiu-se que a retirada do tegumento e a extração parcial de polifenóis do feijão não elevaram a sua qualidade protéica.

Termos de indexação: pigmentos, antocianinas, feijão.

ABSTRACT

*Bean seeds (*Phaseolus vulgaris*, L.) are cultivated and consumed all over the world and are a staple food in most countries of South America. The low biological value of bean proteins may be due to, among others, the effect of antinutritional factors on the tegument. The objective of this work was to evaluate, through biological assays, the effect of removal of black bean tegument, anthocyanins and other polyphenols on protein quality. The protein efficiency ratio, the protein liquid efficiency ratio, the protein liquid utilization*

⁽¹⁾Pós-doutoranda, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

⁽²⁾Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa.

⁽³⁾Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs, s/n., 36570-000, Viçosa, MG.

and the digestibility were analyzed. The results indicated that removal of the tegument of cooked beans reduced their protein value (PER) when compared to whole cooked beans. The ethanolic extraction of 27.5% of polyphenols did not increase the protein quality of beans. It was concluded that removal of the tegument and polyphenols of beans did not improve their protein quality.

Index terms: pigments, anthocyanins, beans.

INTRODUÇÃO

Uma característica marcante das sementes de leguminosas é o seu alto conteúdo protéico. A porcentagem de proteínas em feijão varia entre 16 e 33%, para vários tipos de feijões analisados (Osborn *et al.*, 1988).

A baixa utilização biológica das proteínas de *Phaseolus vulgaris* é atribuída a vários fatores tais como: baixo conteúdo de aminoácidos sulfurados; estrutura compacta de proteínas nativas de feijões, que podem resistir à proteólise; compostos antinutricionais que podem modificar a digestibilidade e alterar a liberação dos aminoácidos e excreção elevada de nitrogênio endógeno (Wu *et al.*, 1995).

A digestibilidade das proteínas do feijão, em ratos, situa-se entre 40 e 70%. Em humanos, esta digestibilidade é ainda menor atingindo não mais que 60% do nitrogênio ingerido (Bressani, 1983; Bressani & Elias, 1984).

O feijão-comum possui alguns atributos indesejáveis, tais como: fitatos, fatores flatulentos, compostos fenólicos, inibidores enzimáticos, hemaglutininas (lectina) e alergênicos os quais devem ser eliminados para sua efetiva utilização como alimento (Sathe *et al.*, 1984; Gupta, 1987).

Segundo Schneeman (1989), no feijão, os polifenóis são solúveis em água e grande quantidade dos mesmos permanece na água de cocção; os demais fatores antinutricionais (inibidores de tripsina e lectinas) são inativados com o aquecimento; e a presença de alta quantidade de fibras tende a reduzir a digestibilidade e a absorção de proteínas da dieta.

A maior concentração de polifenóis é encontrada nas cascas de sementes coloridas, sendo que a casca de sementes brancas e as outras partes anatômicas da semente apresentam as menores concentrações (Bressani *et al.*, 1991).

A digestibilidade das proteínas decresce com o aumento da pigmentação do tegumento da semente.

Os pigmentos são, geralmente, compostos fenólicos que podem interagir com as proteínas do feijão, decrescendo a sua digestibilidade e utilização. Os polifenóis se encontram nas plantas como metabólitos secundários, raramente ativos. Sua habilidade de formar complexos e de precipitar as proteínas fazem com que sejam importantes sob o ponto de vista nutricional (Bressani *et al.*, 1991).

As características e o efeito das interações entre proteína e polifenóis dependem do tipo de ligação, covalente ou não. Ligações não-covalentes podem ocorrer em pH ácido ou neutro e são reversíveis. Os polifenóis que podem interagir nestas ligações são principalmente os poliméricos ou taninos, embora os monoméricos (não-taninos) também possam se ligar não-covalentemente às proteínas. Como conseqüência, o valor nutricional é diminuído e a estrutura tridimensional das proteínas é modificada, alterando suas propriedades funcionais. As interações covalentes entre polifenóis e proteínas, juntamente com uma série de transformações enzimáticas, contribuem para o fenômeno de escurecimento. Estas interações são irreversíveis e, caso aminoácidos essenciais estejam envolvidos nas ligações com polifenóis, haverá um decréscimo do valor nutricional do alimento, além de alterações nas qualidades organolépticas (Hernandez *et al.*, 1991).

