

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

Efeitos do teor de água e temperatura sobre parâmetros tecnológicos, perfil de metabólitos e propriedades do amido de feijão preto armazenado

Cristiano Dietrich Ferreira

Pelotas, 2014

Cristiano Dietrich Ferreira

Efeitos do teor de água e temperatura sobre parâmetros tecnológicos, perfil de metabólitos e propriedades do amido de feijão preto armazenado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Maurício de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias

Pelotas, 2014

Catálogo na fonte

Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

F382e Ferreira, Cristiano Dietrich

Efeitos do teor de água e temperatura sobre parâmetros tecnológicos, perfil de metabólitos e propriedades do amido de feijão preto armazenado / Cristiano Dietrich Ferreira; Maurício de Oliveira, orientador ; Moacir Cardoso Elias, coorientador. — Pelotas, 2014.

73 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. *Phaseolus vulgaris* (L) 2. Armazenamento 3. Propriedades tecnológicas 4. Amido 5. Metabolitos secundários I. Oliveira, Maurício de , orient. II. Elias, Moacir Cardoso, coorient. III. Título.

CDD 635.652

Cristiano Dietrich Ferreira

Efeitos do teor de água e temperatura sobre parâmetros tecnológicos, perfil de metabólitos e propriedades do amido de feijão preto armazenado

Dissertação apresentada, como requisito parcial, para obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 24/10/2014

Banca examinadora:

Prof. Dr. Maurício de Oliveira (orientador). Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Prof. Dr. Fabrizio da Fonseca Barbosa. Doutor em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa.

Prof. Dra. Elessandra da Rosa Zavareze. Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande

Dr. Wilner Brod Peres. Doutor em Ciência e Tecnologia de Sementes pela Universidade Federal de Pelotas.

**A minha mãe, Neli,
e aos meus irmãos, Marcos, Vinicius e Lucas**

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por ter me dado saúde e inteligência para cumprir minhas atividades. Nos momentos de maior angústia ele nunca me desamparou, em muitas vezes me deu mais do que eu me julgava merecedor.

A minha família por todo apoio durante os cinco anos de faculdade, em especial a minha mãe Neli Dietrich, por todo o incentivo, dedicação e paciência nos momentos difíceis.

A minha namorada Jessica Fernanda Hoffmann, pelo carinho, amizade e companheirismo. É uma pessoa extremamente importante na minha vida.

Aos professores do DCTA pelos conhecimentos passados em sala de aula e fora dela, também por ensinar-me a ter ética e amor pela profissão.

Ao Laboratório de Grãos por ter possibilitado realizar estágios durante a graduação que contribuíram para minha formação e futuro acadêmico.

Ao Professor e orientador Dr. Moacir Cardoso Elias, pelo estímulo a pesquisa e pela motivação que me foi dada desde o primeiro dia de estágio na graduação.

Ao Professor e orientador Dr. Maurício de Oliveira pelo companheirismo, amizade e orientação durante o período de mestrado.

Aos colegas Pós-Graduandos do Laboratório de Grãos que fizeram parte desta caminhada, Angélica Nicoletti, Bruna Arns, Cláudia Medeiros Camargo, Daniel Rutz Fabricio Brum, Diego Batista Zeni, Flávia Fernandes Paiva, Gabriela Hornke Alves, Jardel Casaril, Jarine Amaral do Evangelho, Jean Paulo de Oliveira, Jorge Tiago Schwanz Göebel, Joana Maria Leite de Souza, Josiane Bartz, Nelisa Lamas de Souza, Lúcia Rotta Borges, Rafael de Almeida Schiavon, Ricardo Scherer Pohndorf, Rosana Colussi, Shanise Lisie Mello El Halal, Vânia Zanella Pinto, Wagner Schellin Vieira da Silva e Wilner Brod Peres, pela convivência durante estes 5 anos de caminhada no laboratório, pela ajuda e ensinamentos.

Em especial aos colegas e amigos Nathan Levien Vanier, Ricardo Tadeu Paraginski e Valmor Ziegler, pelo trabalho em equipe, companheirismo e comprometimento com o serviço, mas principalmente por proporcionarem a possibilidade de aprendizagem.

Aos estagiários do Laboratório de Grãos André Talhamento, Andrey Conrado Rühling Milczarski, Caroline Lambrecht Dittgen, Franciene Almeida Villanova, Hueslen Domingues Munhões, Ismael Aldrighi Bertinetti, Juciano Gabriel da Silva, Karina Medeiros Madruga, Marjana Radunz, Patrícia Gomes Vivian, Veridiana Zanetti Bandeira pela convivência no laboratório.

Em especial aos bolsistas de iniciação científica Bruno Artur Rockenbach, Jean Ávila Schwartz, Jennifer da Silva, Márcio Peter, Vanessa Kern Bubolz e Rodrigo Fernandes Santos, pelo companheirismo, mas principalmente pelo empenho nas atividades do laboratório e no auxílio a este experimento.

À Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A todos aqueles que de uma forma ou de outra contribuíram com seu incentivo ou apoio para essa formação e conquista pessoal.

Resumo

FERREIRA, Cristiano Dietrich. **Efeitos do teor de água e temperatura sobre parâmetros tecnológicos, perfil de metabólitos e propriedades do amido de feijão preto armazenado.** 2014, 73f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

O feijão é uma fonte importante de carboidratos, proteínas, fibras e minerais. O seu componente principal é o amido, porém também apresentam elevada quantidade de compostos bioativos com propriedades antioxidantes. Antes de ser consumido o feijão deve ser armazenado de forma segura, preservando assim a sua qualidade. Objetivou-se, com o trabalho, avaliar os efeitos do teor de água e temperatura sobre parâmetros tecnológicos, perfil de metabólitos e propriedades do amido de feijão preto armazenado. Foram utilizados grãos de feijão preto da cultivar Diamante Negro, produzidos no município de Erechim, estado do Rio Grande do Sul, Brasil, provenientes da safra 2012/2013. Os grãos de feijão foram armazenados nos teores de água de 14 e 17% e nas temperaturas de 11, 18, 25 e 32°C, durante o período de 12 meses, com coletas no tempo zero, 120, 240 e 360 dias. O armazenamento promove alterações na qualidade dos grãos. Durante o armazenamento ocorre o aumento no tempo de cocção, sólidos lixiviados, condutividade elétrica, acidez e a redução no pH dos grãos. Os metabólitos secundários diminuem durante o armazenamento. Na temperatura mais elevada de armazenamento (32°C) o amido isolado apresenta coloração mais clara, e também apresenta aumento no poder de inchamento, pico de viscosidade e viscosidade de quebra, com reduções na solubilidade, viscosidade final, retrogradação e dureza do gel.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* (L), Armazenamento, Propriedades tecnológicas, Amido, Metabolitos secundários

Abstract

FERREIRA, Cristiano Dietrich. **Effects of moisture and temperature on technological parameters, metabolite profile and properties of starch from black beans stored.** 2014, 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

Beans are an important source of carbohydrates, protein, fiber and minerals. Its major component is starch, but also have a high amount of bioactive compounds with antioxidant properties. Before consuming the beans should be stored securely, thereby preserving its quality. The objective of the work was to evaluate the effects of water content and temperature on technological parameters, metabolic profile and properties of starch from black beans stored. Were used black beans of cultivar Black Diamond, produced in the municipality of Erechim, state of Rio Grande do Sul, Brazil, from the crop 2012/2013. The beans were stored in water levels of 14 to 17% and temperatures of 11, 18, 25 and 32 ° C for a period of 12 months, samples at time zero, 120, 240 and 360 days. The storage promotes changes in grain quality. During storage the increase in cooking time, leached solids, conductivity, acidity and reducing the pH of the grains occurs. Secondary metabolites decrease during storage. At higher storage temperature (32 °C) isolated starch has a lighter color, and also presents an increase in swelling power, peak viscosity and breakdown, with reductions in solubility, final viscosity, retrogression and hardness gel.

Key-words: *Phaseolus vulgaris* (L), Storage, Technological properties, Starch, Secondary metabolites

Lista de figuras

Figura 3 - Representação da parede celular, com ligação de componentes estruturais com compostos fenólicos. A- Celulose, B- Hemicelulose, C- Proteínas estruturais, D- Pectina, E- Compostos fenólicos, F- Lignina.	24
Figura 4 - A) Estrutura da amilose [polímero linear composto por D-glicoses unidas em -(1-4)]. B) Estrutura da amilopectina [polímero ramificado composto por D-glicoses unidas em -(1-4) e -(1-6)].	26
Figura 5 - A) Classificação das cadeias da amilopectina em cadeias tipos A, B e C; B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido; C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilum.	28
Figura 6 - Esquema de uma curva típica de comportamento de pasta obtido de um <i>Rapid Visco Analyzer</i> (RVA).....	31
Figura 7 - Secador estacionário protótipo do Laboratório de Grãos.....	32
Figura 8 - Escala de cores CIELAB.....	41
Figura 9 - Propriedades térmicas do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.	63

Lista de tabelas

Tabela 1 - Delineamento experimental para avaliar as propriedades tecnológicas e nutricionais de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (Estudo 1)	33
Tabela 2 - Delineamento experimental para avaliar o perfil de metabólitos de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (Estudo 2)	34
Tabela 3 - Delineamento experimental para avaliar as propriedades do amido de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (Estudo 3)	34
Tabela 4 - Programação do RVA utilizada nas análises viscoamilográficas	42
Tabela 5 - Teor de água dos grãos de feijão armazenados em temperaturas de 11, 18, 25, e 32°C, durante 12 meses	44
Tabela 6 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no teor de proteína bruta (%) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (em base seca)	45
Tabela 7 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no teor de cinzas (%) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (em base seca)	45
Tabela 9 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no peso de mil grãos (gramas) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses.	47
Tabela 11 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no pH dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses	49
Tabela 12 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na acidez dos lipídeos (mg de NaOH. g ⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	49
Tabela 15 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no tempo de cocção (minutos) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses.	52
Tabela 16 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na dureza (N) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	52
Tabela 17 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de compostos fenólicos totais (mg EAG. g ⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	54

Tabela 18 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de compostos fenólicos não tânicos (mg EAG. g ⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses.....	55
Tabela 19 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de taninos (mg EAG. g ⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	55
Tabela 20 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de flavonóides totais (mg EC. g ⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	56
Tabela 21 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de proantocianidinas (mg. g ⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses.....	56
Tabela 22 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de antocianinas totais (mg C-3-G. g ⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	57
Tabela 23 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na capacidade antioxidante medida pelo radical ABTS (mg de trolox.g ⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	58
Tabela 24 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na capacidade antioxidante medida pelo radical DPPH (% de inibição) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	59
Tabela 25 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) os parâmetros de cor do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	60
Tabela 27 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) sobre a solubilidade (g.100g ⁻¹) do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	61
Tabela 28 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) sobre as propriedades térmicas do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	63
Tabela 29 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e teor de água (14 e 17%) sobre as propriedades de pasta e dureza do gel de amidos isolados de grãos de feijão armazenados por 12 meses.....	65

Sumário

1	Introdução.....	15
2	Revisão bibliográfica	18
2.1	O feijão	18
2.2	Armazenamento e perda de qualidade.....	19
2.3	Metabólitos	21
2.4	Amido	25
2.4.1	Caracterização do amido de feijão	25
2.4.2	Propriedades do amido.....	27
3	Material e Métodos	32
3.1	Experimento.....	32
3.2	Delineamento experimental.....	33
3.3	Avaliações.....	34
3.3.1	Estudo 1 - Alterações nas propriedades tecnológicas e nutricionais de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	34
3.3.1.1	Teor de água dos grãos.....	34
3.3.1.2	Composição química	34
3.3.1.3	Tempo de cocção	35
3.3.1.4	Dureza dos grãos	35
3.3.1.5	Peso de mil grãos.....	35
3.3.1.6	Solubilidade proteica	35
3.3.1.7	pH dos grãos	36
3.3.1.8	Índice de acidez dos lipídeos.....	36
3.3.1.9	Condutividade elétrica.....	36
3.3.1.10	Sólidos lixiviados	37
3.3.2	Estudo 2 - Alterações no perfil de metabólitos de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	37
3.3.2.1	Obtenção do extrato para as análises de metabólitos secundários.....	37
3.3.2.2	Compostos fenólicos totais	37

3.3.2.3 Compostos fenólicos não tânicos e taninos	38
3.3.2.4 Flavonoides totais	38
3.3.2.5 Proantocianidinas totais.....	38
3.3.2.6 Antocianinas totais	39
3.3.2.7 Atividade antioxidante – radical DPPH*	39
3.3.2.8 Atividade antioxidante- Radical ABTS*	39
3.3.3 Estudo 3 - Alterações nas propriedades do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses.....	40
3.3.3.1 Extração do amido	40
3.3.3.2 Parâmetros de cor	40
3.3.3.3 Grau de pureza	41
3.3.3.4 Poder de inchamento e solubilidade	41
3.3.3.5 Parâmetros viscoamilográficos- RVA.....	42
3.3.3.6 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	43
3.3.4. Análise estatística	43
4 Resultados e Discussão	44
4.1. Estudo 1 - Alterações nas propriedades tecnológicas e nutricionais de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	44
4.2. Estudo 2 - Alterações no perfil de metabólitos de grãos de feijão armazenados durante 12 meses	54
4.3. Estudo 3 - Alterações nas propriedades do amido de grãos de feijão armazenados durante 12 meses.	59
5 Conclusões.....	66

1 Introdução

O feijão pertencente ao gênero *Phaseolus* tem origem na América Latina, sendo domesticado e consumido a mais de 7000 anos (KAPLAN; KAPLAN, 1988). O feijão é tido como uma fonte importante de nutrientes na alimentação humana, em várias regiões da América Latina e em alguns povos da África Oriental é considerado a principal fonte de proteínas na dieta (GRAHAM; RANALLI, 1997).