Além da formação de complexos com proteínas, tornando-as indisponíveis, os polifenóis também podem inibir enzimas digestivas (Stanley & Aguilera, 1985). Dentre os fatores antinutricionais, eles são os que mais contribuem para a baixa digestibilidade do feijão, o que pode ser explicado pela formação de complexos entre os polifenóis e as proteínas, os quais são insolúveis, possuem baixa digestibilidade e, portanto, tornam a proteína parcialmente indisponível, ou pela inibição das enzimas digestivas com aumento do nitrogênio fecal (Bressani & Elias, 1980).

É possível que alguns taninos se difundam para o endosperma do cotilédone e se liguem às proteínas durante a maceração. Soluções de bicarbonato de

sódio ou mistura de sais são mais eficientes que água na retirada de taninos (Reyes-Moreno & Paredes-López, 1993).

No entanto, embora relativamente grandes quantidades de polifenóis possam ser eliminadas na água de lavagem e na água utilizada para o cozimento, o resíduo é retido, principalmente pelos cotilédones. Isto pode ser devido à migração aparente dos taninos, do tegumento para os cotilédones. As quantidades de taninos ingeridas irão, então, depender de como os feijões são processados e consumidos (Bressani & Elias, 1980).

Objetivou-se com estes ensaios biológicos, avaliar o efeito da retirada do tegumento e dos polifenóis (entre eles, as antocianinas) na qualidade das proteínas do feijão-preto.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois ensaios biológicos. O primeiro deles com o objetivo de avaliar a interferência do tegumento dos grãos e o segundo a influência dos pigmentos do feijão-preto na sua qualidade protéica.

Para a realização dos dois ensaios biológicos foram preparadas as seguintes dietas: aprotéica, dietas cujas fontes protéicas foram feijão-preto, feijão-preto sem tegumento, feijão previamente submetido à extração de pigmentos com etanol 70% acidificado com 0,5% de HCl e caseína.

Para o primeiro ensaio, no preparo das dietas à base de feijão, os grãos de feijão-preto foram limpos e lavados. Então, adicionou-se água, na proporção de 3 : 1, e procedeu-se à cocção em panela de pressão por 45 minutos.

Para a retirada dos tegumentos, o feijão, após ter sido cozido, foi passado em peneira. Os tegumentos extraídos foram novamente fervidos por cerca de 2 minutos, para que se desprendessem as partes cotiledonares que ainda se apresentavam aderidas ao tegumento, e a seguir coados. Este caldo foi adicionado à porção constituída de cotilédones já extraída.

Os grãos cozidos, integrais ou sem tegumento, juntamente com o caldo de cocção, foram secos em estufa a 60°C, com ar forçado por 24 horas com posterior moagem. O teor de nitrogênio foi determinado pelo método semimicro Kjeldahl, permitindo o cálculo do teor de proteína, usando-se o fator 6,25 (Association ..., 1970).

No preparo das dietas à base de feijão-preto para o segundo ensaio, o grão foi limpo e lavado. Então, adicionou-se etanol acidificado na proporção 2 : 1 (etanol : feijão) durante 24 horas, para extração de pigmentos e outros polifenóis. O etanol foi drenado e o material submetido novamente à extração nas mesmas condições. Este tratamento foi repetido até que o líquido drenado apresentasse pouca pigmentação.

O feijão parcialmente despigmentado foi seco em estufa a 60°C, com ar forçado, por 24 horas. Em seguida, foi cozido em autoclave a 120°C, por 45 minutos. Os feijões cozidos (feijão + caldo de cocção) foram secos em estufa a 60°C, com ar forçado, por 24 horas antes de serem moídos.

Após este procedimento, determinou-se o teor de nitrogênio das amostras pelo método semimicro Kjeldahl (Association..., 1970), o que permitiu calcular o teor de proteína.

Procedeu-se o preparo das dietas, homogeneizando-as, através de três passagens sucessivas por peneira. As dietas foram calculadas para que a composição final fosse a seguinte: proteína: 9,0 a 10,0 %; mistura salina: 3,5%; mistura vitamínica: 1,0%; cloreto de colina: 0,2%; gordura (óleo de soja): 5,0% e amido q.s.p.: 100,0%.

Após o preparo, foi feita a análise do teor de proteínas para confirmação. As dietas foram estocadas sob refrigeração, durante o período experimental.

Ensaio biológicos

A avaliação da qualidade protéica das dietas experimentais foi realizada por meio de métodos biológicos. Para tal, utilizaram-se, para cada ensaio, 24 ratos machos, raça *Wistar*, recém-desmamados com média de 23 dias de idade, com peso entre 50 e 60 g, provenientes do biotério do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

Os animais foram divididos, para cada ensaio, em quatro grupos de 6, de modo que a diferença média dos pesos entre os grupos não excedesse a 5 gramas, conforme recomendação da *Association of Official Analytical Chemists* e foram distribuídos em gaiolas individuais, com livre acesso a água e alimento (Association ..., 1975).

Durante 28 dias, os animais foram monitorados, semanalmente, quanto ao ganho de peso e consumo alimentar.

Os resultados obtidos permitiram determinar o Quociente de Eficiência Protéica (PER) conforme indicado pela Association ... (1975), e o Quociente de Eficiência Líquida Protéica ou Razão Protéica Líquida (NPR), que foi determinado no 14º dia do experimento, tomando-se o ganho de peso do grupo-teste mais a perda de peso do grupo de dieta aprotéica, em relação ao consumo de proteína do grupo-teste, de acordo com metodologia descrita por Bender & Doell (1957).

No segundo ensaio por ter sido o PER determinado ao final de 14 dias, este foi denominado PERop (PER operacional) para efeito de diferenciação.

A Utilização Líquida da Proteína (NPU) foi determinada pela análise da carcaça. Os animais foram sacrificados, no 14º dia e em seguida, depois de seccionados, as carcaças foram secas em recipientes de alumínio. Após 24 horas de secagem em estufa a 105°C, com ar forçado, elas foram resfriadas, pesadas, trituradas, desengorduradas em extrator Soxhlet, durante quatro a cinco horas com éter de petróleo e pulverizadas em multiprocessador para determinação do seu teor de nitrogênio retido. Esta determinação foi feita pelo método semimicro-Kjeldahl (Association ..., 1970), com amostras em triplicata. O NPU foi calculado através da fórmula:

$$NPU = \frac{B - BK}{I} \times 100$$

onde: B = nitrogênio corporal dos animais em dieta-teste, BK = nitrogênio corporal dos animais em dieta aprotéica e I = nitrogênio ingerido pelo grupo-teste.

Para a determinação da digestibilidade foram colhidas as fezes, em sua totalidade, do 8º ao 14º dia do experimento. As dietas foram marcadas com carmim (200 mg/100 g) e oferecidas aos animais no 7º e no 13º dia. Findo o período de colheita, as fezes foram secas em estufa com circulação de ar, a 105°C por 24 horas. Depois de resfriadas, pesadas e trituradas em

multiprocessador, determinou-se o teor de nitrogênio, pelo método semimicro Kjeldahl (Association..., 1970).

A digestibilidade foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$D = \frac{I [(F - FK)] \times 100}{I}$$

onde: I = nitrogênio ingerido pelo grupo-teste, F = nitrogênio fecal do grupo-teste e FK = nitrogênio fecal do grupo com dieta aprotéica.

A determinação do teor de fenóis foi feita utilizando-se a extração e a dosagem proposta pela Association ... (1960) e por Swain & Hillis (1959), que recomendam o método colorimétrico de Folin-Denis.

Os resultados obtidos nos dois ensaios biológicos foram analisados pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E CONCLUSÃO

Efeito da retirada do tegumento na qualidade protéica

Os resultados das análises de proteína das três dietas cujas fontes protéicas eram feijão, feijão sem tegumento e caseína foram: 9,97%, 9,08% e 9,48%, respectivamente, e portanto, atenderam ao planejamento, qual seja, entre 9 e 10% de proteína.