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence a família das Fabáceas, antiga família das leguminosas. Dentre as leguminosas o feijão ocupa o segundo lugar em produção mundial ficando somente atrás da soja (*Glycine max* L.), porém quando os grãos são destinados diretamente ao consumo humano este grão passa a assumir a primeira colocação. Em 2009, o consumo de feijão pela população brasileira situou-se em torno de 16,4 Kg.hab.ano⁻¹, sendo responsável pelo fornecimento diário de 9,8 gramas de proteínas (FAO, 2013).

O Brasil ocupa atualmente a terceira colocação mundial em produção de feijão, com uma área colhida de aproximadamente 3,6 milhões de hectares e produção de 3,4 milhões de toneladas (FAO, 2013). A produção brasileira de feijão caracteriza-se pela realização de três safras dentro do ano agrícola. Alguns fatores são responsáveis por esta diversificação no cultivo de feijão, dentre eles variabilidade do clima, solo, cultivares com ciclo de crescimento diferenciado e adaptadas. Em contrapartida estes grãos podem apresentar qualidade inicial variada, associada a baixa produtividade por hectare e a logística da produção até a pós-colheita, podem acarretar grandes oscilações nos preços dentro do ano agrícola, podendo atingir valores situados entre R\$ 60,00 e R\$ 260,00 por saca de 60Kg (CONAB, 2013).

As operações de pós-colheita são necessárias para a manutenção da qualidade dos grãos. Geralmente os grãos de feijão são colhidos com teor de água próximo a 20%, sendo necessária a redução do teor de água para a adequada conservação da matéria prima durante o armazenamento. O teor de água dos grãos bem como a temperatura são os principais fatores a serem considerados durante o armazenamento. A associação de temperaturas reduzidas e baixos teores de água têm se mostrado uma alternativa interessante para manutenção da qualidade de grãos. Em geral a utilização de baixos teores de água e temperaturas promovem a diminuição da atividade de água, metabolismo dos grãos, taxa de multiplicação de

insetos, incidência fúngica, reações químicas enzimáticas e não enzimáticas e conseqüentemente menores alterações na estrutura e nos constituintes dos grãos.

Em condições inadequadas de armazenamento os grãos se tornam difíceis de cozinhar, desenvolvendo o fenômeno chamado HTC, do inglês, hard to cook, oriundo principalmente das reações metabólicas do grão, favorecidas por altas temperaturas e teores de água. O HTC é caracterizado por elevados tempos de cocção proporcionados pela dificuldade de absorção de água dos grãos durante o processo de cocção, devido a modificação das características de proteínas, amidos, compostos de paredes e metabólitos especializados.

Variações estruturais, químicas e morfológicas são verificadas entre amidos extraídos de grãos de feijão de diferentes cultivares, podendo também ser influenciadas pelas condições de armazenamento, que modificam as propriedades térmicas, propriedades de pasta, poder de inchamento, solubilidade, cristalinidade e morfologia do grânulo do granulo (HOOVER et al., 2010; HUGHES et al., 2009; LIU; MCWATTERS; PHILLIPS, 1992; RUPOLLO et al., 2011; YOUSIF et al., 2003). Além das alterações ocorridas no amido, existem as associações entre componentes, como amido-proteína, amido-lipídeo e principalmente amido-compostos fenólicos. Os compostos fenólicos não possuem função nutricional para o homem, porém desempenham funções importantes como antioxidante. Nos vegetais apresentam capacidade de defesa contra microrganismos e danos celulares, porém durante o armazenamento em condições drásticas de temperatura e alto teor de água, estes compostos tendem a ser oxidados, e como consequência se complexam com outros componentes, dificultando a cocção (LIU; MCWATTERS; PHILLIPS, 1992; NASAR-ABBAS et al., 2008; SHIGA, 2004; YOUSIF et al., 2002).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Avaliar os efeitos da temperatura e teor de água sobre os parâmetros tecnológicos de grãos de feijão preto armazenados por doze meses.

1.1.2 Avaliar os efeitos da temperatura e teor de água sobre o perfil de metabólitos secundários de grãos de feijão preto armazenados por doze meses.

1.1.3 Avaliar os efeitos da temperatura e teor de água sobre as propriedades do amido isolado de grãos de feijão preto armazenados por doze meses.

2 Revisão bibliográfica

2.1 O feijão

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) pertencente à família das Fabáceas, antiga família das leguminosas, é o segundo grão em importância mundial, ficando somente atrás da Soja (*Glicine max* L.) e seus derivados. O Brasil ocupa atualmente a terceira colocação mundial em produção de feijão, com uma área colhida de aproximadamente 3,6 milhões de hectares e produção de 3,4 milhões de toneladas (FAO, 2013). O gênero *Phaseolus* é o responsável por aproximadamente 64% da produção brasileira, ficando o restante distribuídos aos membros do gênero *Vigna*, como o “Feijão Caupi”.

O gênero *Phaseolus* apresenta diversas espécies com colorações diversas. Neste grupo destacam-se o feijão carioca e o feijão preto. O feijão preto tem maior aceitação nos estados do sul do Brasil (Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná), Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo, sendo que no restante do país o feijão carioca passa a ser mais valorizado.

Quando se avalia o consumo direto, os feijões com toda sua diversidade ultrapassam a soja. Em 2009 o consumo de feijão pela população brasileira situou-se em torno de 16,40 Kg.hab.ano⁻¹, sendo responsável pelo fornecimento diário de 9,80 gramas de proteínas (FAO, 2013).

Os grãos de feijão são reconhecidos por ser uma excelente fonte de nutrientes. Em sua constituição grãos de feijão além de apresentarem elevado teor de proteínas 25% e carboidratos 65%, também são uma excelente fonte de minerais e fibras dietéticas. Os feijões destacam-se nutricionalmente por dois aspectos principais, o teor de aminoácidos essenciais e o teor de amidos com baixa digestibilidade. O consumo de leguminosas como o feijão geralmente estão associadas ao consumo de cereais, como o arroz. O feijão e o arroz apresentam uma complementaridade de aminoácidos essenciais. Cereais são deficientes em lisina porém apresentam elevadas taxas de aminoácidos sulfurados, o feijão por sua vez apresenta altos níveis de lisina e baixos níveis de aminoácidos sulfurados, com a junção destes dois grãos pode se obter uma proteína de boa qualidade (BOYE; ZARE; PLETCH, 2010; HAYAT et al., 2014).

Todos estes constituintes encontram-se compartimentados inicialmente dentro do grãos, e somente se deseja que sejam liberados no momento do processo de cocção ou posteriormente sistema gastro intestinal. Para isso, antes de se consumir grãos, principalmente leguminosas é necessário que se submeta na maioria dos casos os grãos ao processo de cocção, visando disponibilizar os nutrientes, mas também a eliminação de fatores antinutricionais, como a eliminação de inibidores da enzima tripsina, fitatos, taninos, lectinas e oligossacarídeos (KIGEL, 1999).

2.2 Armazenamento e perda de qualidade

O feijão é um alimento que apresenta elevado valor nutritivo, porém devido a elevada produção, a sazonalidade e a distância do centro consumidor, fazem com que estes produtos quando armazenados de forma inadequada muitas vezes percam a qualidade.

Os grãos colhidos mecanicamente geralmente apresentam elevado teor de água, podendo chegar a 24 a 26%. Esse conteúdo de água tem influência direta no manejo de pós-colheita, pois quando são colhidos com elevado teor de água necessitam do uso de maior energia para a separação grão/vagem, proporcionando maior quantidade de danos mecânicos e por consequência o aumentar da área superficial de contato com fatores bióticos e abióticos, como insetos, fungos e reações de oxidação (CHIDANANDA et al., 2014).

Os principais fatores que interferem na qualidade de armazenamento são a temperatura e teor de água dos grãos. Segundo Chidananda et al. (2014), os fatores que interferem no armazenamento podem ser divididos em fatores abióticos (temperatura e umidade relativa do ar) e fatores bióticos (genéticos, insetos e fungos). Rani et al. (2013) relataram que o armazenamento seguro de grãos pode ser acompanhado pelas determinações de germinação, ácidos graxos livres, incidência fúngica, parâmetros nutricionais, descoloração, absorção de água, dureza e odor.

Os grãos são organismos vivos e devem ser mantidos vivos até o final do período de armazenamento, os grãos devem apresentar atividade metabólica reduzida durante o período de armazenamento, porém se forem dadas condições

favoráveis de temperatura e umidade, eles ativam novamente seu metabolismo, e retomam a sua atividade fisiológica (respiração).

Em grãos de feijão de tegumento preto destaca-se o endurecimento como o principal defeito, este endurecimento está associado ao elevado tempo de cocção. As principais causas deste aumento no tempo de cocção são a temperatura e o teor de água no armazenamento, que quando elevados podem levar a formação do defeito “HTC”, do inglês “*hard to cook*”, ou difícil de cozinhar.

O defeito HTC está diretamente relacionado com as condições de armazenamento, porém diferentes cultivares podem apresentar comportamento diferenciado, podendo ser mais suscetíveis ao aparecimento deste defeito. Este defeito é caracterizado pela dificuldade de absorção de água pelos grãos durante o processo de hidratação e cocção, acarretando em elevados tempos de cocção, reduzindo assim a palatabilidade, aceitabilidade e valor nutricional (NASAR-ABBAS, et al., 2008; NJOROGÉ et al., 2014). Vários fatores são responsáveis pelo desenvolvimento do HTC, dentre eles a complexação de pectina-cátion-fitado (NJOROGÉ et al., 2014), compactação das células de parede (SHIGA, 2004), interação entre proteínas e amido (LIU; MCWATTERS; PHILLIPS, 1992) e ligações de taninos e outros compostos fenólicos com proteínas (MARIA et al., 2007).

Nasar-Abbas et al. (2008) estudando o efeito do armazenamento em feijão fava encontraram altos valores de grãos com HTC, sendo que os maiores valores foram encontrados para temperaturas acima 37°C quando comparados a grãos armazenados com temperaturas de 25°C.

Diversos autores relatam que a utilização de baixas temperaturas durante o armazenamento podem atuar de forma benéfica sobre os grãos de feijão, evitando o desenvolvimento do fenômeno de HTC ou ainda promovendo a redução deste defeito quando já formado.

Para Liu et al. (1992) a principal causa do HTC são as interações ocorridas entre as moléculas de proteína, as quais são influenciadas diretamente pelas condições de armazenagem. A constituição proteica dos grãos de feijão favorecem esta reatividade maior pois são compostas principalmente pelas frações globulinas (54-79%) e albuminas (12-30%), que segundo Boye, Zare e Pletch (2010) são as frações mais instáveis, e dependendo da constituição de aminoácidos, estrutura e conformação podem apresentar propriedades funcionais e aplicações diferenciadas,

propriedades essas como solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo, capacidade e estabilidade emulsificante, formação de espuma e formação de gel.

2.3 Metabólitos

Grãos de maneira geral apresentam elevada importância nutricional sendo consumidos a milhares de anos para este fim. Nas últimas décadas essa busca pura e simplesmente pela função nutricional dos alimentos vem dando espaço a busca por alimentos/remédios, onde o alimento é consumido também por alguma espécie de bioatividade.

As leguminosas como o feijão, segundo Campos-Vega, Loarca-Piña e Oomah (2010); Díaz, Caldas e Blair (2010); Hayat et al. (2014), são importantes alimentos funcionais os quais apresentam características antioxidantes e anti-inflamatórias, desempenhando assim um papel importante na prevenção de doenças crônicas degenerativas cardiovasculares e o câncer.

Segundo Campos-Vega, Loarca-Piña e Oomah (2010) existem diversos compostos que estão em menores quantidades nos grãos, mas que apresentam impacto na saúde humana, dentre eles enzimas, lectinas, minerais, vitaminas, ácidos graxos, fitatos, fitoesteróis e principalmente compostos fenólicos.

Compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário de vegetais que desempenham funções essenciais na reprodução e crescimento, atuando como mecanismos de defesa contra patógenos, parasitas e predadores, bem como contribuir para a cor das plantas. Segundo Chalker-scott (1999) a síntese de compostos fenólicos como as antocianinas podem ser induzidos em condições de seca e frio ou pelo aumento da radiação UV.

Segundo Liu (2007) compostos fenólicos apresentam um ou mais anéis aromáticos, podendo apresentar uma ou várias hidroxilas, dependendo da sua estrutura química. Os compostos fenólicos são sintetizados pela via do ácido chiquímico ou podem ser originados a partir do seu precursor, a fenilalanina (SALES; RESURRECCION, 2010), sendo classificados em ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, cumarinas e taninos. Os compostos fenólicos predominantes em grãos são os flavonóides e os ácidos fenólicos (Figura 1)

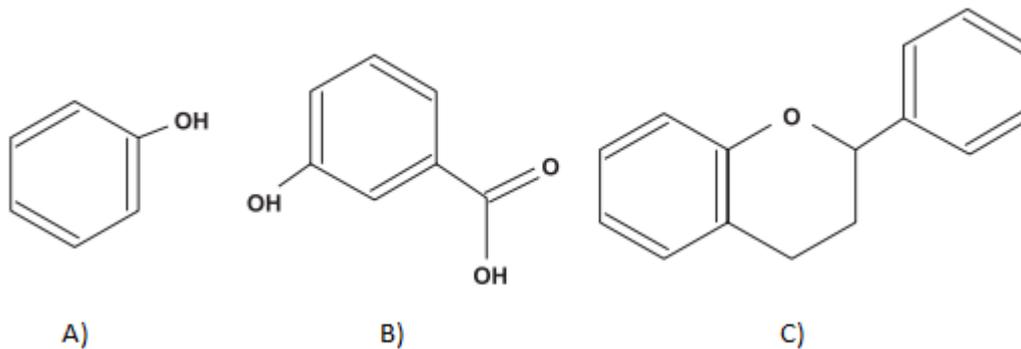


Figura 1 - Estrutura básica dos principais compostos fenólicos encontrados em grãos, A) Anel aromático, B) Ácido fenólico e C) Flavonóide.