Os valores obtidos para PER e PER corrigido diferiram significativamente entre as fontes protéicas estudadas, inclusive entre as amostras à base de feijão, enquanto os valores de NPR indicam que a diferença estatística só existe entre a caseína e as dietas à base de feijão, que não diferiram entre si. Os baixos valores obtidos para as dietas à base de feijão podem ser atribuídos aos fatores antinutricionais presentes nesta leguminosa e à deficiência de aminoácidos sulfurados (Tabela 1).

Tabela 1. PER, PER corrigido e NPR da caseína, feijão-preto com tegumento cozido e feijão-preto cozido com retirada parcial do tegumento após a cocção.

Dieta	PER (28º dia)	PER corrigido (caseína 2,50)	NPR (14º dia)
Caseína	3,26 ± 0,09 (a)	2,50 (a)	4,20 ± 0,08 (a)
Feijão-preto com tegumento	1,21 ± 0,14 (b)	0,93 (b)	2,07 ± 0,15 (b)
Feijão-preto sem tegumento	0,95 ± 0,28 (c)	0,73 (c)	2,04 ± 0,21 (b)

Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan ($p < 0,05\%$).

Considerando-se os resultados obtidos e as peculiaridades de cada método de avaliação utilizado, pode-se concluir que a retirada do tegumento do feijão, após a cocção, prejudicou a qualidade protéica deste alimento.

A explicação para estes resultados recai sobre a possibilidade da presença de alguma fração protéica no tegumento do feijão, a qual contribui para elevar a qualidade do mesmo, sobrepondo-se à possível influência negativa provocada pela presença do tegumento e/ou de seus pigmentos.

Outra possibilidade é o efeito diferenciado da secagem sobre os grãos inteiros e os grãos passados por peneira.

À partir destes resultados, foi sugerido um novo ensaio, o qual verificasse o efeito, na qualidade protéica, da retirada dos pigmentos presentes no tegumento, antes do processo de cocção.

Efeito da extração de pigmentos na qualidade protéica

O processo de extração com etanol acidificado resultou em diminuição de 27,42% dos polifenóis presentes nos grãos, ou seja, os teores encontrados foram 0,062% de polifenóis nos grãos sem tratamento e 0,045% nos grãos submetidos a extração com álcool acidificado.

O teor de proteína das dietas cujas fontes protéicas eram feijão, feijão tratado e caseína, foram 9,32%, 9,71% e 9,73%, respectivamente.

Os resultados de PERop, NPR, NPU, e digestibilidade são mostrados no Tabela 2, e tem-se que a diminuição de 27,42% dos polifenóis presentes no feijão-preto não provocou alteração significativa na qualidade protéica, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

O tratamento com álcool possibilitou a migração de pigmentos e de outros polifenóis, para os cotilédones,

o que pôde ser percebido pela coloração destes após o tratamento.

Esta migração pode ter proporcionado a interação destes polifenóis com as proteínas dos cotilédones dos grãos. Desta maneira, a diminuição no teor de polifenóis, o que aumentaria a qualidade protéica pode ter sido compensada pela maior interação entre estas proteínas e os compostos antinutricionais em estudo.

Ligações de taninos com lisina de proteínas do feijão podem diminuir a disponibilidade deste aminoácido. Por outro lado, polifenóis livres podem influenciar indiretamente a digestibilidade protéica pela inibição de enzimas digestivas (Reddy *et al.*, 1985). O relacionamento entre a concentração de taninos e a qualidade protéica é também evidente mesmo quando a proteína é suplementada com metionina (Bressani & Elias, 1980).

Duarte (1995) observou, através de determinação de NPR, NPU e digestibilidade, que a eliminação do caldo de cocção de feijões-preto incrementou os valores destes índices, mas foi significativa somente para a digestibilidade. Ela atribuiu estes resultados à eliminação do caldo de cocção e conseqüente perda de polifenóis.

Os resultados obtidos mostram que a eliminação parcial do tegumento dos grãos cozidos e secagem em estufa diminuíram significativamente o valor de PER comparativamente ao do grão integral cozido e secado nas mesmas condições.

A cocção, através da temperatura elevada, provoca desnaturação de proteínas que atuam como fatores antinutricionais nos alimentos vegetais. Estas proteínas, uma vez desnaturadas, vão contribuir para elevar o valor nutricional das proteínas vegetais, sendo portanto inconveniente eliminá-las dos alimentos.