FONTE: Liu (2007).

Os principais ácidos fenólicos encontrados em vegetais são oriundos da via do ácido hidroxicinâmico e hidroxibenzóico, sendo predominantemente encontrados na forma ligada. Derivados do ácido hidroxibenzóico (protocatecuico, vanílico, siringico e gálico) geralmente são componentes de ligninas e taninos hidrolisáveis. Enquanto que derivados do ácido hidroxicinâmico (sinápico, p-cumárico, cafeico e ferúlico) encontram-se covalentemente associados aos compostos de parede celular, como celulose, proteínas, poliaminas e outros carboidratos insolúveis.

Luthria e Pastor-corrales (2006) estudaram o perfil e o teor de ácidos fenólicos em 15 variedades de feijão com colorações diferentes. Eles verificaram que os ácidos ferúlico, p-cumárico e o sinápico foram os predominantes nas 15 variedades, independente da coloração, sendo encontradas as maiores quantidades destes ácidos nas variedades de coloração preta.

Os flavonoides são compostos fenólicos que apresentam estrutura mais complexa, principalmente ligados a um ou vários glicosídeos, por ligações de hidroxilas ou carbono/carbono. Como esqueleto principal os flavonoides apresentam a presença de dois anéis aromáticos ligados a um grupamento piranosídico central, sendo classificados separadamente quanto a posição dos anéis aromáticos e hidroxilas (Figura 2).

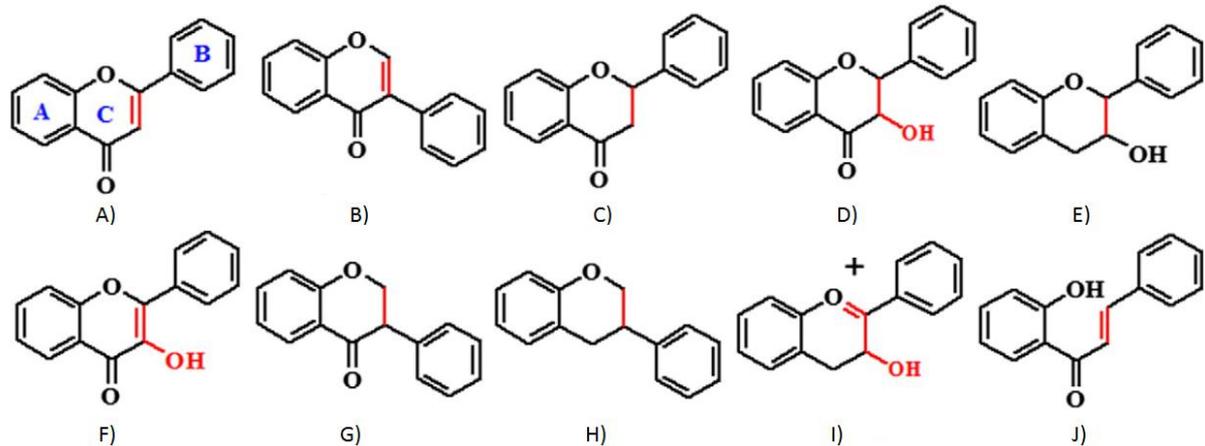


Figura 2 - Principais flavonoides encontrados em grãos de feijão. A) Flavona, B) Isoflavona, C) Flavanona, D) Flavanonol, E) Flavan-3-ol, F) Flavonol, G) Isoflavanona, H) Isoflavana, I) Antocianidina e J) Chalcona.

FONTE: Xiao, Muzashvili e Georgiev (2014).

Segundo Campos-Vega, Loarca-Piña e Oomah (2010); Lin et al. (2008) os flavonoides predominantes em grãos de feijão são flavonóis (catequina e quercitina), flavan-3-ol (antocianinas), proantocianidinas (taninos condensados) e isoflavonas.

As proantocianidinas, também chamadas de taninos condensados são os principais flavonoides ocorrentes em grãos de feijão. Eles apresentam elevada atividade antioxidante, porém a facilidade com que estes compostos se associam a proteínas, polissacarídeos e minerais influenciam negativamente a absorção de nutrientes (CALDAS; BLAIR, 2009; DÍAZ; CALDAS; BLAIR, 2010; STANLEY, 1992).

Segundo Luthria e Pastor-corrales (2006) estes compostos fenólicos podem ser encontrados em diversas formas, livres, polimerizados, glicosilados, esterificados ou conjugados. Relataram também que estes compostos não são distribuídos uniformemente nos tecidos da planta, podendo formar complexos com proteínas, lipídeos, carboidratos e outros compostos de parede.

Segundo Acosta-Estrada, Gutiérrez-Urbe e Serna-Saldívar (2014) grãos apresentam a maioria dos compostos fenólicos associados a componentes estruturais, os quais apresentam maior atividade antioxidante biológica. Utiliza-se este termo, pois é necessário que o composto fenólico chegue ao local final onde irá apresentar a atividade. Os compostos fenólicos ligados apresentam esta característica, pois são mais difíceis de serem degradadas no trato gástrico, sendo

assim liberados e absorvidos somente quando o material chega ao intestino, através da fermentação de bactérias presentes no cólon.

Estes compostos conferem aos grãos de feijão um grande potencial antioxidante, anticancerígeno e antimutagênico, pois apresentam a capacidade de inibir inicialmente a formação de radicais livres pela associação com íons metálicos e enzimas, assim evitando a formação de ânions superóxido e espécies reativas de oxigênio (BOATENG et al., 2008; HAYAT et al., 2014).

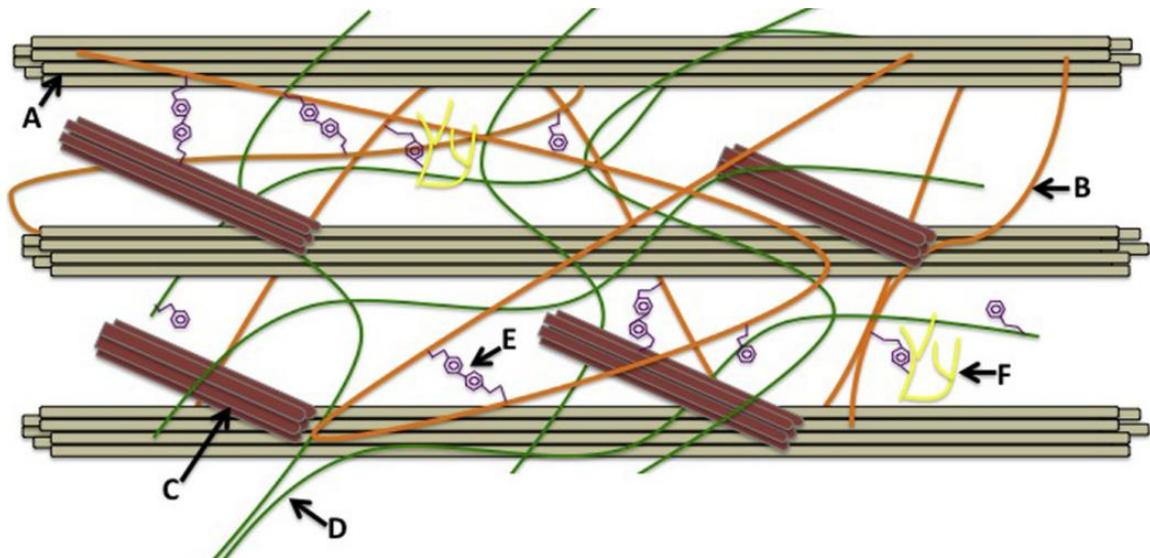


Figura 3 - Representação da parede celular, com ligação de componentes estruturais com compostos fenólicos. A- Celulose, B- Hemicelulose, C- Proteínas estruturais, D- Pectina, E- Compostos fenólicos, F- Lignina.

FONTE: Acosta-Estrada, Gutiérrez-Urbe e Serna-Saldívar (2014).

Estes compostos fenólicos encontram-se predominantemente dispostos no tegumento de leguminosas e na camada de aleurona de cereais, sendo extremamente variáveis e dependentes das condições de cultivo, fatores genéticos (como tamanho do grão, espessura e cor do tegumento), e da incidência de ataques de pragas e doenças.

Os grãos de feijão apresentam grande variabilidade genética, representada por suas diferentes colorações, tamanhos e formatos. Estas características promovem variações no conteúdo de metabólitos secundários de feijões. Segundo Campos-Vega, Loarca-Pinã e Oomah (2010) cultivares mais pigmentadas de feijão preto e vermelho apresentam elevados níveis de compostos fenólicos. Os

compostos fenólicos, localizados em sua maioria no tegumento dos grãos, são extremamente suscetíveis a degradação por fatores abióticos como temperatura, teor de água e luminosidade, e bióticos como a atividade enzimática, pois estão na periferia do grão, como comprovam estudos realizados por Nasar-Abbas et al.(2008); Nasar-Abbas et al.(2009) onde verificaram escurecimento acentuado de feijões fava associado a redução de compostos fenólicos.

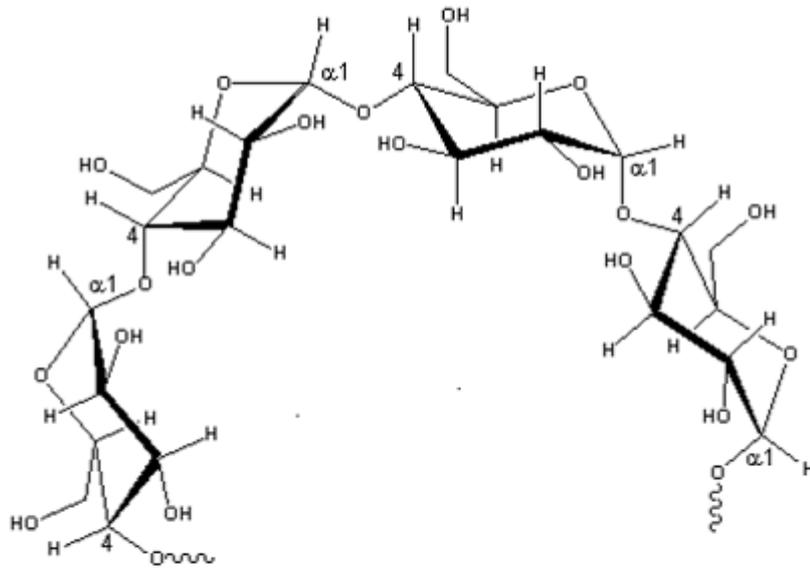
2.4 Amido

2.4.1 Caracterização do amido de feijão

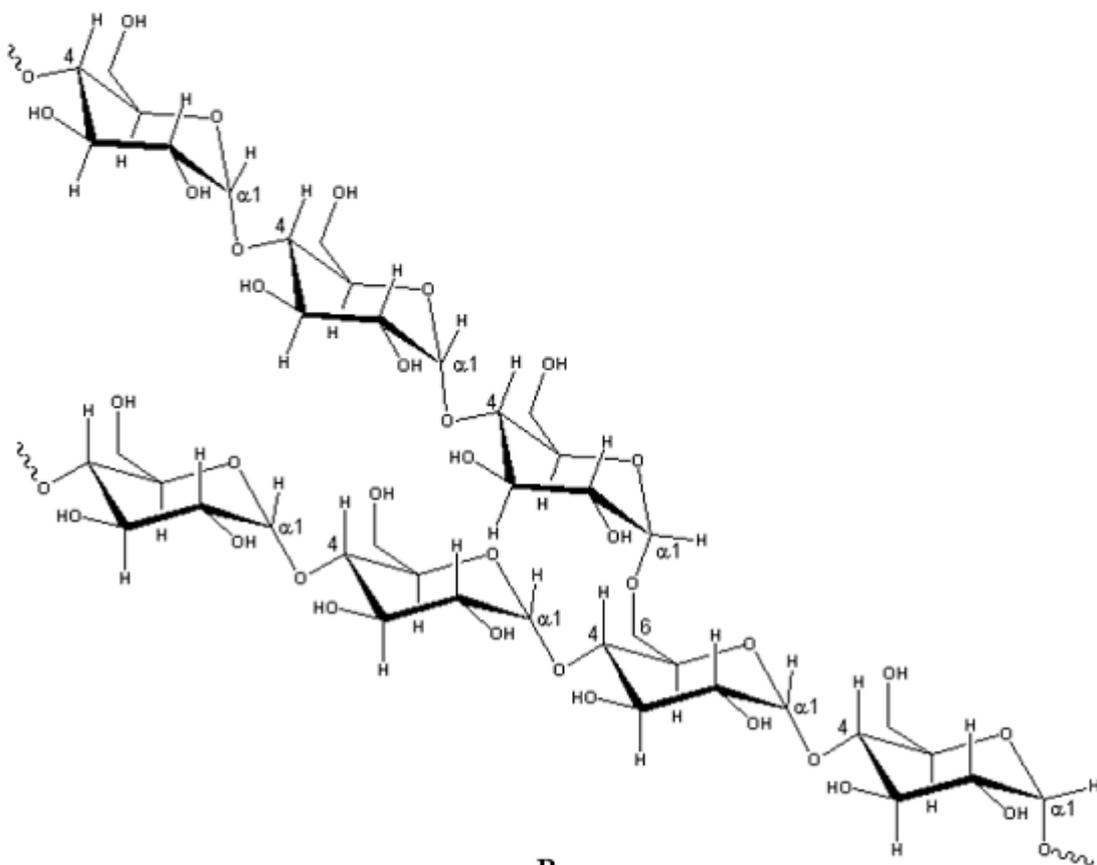
Os grãos de feijão apresentam excelente qualidade nutricional devido ao conteúdo de proteínas, minerais, fibras dietéticas e vitaminas, destacando-se também pela grande quantidade de carboidratos, com aproximadamente 50 a 60%. Estes carboidratos são constituídos principalmente de amido, representando 20 a 45% da constituição dos grãos (CHUNG et al. 2008; HUGHES et al., 2009).

O amido é o principal polissacarídeo de reserva dos vegetais, encontrado na forma de grânulo, composto por dois homopolímeros principais de glicose, a amilose e amilopectina (Figura 4). Na sua forma nativa o amido é considerado um semicristalino com níveis variados de cristalinidade, conferidos principalmente pelo conteúdo de amilopectina.

A amilose é um polímero essencialmente linear de unidades de D-glicose unidas por ligações α -(1-4), com pequena taxa (<0,1%) de ligações α -(1-6). Ela apresenta um grau de polimerização médio (DP_n), comprimento de cadeia médio (CL) de 250-670 e peso molecular de 1×10^5 a 1×10^6 Da. Embora seja ilustrada tipicamente por uma estrutura linear de cadeia, a amilose é frequentemente helicoidal. O interior da hélice contém átomos de hidrogênio (característica de hidrofobicidade), permitindo que a amilose forme complexos com ácidos graxos livres. Enquanto que a amilopectina é um polímero altamente ramificado formado por unidades de D-glicose unidas por ligações α -(1-4), com 5 a 6% de ligações α -(1-6) apresentado um alto grau de polimerização (DP_n) 4700–12800, menor comprimento de cadeia (CL) 17–24 e peso molecular 1×10^7 a 1×10^9 Da (HOOVER et al., 2010; HUGHES et al., 2009; OVANDO-MARTÍNEZ et al., 2011; VANDEPUTTE; DELCOUR, 2004).



A



B

Figura 4 - A) Estrutura da amilose [polímero linear composto por D-glicoses unidas em $-(1-4)$]. B) Estrutura da amilopectina [polímero ramificado composto por D-glicoses unidas em $-(1-4)$ e $-(1-6)$].

Fonte: Parker e Ring (2001).

O amido isolado a partir de grãos de feijão apresenta valores de amilose entre 27,2 e 39,3%, formato oval, redondo ou esférico, com comprimento de 8 a 55µm e largura de 7 a 37 µm, sendo esta morfologia granular dos amidos de feijão principalmente influenciadas por características genéticas e de cultivo (HOOVER et al., 2010; OVANDO-MARTÍNEZ et al., 2011).

Leguminosas como o feijão apresentam elevados teores de amido resistente. Este amido não é digerido no intestino delgado, sendo apenas fermentado pelas bactérias fermentativas no intestino grosso. Além de não elevar os níveis de glicose no sangue, esta fermentação leva a formação de ácidos graxos de cadeia curta, que são benéficos a saúde do cólon (CHUNG et al., 2008; HUGHES et al., 2009). Esta dificuldade na digestão do amido pode estar associada a diversos fatores destacados por (HOOVER et al., 2010), como a ausência de poros na superfície do grânulo, ao teor de amilose, ao padrão de cristalinidade e a interações fortes entre cadeias de amilose e/ou amilopectina.

2.4.2 Propriedades do amido

O amido é uma excelente fonte de energia, e apresenta grande aplicação na indústria de alimentos, sendo utilizado como espessante, estabilizante coloidal, geleificante, agente de volume, agente de retenção de água e adesivo (Paraginski et al., 2014a; SINGH et al., 2003), para isso a fonte e o método de extração devem ser específicos para esta aplicação. A extração do amido é dificultada em grãos de feijão devido ao elevado teor de proteínas e fibras, o qual dificultam a sedimentação deste material, em muitas vezes formando uma emulsão, sendo necessário a purificação para evitar alterações nas demais propriedades.

A extração comercial do amido de feijão por via seca requer, tamanho de partícula muito reduzido, afim de separar os grânulos de amidos da matriz proteica, sendo posteriormente necessário a classificação com o auxílio de ar. Segundo Hoover et al. (2010) o método mais utilizado em escala laboratorial é o de moagem úmida, onde o grão é hidratado antes da moagem, este método apresenta elevados níveis de pureza em comparação ao de via seca.

A cristalinidade do amido é um dos principais fatores que afetam as propriedades térmicas do amido (HOOVER et al., 2010; HUGHES et al., 2009;

RUPOLLO et al., 2011), e é dada pela disposição entre amilose e amilopectina, nas quais zonas cristalinas e amorfas são formadas (Figura 5).

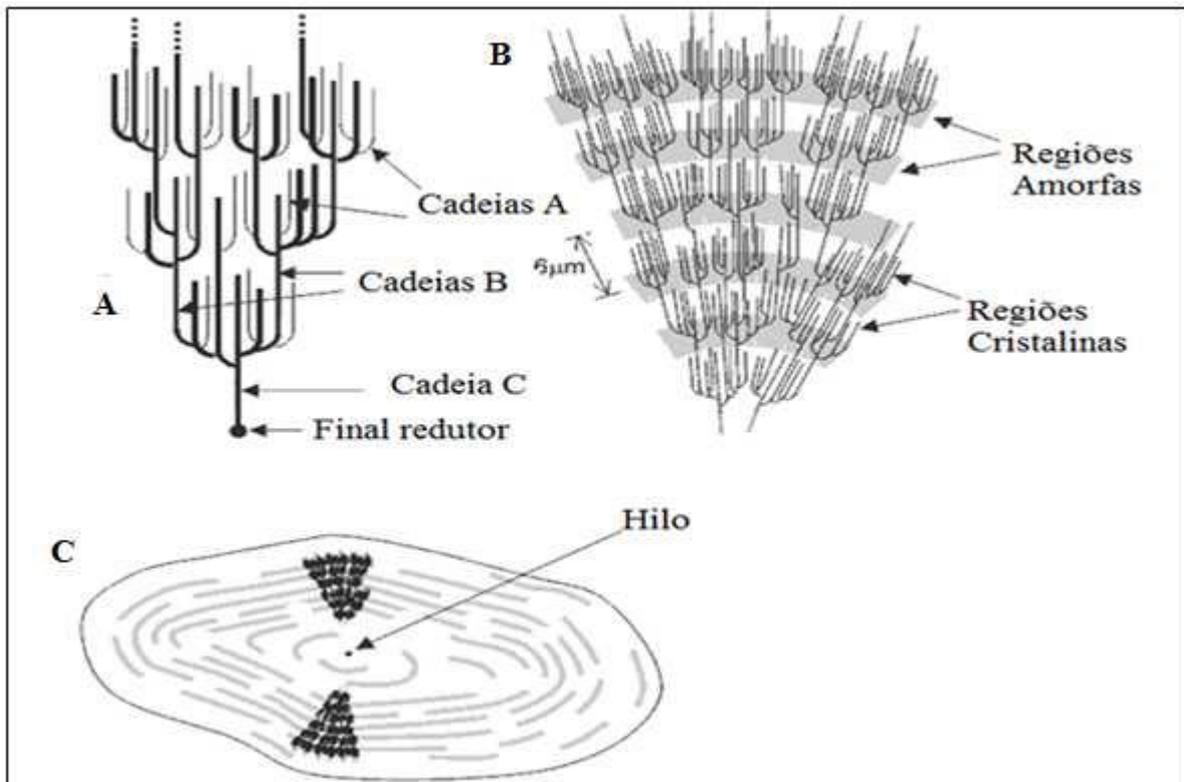


Figura 5 - A) Classificação das cadeias da amilopectina em cadeias tipos A, B e C; B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido; C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilum.

FONTE: adaptado de Parker e Ring (2001).

Os padrões de cristalinidade são definidos com base nos espaços interplanares e intensidade relativa das linhas de difração de raio-X, e se apresentam em três padrões principais de difração, o tipo “A”, típico de cereais, “B” de tubérculos e raízes e “C” apresenta semelhança aos padrões “A” e “B” típico de amido de leguminosas. A cristalinidade tipo A é descrita como uma unidade celular monocíclica altamente condensada e cristalina, em que 12 resíduos de glicose abrigam quatro moléculas de água entre as hélices. A estrutura de padrão tipo B é mais claramente definida, sendo composta por uma unidade básica de cadeias que são empacotadas em um arranjo hexagonal, onde a unidade celular tem duas duplas hélices no sentido anti-horário, alinhadas e arranjadas em paralelo. Essa estrutura contém 36 moléculas de água para cada 12 resíduos de glicose, sendo que a metade dessa água é fortemente ligada às duplas hélices, e a outra metade é

concentrada em um eixo em parafuso (BULÉON et al., 1998; COPELAND et al., 2009; TESTER, KARKALAS e QI, 2004)..

O amido de grãos de feijão apresenta padrão de cristalinidade do tipo “C”, variando de 17 a 34% de cristalinidade. As variações na cristalinidade se devem ao tamanho dos cristalitos, número de cristalitos, arranjos no interior da zona cristalina, ao teor de água e conteúdo polimórfico, afetando diretamente as propriedades térmicas e de pasta

As propriedades térmicas do amido podem variar conforme a origem botânica do material que foi utilizado para extração do amido, fazendo com que sejam alteradas as temperaturas inicial e final de gelatinização e a energia total necessária para completa gelatinização. A gelatinização pode ser influenciada pela forma, tamanho dos grânulos, associação com proteínas, complexação amilose/amilopectina.

A gelatinização é a transição da fase ordenada/nativa, para a fase desordenada/gelatinizada. Segundo Hoover et al. (2010); Rupollo et al. (2011) esta transição está associada a difusão da água no interior do grânulo, absorção de água pela região amorfa, hidratação e expansão radial dos grânulos, absorção de calor, perda da birrefringência, perda da cristalinidade, desenrolamento das duplas hélices e lixiviação da amilose. Segundo Singh et al. (2003) a gelatinização ocorre primeiramente na região amorfa, pois essa região possui menos ligações de hidrogênio em comparação com a região cristalina (Figura 5). A perda de cristalinidade é um indicador de desordem molecular, porém essa desordem molecular não provoca a diminuição na quantidade da região cristalina (amilopectina).

As propriedades térmicas medidas através da calorimetria diferencial de varredura (DSC) são muito dependentes da estrutura molecular dos grânulos e ao grau de polimerização. Em cereais este comportamento já está bem elucidado, porém em leguminosas ainda são necessários estudos que relacionem a estrutura molecular da amilose e amilopectina com as propriedades térmicas obtidas em DSC.

O destino final do amido depende principalmente das suas propriedades de pasta. A pasta segundo Hoover et al. (2010) é definida como uma massa viscosa formada pela associação ou dissociação dos homopolímeros de glicose amilose/amilopectina ou por fragmentos de ambas. Quando suspensões de amido são aquecidas acima da temperatura de gelatinização, ou seja, quando não é

possível reverter a gelatinização, os grânulos entram em colapso e o arranjo molecular é perdido ocorrendo assim a lixiviação dos polímeros de amilose e amilopectina, a este ponto damos o nome de temperatura de pasta, quando começa a gelatinização. Os amidos apresentam grânulos com maior ou menor facilidade de hidratação e gelatinização independentemente da fonte, portanto apresentam um comportamento diferenciado durante a gelatinização. Esse poder de inchamento e solubilidade variam de acordo com a fonte botânica do amido, fornecendo evidências da interação entre as cadeias de amido dentro dos domínios amorfos e cristalinos. Elevados picos de viscosidade estão associados a maior facilidade dos grânulos intumescerem sem ruptura, esta característica também faz com que ocorra uma rápida quebra de viscosidade (SINGH et al., 2003). As propriedades de inchamento e gelatinização são controladas, em parte, pela estrutura molecular da amilopectina (comprimento de cadeia, extensão de ramificação, peso molecular), pela composição do amido (proporção amilose/amilopectina e teor de fósforo) e pela arquitetura granular (proporção entre regiões cristalinas e amorfas) (HOOVER et al., 2010; HUGHES et al., 2009; OVANDO-MARTÍNEZ et al., 2011).

A retrogradação é outra característica importante do gel de amido (Figura 6). Após a gelatinização, ou seja, a perda da birrefringência, se a energia do sistema for reduzida ocorrerá o resfriamento, e as ligações de hidrogênio passam a ser fortalecidas, ocorrendo a associação e a reorganização molecular, que culmina com a formação de simples e duplas hélices. Em leguminosas são verificados elevados níveis de retrogradação, principalmente relacionados a lixiviação da amilose. Em amidos de leguminosas esse teor de amilose é muito elevado, o qual proporciona ao final da retrogradação um gel muito firme, em muitos casos podendo ocorrer a formação do fenômeno de sinérese e ao aparecimento de água livre (HOOVER et al., 2010; SINGH et al., 2003; VANIER et al., 2012).

A amilose apresenta endoterma de fusão de 140 a 180°C, e a presença de ácidos graxos livres ou lipídios favorece a formação de complexos de inclusão, as quais justificam estas maiores temperaturas. Enquanto que a amilopectina retrograda numa taxa muito menor, durante um longo tempo, com endoterma de fusão muito menor, aproximadamente, 45 a 60°C (PARKER; RING, 2001).