Tabela 2. PERop, NPR, NPU e digestibilidade de caseína, feijão-preto e feijão-preto submetido a extração de polifenóis.

Dieta	PERop	NPR (14° dia)	NPU (14° dia)	Digestibilidade (7 dias)
Caseína	3,92 ± 0,36 (a)	4,61 ± 0,34 (a)	64,11 ± 4,15 (a)	93,61 ± 9,68 (a)
Feijão	1,94 ± 0,41 (b)	3,09 ± 0,41 (b)	34,74 ± 6,91 (b)	85,10 ± 2,30 (b)
Feijão submetido a extração	2,17 ± 0,37 (b)	3,05 ± 0,34 (b)	35,58 ± 3,99 (b)	84,59 ± 1,51 (b)

Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan ($p < 0,05\%$).

A extração com etanol acidificado de 27,5% dos polifenóis não influenciou significativamente no valor protéico do feijão-preto. Portanto, a retirada do tegumento e a remoção parcial de polifenóis do feijão não elevaram a sua qualidade protéica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 9.ed. Washington DC, 1960. 111p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 11.ed. Washington DC, 1970. 108p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 12.ed. Washington DC, 1975. 110p.
- BENDER, A.E., DOELL, B.H. Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. *British Journal of Nutrition*, London, v.11, p.138-143, 1957.
- BRESSANI, R. Research needs to up-grade the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Quality Plant Foods for Human Nutrition*, v.32, n.1, p.101-110, 1983.
- BRESSANI, R., ELIAS, L. G. The nutritional role of polyphenols in beans. In: HULSE, J.H *Polyphenols in cereals and legumes*. Ottawa, 1980. p. 61-72.
- BRESSANI, R., ELIAS, L.G. Relación entre la digestibilidad y el valor proteínico del frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Caracas, v.34, n.1, p.189-197, 1984.
- BRESSANI, R., MORA, D.R., FLORES, R., BRENES-GOMES, R. Evaluación de los métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido, y efecto que estos provocan en la digestibilidad de la proteína. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Guatemala, v.41, n.4, p.569-583, 1991.
- DUARTE, M.S.L. *Efeito do tegumento e do caldo de cocção do feijão na qualidade protéica*. Viçosa, MG : UFV, 1995. 52p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- GUPTA, Y. P. Antinutritional and toxic factors in food legumes: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, Dordrecht, v.37, n.3, p.201-208, 1987.
- HERNANDEZ, T., HERNANDEZ, A., MARTINEZ, C. Polyphenols in alfafa leaf concentrates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington DC, v.39, n.6, p.1120-1122, 1991.
- OSBORN, T.C., BURROW, M., BLISS, F.A. Purification and characterization of arcelin seed protein from common beans. *Plant Physiology*, Lancaster, v.86, n.1, p.399, 1988.
- REDDY, N.R., PIERSON, M.D., SATHE, S.K. Dry bean tannins: a review of nutritional implications. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.62, n.3, p.541-549, 1985.
- REYES-MORENO, C., PAREDEZ-LÓPEZ, O. Hard-to-cook phenomenon in common beans: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v.33, n.3, p.227-286, 1993.
- SATHE, S.K., DESHPANDE, S.S., SALUNKHE, D.K., Dry beans of *Phaseolus*: a review I. Chemical composition: proteins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v.20, n.1, p.1-46, 1984.
- SCHNEEMAN, B.O. Dietary fiber. *Food Technology*, Chicago, v.43, n.10, p.133-139, 1989.
- STANLEY, D.W., AGUILERA, J.M. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes: the influence of structure and composition. *Journal of Food Biochemistry*, West Port, v.9, n.4, p.277-323, 1985.
- SWAIN, T., HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Oxford, v.10, n.1, p.63-68, 1959.
- WU, W., WILLIAMS, W.P., KUNKEL, M.E., ACTON, J. C., HUANG, Y., WARDLAN, F. B., GRIMES, L. W. True protein digestibility and digestibility-corrected amino acid score of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington DC, v.43, n.5, p.1295-1298, 1995.

Recebido para publicação em 1 de agosto de 1997 e aceito em 1 de outubro de 1998.