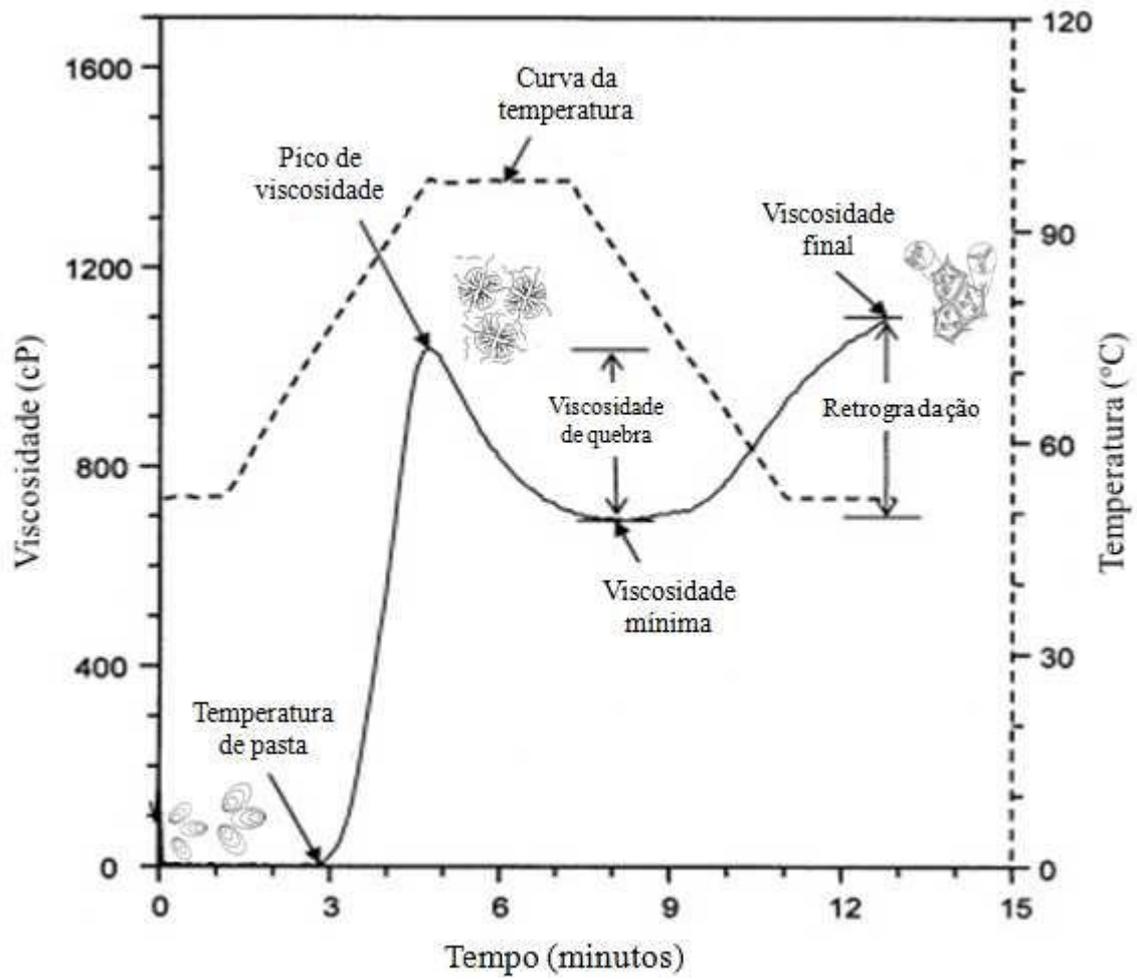


Figura 6 - Esquema de uma curva típica de comportamento de pasta obtido de um *Rapid Visco Analyzer* (RVA).

FONTE: adaptado de Kaur et al.(2009).

3 Material e Métodos

3.1 Experimento

Foram utilizados grãos de feijão preto da cultivar Diamante Negro, produzidos no município de Erechim, estado do Rio Grande do Sul, Brasil, provenientes da safra 2012/2013. O material foi obtido de um produtor com teor de água 17% e em seguida transportados para o laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos, do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial (DCTA), da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Foi realizado um expurgo preliminar antes da secagem para eliminar pragas provenientes do campo.

O experimento foi realizado em dois teores de água 14 e 17%. Para isso uma parte dos grãos foram secos em secador estacionário, até o teor de água de 14%, com temperatura do ar de secagem não ultrapassando 35°C e fluxo de ar de 9m³ por toneladas por minuto (Figura 7).



Figura 7 - Secador estacionário protótipo do Laboratório de Grãos

3.2 Delineamento experimental

Uma amostra de 1000 gramas de grãos de feijão foram armazenados em sacos de polietileno de baixa densidade, 15 µm de espessura de filme plástico, com dimensões de 18x30cm, vedados com máquina Webomatic®.

Os grãos foram armazenados com teores de água de 14 e 17%, nas temperaturas de 11, 18, 25 e 32°C. Para avaliação das propriedades tecnológicas e perfil de metabólitos as análises foram realizadas em triplicata no tempo zero, 120, 240, 360 dias conforme desenho experimental (Tabelas 1 e 2), para a avaliação das propriedades do amido as amostras foram avaliadas no tempo zero e 360 dias. As amostras foram coletadas em triplicata e em seguida homogeneizadas, sendo posteriormente analisadas em triplicata para cada uma das variáveis dependentes.

Tabela 1 - Delineamento experimental para avaliar as propriedades tecnológicas e nutricionais de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (Estudo 1)

Variáveis Independentes			Variáveis dependentes
Teor de água (%)	Temperatura (°C)	Tempo (dias)	
14	11	0	Teor de água Proteína Bruta Lipídeos Minerais
	18	120	Tempo de cocção Dureza dos grãos Peso de mil grãos
17	25	240	Proteína solúvel pH da farinha Acidez dos lipídeos
	32	360	Condutividade elétrica Sólidos lixiviados

Tabela 2 - Delineamento experimental para avaliar o perfil de metabólitos de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (Estudo 2)

Variáveis Independentes			Variáveis dependentes
Teor de água (%)	Temperatura (°C)	Tempo (dias)	
	11	0	Compostos fenólicos totais
14	18	120	Ácidos fenólicos totais
17	25	240	Flavonoides totais
	32	360	Proantocianidinas
			Antocianinas
			Atividade antioxidante-ABTS
			Atividade antioxidante-DPPH

Tabela 3 - Delineamento experimental para avaliar as propriedades do amido de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (Estudo 3)

Variáveis Independentes			Variáveis dependentes
Teor de água	Temperatura	Tempo (dias)	
	11	0	Rendimento de extração
14	18		Parâmetros de cor
	25		Grau de pureza
17	32	360	Poder de inchamento
			Solubilidade
			Propriedades de pasta – RVA
			Propriedades térmicas – DSC
			Dureza do gel

3.3 Avaliações

3.3.1 Estudo 1 - Alterações nas propriedades tecnológicas e nutricionais de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

3.3.1.1 Teor de água dos grãos

O teor de água foi determinado segundo normas da ASAE (2000), em estufa com circulação natural de ar, durante 24 horas a 105 °C, com 10g de grãos por cápsulas de alumínio.

3.3.1.2 Composição química

Os teores de cinzas, proteína bruta e lipídeos foram determinados de acordo com metodologia descrita pela AOAC (2006), e os resultados foram expressos em base seca.

3.3.1.3 Tempo de cocção

O tempo de cocção foi determinado segundo o método proposto por Mattson (1946) e alterado por Burr, Kon e Morris (1968), com adaptações. O tempo de cocção foi avaliado com 25 grãos uniformes e inteiros previamente embebidos em 80 mL de água destilada, por 14 horas, a 25°C, e colocados no equipamento de Mattson modificado, com 25 hastes. Cada haste apresenta comprimento de 210 mm e massa de 89 g, possuindo, na extremidade, uma ponta afunilada com 2,05 mm de diâmetro e comprimento de 9 mm, para a penetração no grão em análise. O equipamento com os grãos foi colocado em copo de *Becker* de 2000 mL, contendo 400 mL de água destilada, fervendo em chapa elétrica. Em continuidade, o tempo de cocção das amostras passou a ser cronometrado em minutos após a água atingir a temperatura de 90°C. O tempo de cocção era finalizado pela queda da 13ª vareta, perfurando, deste modo, mais de 50% dos grãos.

3.3.1.4 Dureza dos grãos

A dureza foi realizado no tempo zero e aos 12 meses de armazenamento utilizando um texturômetro (*Stable Micro Systems Texture Analysers*, modelo TA.XTplus), conforme método descrito por Bourne (1978).. O tempo utilizado para a cocção dos grãos de feijão foi 23 minutos, correspondente ao tempo de cocção obtido no início do armazenamento. Foram realizadas 30 repetições, onde os grãos foram colocados individualmente na base do aparelho e submetidos a uma compressão 80% com uma sonda cilíndrica de 40 mm de diâmetro e velocidade do teste de 1 mm.s^{-1} , em dois ciclos, empregando-se carga de 5 Kg para calibração. A dureza corresponde a força máxima obtida durante o primeiro ciclo de compressão

3.3.1.5 Peso de mil grãos

O peso de mil grãos foi realizado segundo Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), com contagem de três repetições de 1000 grãos íntegros cada e pesagem em balança de precisão.

3.3.1.6 Solubilidade proteica

O teor de proteína solúvel foi determinado segundo método descrito por Liu et al. (1992), com modificações. Em cada amostra de 2 gramas de grãos moídos foram

adicionados 50mL de água destilada, sendo as amostras e a água misturadas com o auxílio de agitador magnético durante 1 hora, após esse período as amostras foram centrifugadas a 5300 g durante 20 minutos a 24 °C de temperatura em centrífuga *Eppendorf Centrifuge 5430R*. Uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi coletada e a determinação da solubilidade proteica foi determinada conforme o método descrito pela AOAC (2006), o mesmo utilizado para avaliação do teor de proteína bruta, e o resultado foi expresso em percentual de solubilidade proteica (Equação 1).

$$SP (\%) = \frac{P_{sob}}{P_{bruta}} * 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

onde: *SP (%)*= Solubilidade proteica; *P_{sob}*= Teor de proteína no sobrenadante; *P_{bruta}*= Teor de proteína bruta da amostra.

3.3.1.7 pH dos grãos

O pH foi determinado segundo método proposto por Rehman, Habib e Zafar (2002). O pH foi determinado em um filtrado de 2 gramas de grãos moídos (80 mesh tamanho) em 20mL de água destilada. A leitura foi realizado em peagâmetro com eletrodo (Pye Unicam, Inglaterra).

3.3.1.8 Índice de acidez dos lipídeos

O índice de acidez dos lipídios foi realizado segundo normas do Instituto Adolfo Lutz para análises de alimentos (2004). Os resultados foram expressos em mg NaOH por grama de óleo.

3.3.1.9 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica foi determinada segundo método proposto por El-Refai et al. (1988), em que 10 gramas de grãos de feijão foram imersos em 50 mL de água deionizada durante 18 horas, após esse período foi medida a condutividade elétrica, e o resultado foi expresso em $\mu\text{S. cm}^{-1}$.

3.3.1.10 Sólidos lixiviados

A determinação dos sólidos lixiviados foi realizada segundo Nasar-Abbas et al. (2008). Uma amostra de 10 gramas de grãos de feijão foram imersos em 50 mL de água deionizada durante 18 horas. Após o período de imersão a água foi coletada e levada a estufa com circulação de ar a 105°C, por 24 horas. O resultado foi expresso em mg. 100g⁻¹ de grãos em base seca.

3.3.2 Estudo 2 - Alterações no perfil de metabólitos de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

3.3.2.1 Obtenção do extrato para as análises de metabólitos secundários

O extrato foi obtido conforme método descrito por Nasar-Abbas et al. (2008), com algumas modificações. Para extração dos metabólitos secundários foi utilizado grãos moídos integrais e com casa. Foram pesados 2 gramas de grãos moídos em tubo do tipo Falcon, sendo posteriormente realizados três extrações com 10 mL de solução de acetona:água, 70:30 (v/v). As amostras foram agitadas durante 20 minutos a cada extração e em seguida foram centrifugadas a 7500 g por 15 minutos. Os sobrenadantes foram unidos e utilizados para as avaliações seguintes.

3.3.2.2 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, proposto por Zieliński e Kozłowska (2000). Foram adicionados 100 µL de extrato em tubo de falcon de 15 mL e completado o volume para 500 µL com água destilada. Foram adicionados 250 µL de reagente Folin-Ciocalteu 1 N e aguardou-se 8 minutos para redução dos compostos fenólicos com o reagente Folin-Ciocalteu, mais 1,25 mL da solução de carbonato de sódio (7%) ao tubo de Falcon, que foi agitado e colocado em ambiente ao abrigo da luz. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 725 nm após 2 horas. Os teores de compostos fenólicos foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de amostra, através de curva realizada com padrão de ácido gálico.

3.3.2.3 Compostos fenólicos não tânicos e taninos

O conteúdo de compostos fenólicos não tânicos e taninos foram determinados segundo Nasar-Abbas et al. (2008). Foram pesados em tubos Falcon 100 mg PVPP (Polivinil Polypirrolidona), neste tubo foi adicionado 1 mL do extrato e 1 mL de água, em seguida as amostras foram agitadas em vórtex e levadas a 5 °C durante 15 minutos. As amostras foram centrifugadas a 7500 g durante 15 minutos. Para determinação dos compostos fenólicos não tânicos foi realizada a reação de cor proposta por Zieliński e Kozłowska (2000). Os taninos foram obtidos pela subtração do conteúdo de compostos fenólicos não tânicos do conteúdo de compostos fenólicos totais presentes na amostra. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de amostra.

3.3.2.4 Flavonoides totais

A reação colorimétrica foi realizada conforme método proposto por Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999), com adaptações. Adicionou-se 0,5 mL do extrato em tubo de Falcon de 15 mL juntamente com 2 mL de água e 0,15 mL de NaNO₂ (5%), deixou-se reagir durante 5 min., em seguida adicionou-se 0,15 mL de AlCl₃ (10%), deixou-se reagir por mais 6 min., após adicionou-se 1 mL de NaOH 1 mol.L⁻¹ e 1,2 mL de água destilada, após realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 510 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de catequina (EC) por 100 gramas de amostra, através de curva realizada com padrão de catequina.

3.3.2.5 Proantocianidinas totais

A determinação do conteúdo de proantocianidinas foi determinado segundo Díaz et al. (2010). Foram pipetados 0,5 mL do extrato em tubos de vidro, em seguida foram adicionados 3,0 mL de butanol acidificado (butanol:HCl, 950 mL:50 mL) e 100 µL de reagente férrico. A mistura foi levada a banho fervente (97-100°C), por 30 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 550 nm e os resultados expressos em mg de leucocianidinas por 100 gramas de amostra.

3.3.2.6 Antocianinas totais

Para determinação das antocianinas totais foi utilizado método proposto por Abdel-Aal e Hucl (1999). Em 0,5 gramas de grãos moídos foram adicionados 30 mL de metanol acidificado (metanol e 1 N HCl, 85:15 v/v). As amostras foram centrifugadas a 7500 g durante 15 minutos. Em seguida a leitura foi realizada a em espectrofotômetro 535 nm e os resultados foram expressos em mg de equivalente de cianidina 3-glicosídeo (EC-3-G) por 100 gramas de amostra.

3.3.2.7 Atividade antioxidante – radical DPPH*

A atividade antioxidante pelo método do radical DPPH foi determinada segundo Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Adicionou-se 10µL de extrato e 90µL de metanol p.a., seguido de 3,9 mL de solução de DPPH com absorvância entre 1,080 e 1,120 nm. A mistura foi agitada em vórtex e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515 nm após 2 horas e 30 minutos, com aparelho zerado com metanol. O teor de atividade antioxidante foi expresso em percentual de inibição do radical DPPH (Equação 2).

$$PI (\%) = (Abs B - Abs A / Abs B) * 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde: *PI (%)*= Percentual inibição; *Abs A*= Absorvância da amostra; *Abs B*= Absorvância da prova em branco.

3.3.2.8 Atividade antioxidante- Radical ABTS*

A atividade antioxidante pelo método do radical ABTS foi determinada segundo Re et al. (1999). Adicionou-se 0,1 mL (100 µL) do extrato em tubo de Falcon de 15 mL e a este 3,9 mL (3900 µL) da solução diluída de ABTS com absorvância 0,700±0,05 nm. A mistura foi agitada em vortex, e após 6 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 734 nm, com aparelho zerado com álcool etílico. A atividade antioxidante foi expressa em mg de equivalente trolox (ET) por grama de amostra.

3.3.3 Estudo 3 - Alterações nas propriedades do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

3.3.3.1 Extração do amido

O amido foi extraído segundo método proposto por Rupollo et al. (2011). As amostras foram moídas em moinho laboratorial (Perten, 3100), na granulometria de 70 mesh. Em seguida, 150 gramas de grãos moídos foram embebidos em água destilada contendo 0,16% de bissulfito de sódio (NaHSO₃) por 24 horas a 4°C, sendo, posteriormente, drenado o bissulfito. A amostra foi suspensa em 400 mL de água destilada e homogeneizada em um liquidificador de laboratório. O material homogeneizado, no liquidificador, foi passado através de uma peneira de 200 mesh e deixado em repouso por três horas. O sobrenadante foi removido e a camada de amido decantada foi ressuspensa em água destilada e centrifugada a 1200 giros por 20 minutos. A camada superior não-branca foi removida com uma espátula e a camada branca foi ressuspensa em água destilada e centrifugada a 1200 giros por 15 minutos. A camada superior não-branca foi removida. O amido foi coletado e seco em estufa a 40°C por 12 horas.

3.3.3.2 Parâmetros de cor

O perfil colorimétrico do amido isolado de grãos de feijão foi avaliado em colorímetro (Minolta, modelo CR-310, Osaka, Japão), que faz a leitura de cores num sistema tridimensional, avaliando a cor em três eixos, onde o eixo L* avalia a amostra do preto ao branco, o eixo a* da cor verde ao vermelho e o eixo b* da cor azul ao amarelo.

Os resultados são expressos nos seus parâmetros individuais, *Chroma* (Equação 3), Ângulo *Hue* (Equação 4). A Chroma representa a saturação da cor, na qual varia de cores fracas (valores baixos) a cores vivas (valores altos). O ângulo hue° é definido como um círculo onde 0° (vermelho púrpura), 90° (amarelo), 180° (verde azulado) e 270° (azul).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

Eq.(3)

$$h^{\circ} = \left[\tan^{-1} \frac{b^{*}/a^{*}}{6,2832} \right] \times 360 \quad \text{Eq. (4)}$$

Onde: C^{*} = Chroma; h° = Ângulo hue

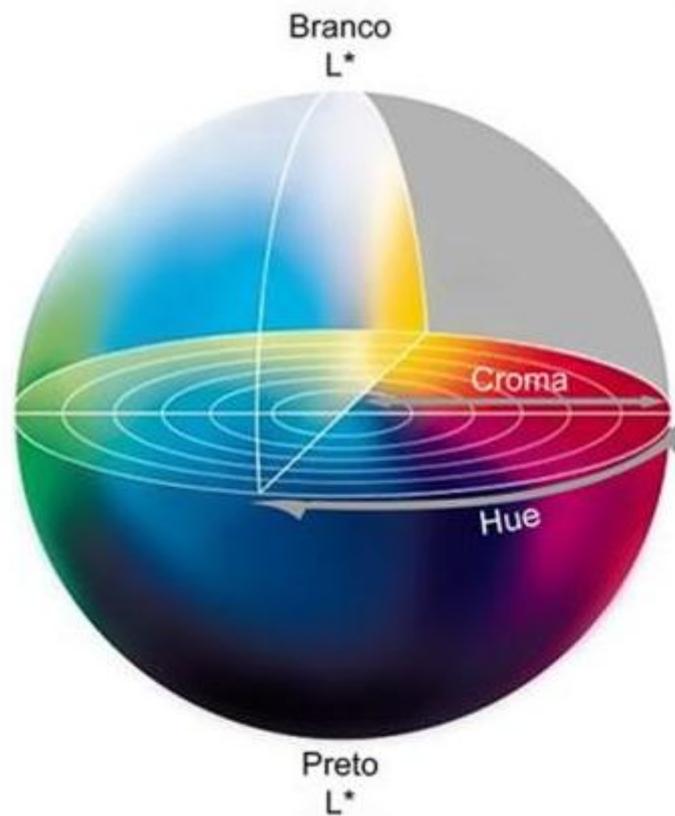


Figura 8 - Escala de cores CIELAB

3.3.3.3 Grau de pureza

Os teores de minerais, lipídeos e proteína bruta foram determinados de acordo com metodologia descrita pela AOAC (2006).

3.3.3.4 Poder de inchamento e solubilidade

O poder de inchamento e a solubilidade dos amidos foram determinados conforme descrito por Leach, McCowen e Schoch (1959). Amostras de 1,0 gramas de amido foram misturadas com 50 mL de água destilada em tubos Falcon. As suspensões foram aquecidas a 60, 70, 80 e 90°C, após 30 minutos as amostras

foram retiradas e resfriadas à temperatura ambiente. Os tubos contendo a amostra foram centrifugadas a 1000 g por 20 minutos. O sobrenadante foi colocado em capsulas de alumínio e levados a estufa a 110°C até peso constante, quantificando assim a fração solúvel. Assim sendo, a solubilidade foi expressa em percentagem de sólidos presentes na fração solúvel com base no peso seco da amostra. O poder de inchamento foi representado como a razão entre o peso do sedimento úmido com o peso da amostra inicial seca (dedução do montante de amido solúvel).

3.3.3.5 Parâmetros viscoamilográficos- RVA

As características viscoamilográficas dos amidos foram avaliadas com o analisador rápido de viscosidade (RVA- *Rapid Visco Analyser*), usando programa *Thermocline for Windows versão 1.10*. O perfil utilizado foi o *Standard Analysis 1*, cujos parâmetros são apresentados na Tabela 4. A quantidade de amostra utilizada para os testes foi de 3 gramas corrigidas para 14% de teor de água, conforme descrito Singh et al. (2003).

Tabela 4 - Programação do RVA utilizada nas análises viscoamilográficas

Tempo (hora:min:seg)	Tipo (temperatura/velocidade)	Valor (°C ou rpm)
00:00:00	Temperatura	50
00:00:00	Velocidade	960
00:01:00	Temperatura	50
00:04:42	Temperatura	95
00:07:12	Temperatura	95
00:11:00	Temperatura	50

Tempo final do teste: 00:13:00

As características avaliadas foram:

- Temperatura de pasta: temperatura em °C, calculada com base no tempo de funcionamento do RVA (6°C.min⁻¹); correspondente ao ponto onde se inicia a formação da curva;
- Viscosidade máxima: viscosidade máxima desenvolvida durante o período de aquecimento, expressa em RVU (Unidade de medida viscoamilográfica fornecida pelo Rapid Visco Analyser);
- Viscosidade de quebra: diferença de viscosidade entre o pico máximo e a viscosidade mínima a 95°C;

- Retrogradação: diferença de viscosidade mínima a 95°C e a viscosidade final, também chamado de *setback*.
- Viscosidade final: valor da viscosidade, obtido no ponto final do ciclo de resfriamento, à temperatura de 50°C expressa em RVU.

3.3.3.6 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As características de gelatinização do amido de feijão foram determinadas através de Calorimetria Diferencial de Varredura (TA-60WS, Shimadzu, Kyoto, Japão). Amostras de amido (cerca de 2,5 mg, em base seca) foram pesadas diretamente em cadinhos de alumínio (Mettler, ME-27.331) e água destilada foi adicionada para obter uma suspensão com 75% de água. Os cadinhos de alumínio foram hermeticamente selados e deixou-se estabilizar durante uma hora antes da análise. Um cadinho vazio foi utilizado como referência. Os cadinho de alumínio contendo a amostra foram aquecidas 30-120° C, à taxa de 10 °C por minuto. A temperatura inicial de gelatinização (T_0), a temperatura de pico (T_p), a temperatura final ou de conclusão (T_c) e a entalpia de gelatinização (ΔH) foram determinadas.

3.3.4. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA, e o efeito do teor de água, temperatura, e do tempo de armazenamento foram avaliados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4 Resultados e Discussão

4.1. Estudo 1 - Alterações nas propriedades tecnológicas e nutricionais de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Na tabela 5 estão apresentados os teores de água dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e em dois teores de água iniciais.

Foram utilizados neste experimento os teores de 14 e 17% como definição de nome para o tratamento, embora tenham sido obtidos teores de água iniciais de 13,81 e 16,54%, respectivamente.

Tabela 5 - Teor de água dos grãos de feijão armazenados em temperaturas de 11, 18, 25, e 32°C, durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14% (13,8%)				
11	13,81±0,10 Ba*	13,58±0,15 Ca	13,77±0,12 D a	14,02±0,26 Ba
18	13,81±0,10 Ba	13,75±0,05 Ca	14,27±0,21 Ca	14,43±0,64 Ba
25	13,81±0,10 Bab	13,55±0,20 Cb	13,82±0,11 Dab	13,96±0,14 Ba
32	13,81±0,10 Ba	12,82±0,14 Db	12,76±0,25 Eb	12,05±0,14 Cc
Teor de água inicial 17% (16,5%)				
11	16,54±0,18 Aab	16,34±0,06 Ab	16,88±0,16 Aa	16,98±0,25 Aa
18	16,54±0,18 Ab	16,32±0,08 Ab	17,04±0,09 Aa	17,09±0,22 Aa
25	16,54±0,18 Aa	16,04±0,06 Ab	16,73±0,05 Aa	16,97±0,29 Aa
32	16,54±0,18 Aa	15,39±0,10 Bb	15,16±0,11 Bbc	14,83±0,19 Bc

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O teor de água dos grãos apresentou reduções quando os grãos foram armazenados em ambiente com temperaturas de 32°C em ambos os teores de água de armazenamento. Nos grãos armazenados com teor de água inicial de 14% são verificadas reduções para 12,82%, 12,76% e 12,05%, respectivamente aos 4, 8 e 12 meses de armazenamento. No armazenamento com 17% também foram verificados reduções para 15,39%, 15,16% e 14,83% de teor de água, respectivamente aos 4, 8 e 12 meses de armazenamento. Esta redução no teor de água se deve a elevada temperatura, onde o equilíbrio higroscópico acontece em teor de água mais baixo, pois o ar transfere energia para os grãos, que por sua vez transferem água para o

sistema, buscando o equilíbrio higroscópico. Essa redução nos teores de água dos grãos armazenados na temperatura de 32 °C provavelmente se devem ao elevado gradiente de água formado nesta temperatura, no qual a embalagem não apresentou eficiência na impermeabilidade. Devido a constituição proteica, os grãos de feijão apresentam elevada higroscopicidade, podendo em muitos casos até apresentarem aumentos no teor de água (EDMISTER; BREENE; SERUGENDO, 1990).

Nas Tabelas 6, 7 e 8 estão apresentados o teor de proteínas, cinzas e lipídeos dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.

Tabela 6 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no teor de proteína bruta (%) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (em base seca)

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água Inicial 14%				
11	25,59±0,49 Aa*	24,61±0,71 ABab	23,90±0,10 Ab	24,39±0,13 Ab
18	25,59±0,49 Aab	25,92±0,26 Aa	24,91±0,45 Ab	25,00±0,10 Aab
25	25,59±0,49 Aa	24,77±0,34 ABa	25,31±0,36 Aa	25,29±0,49 Aa
32	25,59±0,49 Aa	24,32±0,45 Bb	24,45±0,23 Ab	24,77±0,26 Aab
Teor de água Inicial 17%				
11	25,59±0,49 Aa	25,02±0,75 ABa	24,69±1,14 Aa	24,64±0,54 Aa
18	25,59±0,49 Aa	25,30±0,83 ABab	24,28±0,15 Ab	24,90±0,19 Aab
25	25,59±0,49 Aa	25,50±0,26 ABa	24,38±0,35 Aa	24,34±0,79 Aa
32	25,59±0,49 Aa	24,62±0,27 ABa	24,69±0,49 Aa	24,50±1,27 Aa

*Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 7 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no teor de cinzas (%) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (em base seca)

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água Inicial 14%				
11	4,58±0,28 Aa*	4,55±0,19 CDa	4,57±0,04 Ca	4,40±0,09 Ca
18	4,58±0,28 Aa	4,73±0,21 BCDA	4,65±0,11 BCa	4,49±0,00± BCa
25	4,58±0,28 Aa	4,30±0,02 Da	4,63±0,05 BCa	4,39±0,01 Ca
32	4,58±0,28 Aab	4,92±0,11 ABCa	4,70±0,09 ABCab	4,50±0,05 BCb
Teor de água Inicial 17%				
11	4,58±0,28 Ab	5,16±0,24 ABa	4,74±0,08 ABCb	4,62±0,02 ABb
18	4,58±0,28 Ac	5,33±0,08 Aa	4,86±0,02 Ab	4,71±0,02 Abc
25	4,58±0,28 Ab	5,11±0,20 ABa	4,80±0,06 ABab	4,55±0,08 Bab
32	4,58±0,28 Ab	5,25±0,16 Aa	4,69±0,05 ABCb	4,59±0,08 ABb

*Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 8 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no teor de lipídeos (%) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses (em base seca)

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água Inicial 14%				
11	1,44±0,01 Abc*	1,32±0,06 Bc	1,61±0,12 Cab	1,64±0,03 Ba
18	1,44±0,01 Aab	1,31±0,04 Bb	1,69±0,03 BCa	1,48±0,23 Bab
25	1,44±0,01 Ac	1,51±0,03 AB c	1,88±0,02 AB a	1,67±0,11 B b
32	1,44±0,01 Abc	1,63±0,28 Aab	1,94±0,09 Aa	1,72±0,05 Bab
Teor de água Inicial 17%				
11	1,44±0,08 Ab	1,51±0,04 ABb	1,84±0,05 ABa	1,72±0,03 Ba
18	1,44±0,08 Ac	1,56±0,03 ABc	2,03±0,10 Aa	1,75±0,01 ABb
25	1,44±0,08 Ab	1,53±0,03 ABab	1,94±0,13 Aa	1,99±0,33 ABa
32	1,44±0,08 Ac	1,73±0,02 Abc	1,94±0,01 Aab	2,26±0,31 Aa

*Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

No início do armazenamento os grãos de feijão apresentaram 25,59 % proteínas, 4,58 % de cinzas e 1,44 % de lipídeos (Tabelas 6, 7 e 8). Durante o armazenamento foram verificadas poucas alterações na composição de proteínas e cinzas, sem apresentarem diferenças significativas ao final do armazenamento, quando comparados ao tempo inicial de armazenamento. Para o teor de lipídeos foram verificados pequenos incrementos ao final do período de armazenamento em ambos os teores de água quando comparados com o tempo inicial de armazenamento, porém quando comparados os teores de água de 14 e 17 % somente foi verificada alteração na temperatura mais drástica de armazenamento (teor de água 17% e temperatura 32°C), com valor de 2,26 %.

Estes resultados estão de acordo com Berrios, Swanson e Cheong (1999) que realizaram estudo com armazenamento de feijão com baixo teor de água (9,25%) e encontraram valores de 25,93%, 4,65% e 1,59%, respectivamente para proteínas, cinzas e lipídeos, sem verificar alterações nestes constituintes durante 2 anos de armazenamento. Embora as alterações ocorridas sejam na maior parte devido a mudanças na conformação e associação com outros componentes, pode ser verificado que durante o armazenamento os grãos apresentam metabolismo ativo, e em condições elevadas de temperatura e umidade relativa apresentam consumo das reservas, o que pode explicar o aumento no teor de lipídeos (BERRIOS; SWANSON; ADELIN-CHEONG, 1999; CHIDANANDA et al., 2014;

PARAGINSKI et al., 2014b; PAREDES-LÓPEZ; MAZA-CALVIÑO; GONZÁLEZ-CASTAÑEDA, 1989; RANI et al., 2013).

Na Tabela 9 está apresentado o peso de mil grãos, dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.

Tabela 9 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no peso de mil grãos (gramas) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água Inicial 14%				
11	237,42±2,31 Aa*	227,49±2,58 Bb	230,03±2,70 ABb	230,26±1,68 CDb
18	237,42±2,31 Aa	230,06±1,88 ABb	227,40±2,61 Bc	228,12±1,05 Dbc
25	237,42±2,31 Aa	222,55±2,42 Bb	225,89±3,46 ABb	226,48±1,30 Db
32	237,42±2,31 Aa	227,59±3,49 Bb	226,61±4,05 ABb	227,09±2,16 Db
Teor de água Inicial 17%				
11	239,10±2,29 Aa	238,92±2,83 Aa	231,96±1,75 ABb	237,85±0,96 Ba
18	239,10±2,29 Aa	239,30±9,97 Aa	232,75±2,13 ABa	243,51±3,27 Aa
25	239,10±2,29 Aa	229,86±6,84 ABa	233,44±6,20 Aa	234,47±1,97 BCa
32	239,10±2,29 Aa	231,14±2,13 ABbc	233,05±2,97 ABb	226,67±1,45 Dc

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O peso de mil grãos apresentou pequenas alterações durante o armazenamento. Ao final do armazenamento foram verificados reduções nos valores de peso de mil grãos, nos grãos armazenados com 14% de teor de água, para todas as temperaturas, enquanto que os grãos armazenados com 17% de teor de água somente apresentaram redução na temperatura de 32°C, em ambos quando comparados com o tempo inicial de armazenamento.

Estes resultados vão ao encontro dos resultados de teor de água e composição química dos grãos (Tabelas 1, 2, 3 e 4), onde não foram verificadas grandes alterações na composição de proteínas, cinzas e lipídeos, porém na temperatura 32°C ocorreu uma redução intensa no teor de água dos grãos, o que pode justificar a redução do peso de mil grãos no teor de água de 17%.

Na tabela 10 está apresentada a solubilidade proteica dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.

Tabela 10 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na solubilidade proteica (%) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	57,27±1,02 Aa*	59,25±1,77 Aa	51,96±0,59 Cb	51,44±0,00 Bb
18	57,27±1,02 Aa	59,74±0,59 Aa	52,14±1,57 Cb	52,58±0,00 Bb
25	57,27±1,02 Ab	56,78±0,51 Acb	72,83±1,78 Aa	57,75±2,13 Ab
32	57,27±1,02 Aa	54,83±1,02Ca	51,77±1,05 Cb	46,38±1,25 Cc
Teor de água inicial 17%				
11	57,27±1,02 Aa	59,09±0,00 Aa	50,78±1,63 Cb	51,96±1,33 Bb
18	57,27±1,02 Aa	57,25±4,24 ACa	53,61±0,61 Cab	50,69±1,62 Bb
25	57,27±1,02 Ab	52,50±1,05 Cc	61,64±1,06 Ba	56,41±1,06 Ab
32	57,27±1,02 Aa	47,03±0,00 Db	46,00±1,00 Db	45,05±1,59 Cb

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Pode ser verificado que a temperatura de armazenamento foi o principal fator responsável pelas alterações ocorridas na solubilidade proteica, apresentando comportamento semelhante ao final do armazenamento, em ambos os teores de água em que os grãos foram armazenados.

Em ambos os teores de água iniciais de armazenamento foram verificados um incremento na solubilidade proteica na temperatura de 25°C aos 8 meses de armazenamento, mantendo ao final do armazenamento as maiores solubilidades quando comparados as demais temperaturas, enquanto que nos grãos de feijão armazenados a 32°C foram observadas as maiores reduções na solubilidade proteica.

Paraginski et al. (2014b) estudaram o armazenamento de grãos de milho e verificaram 47% de redução na solubilidade proteica ao final de 12 meses de armazenamento. Resultados semelhantes foram encontrados por Liu et al. (1992) que verificaram que em temperatura de armazenamento de 30°C ocorriam reduções lineares, e que após 18 meses de armazenamento a solubilidade reduziu de 76,5 para 11,2%.

Esta redução na solubilidade proteica pode estar associada a diversos fatores como a oxidação de proteínas e formação de pontes dissulfídicas, complexação de proteínas e amido com outros compostos, sendo favorecidas por altas temperaturas de armazenamento (ANGEL; MARTÍNEZ; LÓPEZ, 2003; BATISTA; PRUDÊNCIO; FERNANDES, 2010; MAURER et al., 2004; YOUSIF et al., 2003).

Nas Tabelas 11 e 12 estão apresentados os valores de pH e a acidez dos lipídeos dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água

Tabela 11 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no pH dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	6,46±0,02 Aab*	6,39±0,08 Ab	6,56±0,04 Aab	6,63±0,14 Aa
18	6,46±0,02 Aa	6,39±0,02 Aa	6,50±0,02 Aab	6,48±0,08 Aba
25	6,46±0,02 Ab	6,32±0,03 Ac	6,57±0,01 Aab	6,60±0,09 Aa
32	6,46±0,02 Aa	6,14±0,04 Bb	6,04±0,05 Dbc	5,99±0,04 Cc
Teor de água inicial 17%				
11	6,39±0,05 Aab	6,34±0,04 Ab	6,42±0,01 BC ab	6,45±0,03 ABa
18	6,39±0,05 Aa	6,27±0,05 Ab	6,38±0,01 Ca	6,35±0,02 Bab
25	6,39±0,05 Aa	6,08±0,02 BCb	5,97±0,06 DEcb	5,84±0,09 Cc
32	6,39±0,05 Aa	6,02±0,02 Cb	5,92±0,06 Eb	5,91±0,07 Cb

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 12 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na acidez dos lipídeos ($\text{mg de NaOH. g}^{-1}$) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	13,75±0,48 Bab*	12,55±0,65 Db	12,24±0,75 DE b	14,92±0,48 EF a
18	13,75±0,48 Bab	13,57±0,37 CDb	11,65±0,41 Ec	14,57±0,06 Fa
25	13,75±0,48 Bbc	14,72±0,52 Cb	12,75±0,08 DEc	15,95±0,37 Ea
32	13,75±0,48 Bd	17,02±0,66 Bc	18,67±0,48 Bb	20,28±0,48 Ca
Teor de água inicial 17%				
11	15,08±0,09 Aa	14,26±0,69 CDab	13,46±0,32 CDb	14,36±0,87 Fab
18	15,08±0,09 Ab	14,94±0,49 Cb	14,48±0,23 Cb	18,08±0,14 Da
25	15,08±0,09 Ac	17,38±0,95 Bb	18,92±0,69 Bb	24,21±0,10 Ba
32	15,08±0,09 Ad	22,75±0,63 Ac	29,11±1,02 Ab	31,86±0,16 Aa

*Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

As maiores reduções no pH dos grãos ocorreram nas temperaturas mais altas de armazenamento. Nos tratamentos de 14% de teor de água a 32°C e 17% de teor de água a 25 e 32°C esta maior redução foi verificada aos 4, 8 e 12 meses de armazenamento.

Segundo Liu et al. (1992) esta redução do pH dos grãos pode estar associada desestruturação celular, a qual promove maior liberação de prótons no meio celular. Estes também relataram que a redução do pH dos grãos pode estar associada a hidrólise das proteínas em pequenos peptídeos, extremidades livres de aminoácidos e ácidos.

O índice de acidez dos lipídeos apresentou comportamento semelhante ao do pH do grãos, onde os maiores índices de acidez foram encontrados nos tratamentos 14% teor de água a 32°C e 17% de teor de água a 25 e 32°C, estes maiores valores foram verificados aos 4, 8 e 12 meses de armazenamento. O aumento da acidez pode ser atribuído a reações de acidificação de lipídeos, que estão associadas a disponibilidade de água para as reações hidrolíticas e ao aumento da atividade de lipases verificado pelo aumento da temperatura (Chakrabarti, 1987; Kapchie *et al.*, 2013; Toci *et al.*, 2013)

Rani et al. (2013) realizaram estudos com armazenamento de feijão pinto e verificaram valores de acidez de 44 mg NaOH. 100 g⁻¹, em condições drásticas de 40 °C de temperatura e teor de água de 20 %, condições estas semelhantes as utilizadas neste estudo.

Nas Tabelas 13 e 14 estão apresentadas a condutividade elétrica e sólidos lixiviados dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.

Tabela 13 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	1520±21 Ab*	1595±32 Db	1488±41 Eb	1776±63 Ga
18	1520±21 Ac	1660±120 DCbc	1784±62 Db	2174±3 EFa
25	1520±21 Ac	1828±6 Cb	2404±85 Ca	2341±46 Ea
32	1520±21 Ad	2706±12 Bc	3656±56 Bb	4443±97 Ca
Teor de água inicial 17%				
11	1627±59 Ab	1654±11 CDb	1632±21 DEb	2001±68 Fa
18	1627±59 Ad	1853±17 Cc	2341±106 Cb	2822±37 Da
25	1627±59 Ad	2501±155 Bc	3799±14 Bb	4887±106 Ba
32	1627±59 Ac	5177±76 A b	5956±90 Aa	5899±93 Aa

* Médias aritméticas simples de três repetições \pm desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 14 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17 %) no conteúdo de sólidos lixiviados ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	2,40±0,07 Ab*	2,41±0,11 Fb	2,23±0,01 Fb	3,09±0,19 Ea
18	2,40±0,07 Ab	2,48±0,23 Fb	2,67±0,04 Eb	3,80±0,10 Da
25	2,40±0,07 Ac	3,08±0,20 Db	3,91±0,14 Da	3,99±0,14 Da
32	2,40±0,07 Ad	5,01±0,12 Bc	6,15±0,01 Cb	8,43±0,21 Ba
Teor de água inicial 17%				
11	2,37±0,26 Ab	2,68±0,20 EFb	2,76±0,13 Eb	3,55±0,20 DEa
18	2,37±0,26 Ad	3,22±0,06 Dc	4,20±0,23 Db	5,37±0,34 Ca
25	2,37±0,26 Ad	4,51±0,24 Cc	6,70±0,24 Bb	8,64±0,12 Ba
32	2,37±0,26 Ad	8,23±0,17 Ac	8,77±0,13 Ab	9,45±0,22 Aa

* Médias aritméticas simples de três repetições \pm desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A condutividade elétrica e os sólidos lixiviados são parâmetros que nos permitem inferir sobre o nível de estruturação celular e o conseqüente nível de conservação dos grãos durante o armazenamento.

Foram observados incrementos na condutividade elétrica e nos sólidos lixiviados para todos os tratamentos ao final de 12 meses de armazenamento. Os maiores valores foram encontrados nos tratamentos 14% de teor de água a 32°C e 17% de teor de água a 25 e 32°C, para em ambas as análises.

Resultados semelhantes foram obtidos por Nasar-Abbas et al. (2008), eles encontraram variações de 827 a 3467 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$, respectivamente nas temperaturas de 5 e 50°C. O aumento na condutividade elétrica é oriundo principalmente da lixiviação de sais e outros metais condutores e eletricidade, porém em termos quantitativos representam uma pequena parte dos sólidos que são lixiviados durante a fase de hidratação. Enquanto os sólidos lixiviados são compostos principalmente por açúcares solúveis (oligossacarídeos), alguns compostos solúveis de parede e fragmentos de amilose e amilopectina degradados durante o armazenamento.

Nas Tabelas 15 e 16 estão apresentados o tempo de cocção e a dureza dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.

Tabela 15 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no tempo de cocção (minutos) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	21,33±2,08 Ab*	30,00±2,65 Da	33,67±0,58 Ca	31,67±4,16 Da
18	21,33±2,08 Ad	31,67±2,52 Dc	41,33±3,21 Cb	73,67±3,21 Ca
25	21,33±2,08 Ad	45,67±4,16 Bc	72,33±4,93 Bb	90,33±2,52 Ba
32	21,33±2,08 Ac	76,33±2,08 Ab	67,67±6,81 Bb	133,67±5,51 Aa
Teor de água inicial 17%				
11	21,33±2,08 Ac	32,33±0,58 CDb	42,00±2,65 Ca	36,67±3,51 Dab
18	21,33±2,08 Ac	39,67±3,06 BCb	123,33±10,41 Ab	HTC
25	21,33±2,08 Ac	75,67±1,53 Ab	125,00±5,00 Aa	HTC
32	21,33±2,08 Aa	HTC**	HTC	HTC

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ** HTC- tempo de cocção superiores a 180 minutos.

Tabela 16 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na dureza (N) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)	
	0	12
Teor de água inicial 14%		
11	51,21±10,20 ns*	59,06±10,26 Fg**
18	51,21±10,20	68,55±13,46 EF
25	51,21±10,20	90,9±16,51 Cd
32	51,21±10,20	118,24±21,39 B
Teor de água inicial 17%		
11	51,21±10,20	63,30±18,52 Fg
18	51,21±10,20	80,46±11,61 De
25	51,21±10,20	101,89±15,59 C
32	51,21±10,20	142,74±14,05 A

* ns- não significativo pela teste F ($p \leq 0,05$).

** Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados apresentados na Tabela 16 mostram que o tempo de cocção dos grãos de feijão foi afetado tanto pela temperatura como pelo teor de água de armazenamento. Os grãos de feijão apresentaram inicialmente um tempo de cocção de 21,33 minutos, aos 4 meses de armazenamento já apresentaram um aumento no tempo de cocção, sendo intensificado com o aumento da temperatura e do teor de água de armazenamento. Quando os grãos foram armazenados com teor de água de 17%, verificou-se elevados tempos de cocção, sendo que nas temperaturas de 18 e 25°C foram verificados tempos de cocção superiores a 180 minutos (HTC) aos

12 meses de armazenamento, onde para temperatura de 32°C este defeito apareceu já aos 4 meses de armazenamento.

A dureza dos grãos somente não apresentou alterações ao final do armazenamento nas temperaturas de 11 e 18°C nos teores de água de 14 e 17%. As maiores alterações na dureza foram obtidas nas temperaturas de 25 e 32°C em ambos os teores de água. A dureza permite expressar numericamente a força necessária para deformar os grãos após o processo de cocção, estando associado intimamente o tempo de cocção, onde pode ser verificado que nas condições mais drásticas de armazenamento os elevados tempos de cocção representaram também um aumento na força empregada para deformação.

Resultados semelhantes foram encontrados por Paredes-López, Maza-Calviño e González-Castañeda (1989) que armazenaram grãos de feijão a 40°C e 80% UR por 135 dias e verificaram uma elevação de 6 vezes no tempo de cocção quando comparado com o tempo inicial. Nasar-Abbas et al. (2008) também encontraram aumentos de 5 vezes no valor de dureza dos grãos de feijão fava após 12 meses de armazenamento.

Vários são os fatores relacionados ao endurecimento de leguminosas durante o armazenamento, podendo-se destacar dentre eles a complexação de pectina-cation-fitado, compactação das células de parede, interação entre proteínas e amido e ligações de taninos e outros compostos fenólicos com proteínas e lignificação da lamela média (LIU; MCWATTERS; PHILLIPS, 1992; MARIA et al., 2007; MAURER et al., 2004; NJOROGÉ et al., 2014; SHIGA, 2004).

A redução do pH e acidez, segundo Liu, Mcwatters e Phillips (1992) são um dos principais fatores que podem promover a modificação estrutural da célula. Segundo Berrios et al. (1999) grãos com defeito HTC apresentaram dificuldade ou incapacidade de absorção de água. A fase de absorção de água é fundamental no processo de cocção podendo ser prejudicado pela concentração de eletrólitos e sólidos lixiviados durante a hidratação ou pelo extravazamento celular no qual diminui o potencial osmótico do grãos/solução.

O defeito de conhecido como HTC além de apresentar baixo valor nutricional acarreta em elevado gasto energético para que seja consumido, sendo muitas vezes descartados pela falta de mercado comprador. Por isso se faz necessário um armazenamento em condições que evitem ou minimizem o desenvolvimento deste defeito.

4.2. Estudo 2 - Alterações no perfil de metabólitos de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

O conteúdo de metabólitos secundários avaliados neste experimento apresentaram variações durante o armazenamento, seguindo um mesmo comportamento e apresentando reduções semelhantes entre si, sendo afetados pela temperatura, teor de água e tempo de armazenamento.

Nas Tabelas 17, 18, 19, 20, 21 e 22 estão apresentados respectivamente o conteúdo de compostos fenólicos totais, compostos fenólicos não tânicos, taninos, flavonóides totais, proantocianidinas e antocianinas totais dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.

Os metabólitos secundários foram degradados durante o armazenamento, sendo influenciados tanto pelo teor de água quanto pela temperatura de armazenamento. As maiores reduções foram verificadas nas condições mais drásticas de armazenamento (17% de teor de água e 32°C de temperatura). O teor de compostos fenólicos apresentou uma redução ao longo do período de armazenamento, porém nas condições de 11°C houve uma redução no teor de compostos fenólicos apenas a partir dos 8 meses de armazenamento.

Tabela 17 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de compostos fenólicos totais (mg EAG. g⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	45,59±0,08 Aab*	46,16±0,24 Aa	43,62±0,45 Ab	40,95±1,46 Ac
18	45,59±0,09 Aa	42,72±0,20 Bb	39,65±0,79 Bc	35,07±0,35 Bd
25	45,59±0,10 Aa	43,38±0,58 Ba	26,21±0,64 Db	20,93±1,72 Dc
32	45,59±0,11 Aa	29,21±0,41 Db	22,83±0,25 Ec	20,02±0,27 Dd
Teor de água inicial 17%				
11	45,59±0,08 Aa	45,40±1,69 Aa	38,59±0,44 Bb	33,06±0,38 Bc
18	45,59±0,09 Aa	33,82±0,36 Cb	29,65±0,05 Cc	24,34±0,72 Cd
25	45,59±0,10 Aa	28,88±0,27 Db	24,07±0,48 Ec	20,51±0,07 Dd
32	45,59±0,11 Aa	24,73±0,25 Eb	17,29±0,22 Fc	13,67±0,2 Ed

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 18 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de compostos fenólicos não tânicos (mg EAG. g⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	10,85±0,10 Ab*	11,50±0,15 Aa	10,37±0,10 Ab	9,69±0,21 Ac
18	10,85±0,10 Aa	9,90±0,16 Cab	9,78±0,18 ABd	8,87±0,44 Bc
25	10,85±0,10 Aa	10,25±0,42 BCa	6,53±0,14 Db	6,29±0,00 Cb
32	10,85±0,10 Aa	7,64±0,18 Eb	5,87±0,11 Ec	5,28±0,16 DEc
Teor de água inicial 17%				
11	10,85±0,10 Aa	10,73±0,31 Ba	9,34±0,38 Bb	8,48±0,27 Bc
18	10,85±0,10 Aa	8,87±0,24 Db	7,42±0,21 Cc	5,72±0,16 CDd
25	10,85±0,10 Aa	7,69±0,18 Eb	6,50±0,29 Dc	5,71±0,16 CDd
32	10,85±0,10 Aa	6,62±0,25 Fb	4,96±0,15 Fc	4,66±0,44 Ec

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 19 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de taninos (mg EAG. g⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	34,94±0,42 Aa*	34,67±0,42 Aa	33,26±0,35 Aa	31,26±1,39 Ab
18	34,94±0,42 Aa	32,82±0,35 Ab	29,88±0,96 Bc	26,21±0,41 Bd
25	34,94±0,42 Aa	33,14±0,36 Aa	19,68±0,61 Db	14,64±1,72 Dc
32	34,94±0,42 Aa	21,57±0,57 Cb	16,96±0,18 Ec	14,74±0,36 Dd
Teor de água inicial 17%				
11	34,94±0,42 Aa	34,67±1,97 Aa	29,25±0,69 Bb	24,57±0,19 Bc
18	34,94±0,42 Aa	24,96±0,47 Bb	22,23±0,18 Cc	18,62±0,84 Cd
25	34,94±0,42 Aa	21,19±0,20 Cb	17,57±0,24 Ec	14,81±0,11 Dd
32	34,94±0,42 Aa	18,10±0,09 Db	12,33±0,27 Fc	9,01±0,0,58 Ed

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 20 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de flavonóides totais (mg EC. g⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	3,75±0,02 Aa*	3,69±0,16 Aa	3,22±0,12 Ab	3,21±0,02 Ab
18	3,75±0,02 Aa	3,28±0,05 Bb	3,02±0,02 Bc	2,61±0,04 Bd
25	3,75±0,02 Aa	3,39±0,04 Bb	1,91±0,01 Dc	1,60±0,12 Cd
32	3,75±0,02 Aa	2,03±0,06 Db	1,55±0,07 Fc	1,29±0,04Dd
Teor de água inicial 17%				
11	3,75±0,02 Aa	3,70±0,01 Aa	2,95±0,05 Bb	2,57±0,03 Bc
18	3,75±0,02 Aa	2,71±0,01 Cb	2,30±0,02 Cc	1,69±0,02 Cd
25	3,75±0,02 Aa	2,08±0,04 Db	1,73±0,05 Ec	1,34±0,02 Dd
32	3,75±0,02 Aa	1,69±0,01 Eb	1,16±0,03 Gc	0,89±0,01Ed

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 21 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de proantocianidinas (mg. g⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	1,35±0,04 Aa*	1,39±0,04 Aa	1,24±0,01 Ab	0,84±0,01 Bc
18	1,35±0,04 Aa	1,21±0,1 Bab	1,12±0,01 Bb	0,93±0,01 Ac
25	1,35±0,04 Aa	0,88±0,01 Cb	0,61±0,01 Cc	0,27±0,01 Efd
32	1,35±0,04 Aa	0,51±0,01 Eb	0,28±0,01 Ec	0,24±0,01 Fc
Teor de água inicial 17%				
11	1,37±0,01 Aa	1,40±0,01 Aa	1,12±0,03 Bb	0,64±0,01 Cc
18	1,37±0,01 Aa	0,99±0,02 Cb	0,57±0,01 Cc	0,57±0,01 Dc
25	1,37±0,01 Aa	0,76±0,01 Db	0,39±0,01 Dc	0,28±0,01 Ed
32	1,37±0,01 Aa	0,54±0,03 Eb	0,32±0,01 Ec	0,25±0,01 Fd

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 22 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) no conteúdo de antocianinas totais (mg C-3-G. g⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	1,62±0,12 Aa*	1,83±0,06 Aa	1,69±0,09 Aa	1,75±0,02 Aa
18	1,62±0,12 Aa	1,52±0,09 Bcab	1,40±0,09 Bb	1,54±0,02 Bab
25	1,62±0,12 Aa	1,65±0,01 Aba	1,35±0,13 Bb	1,12±0,02 Db
32	1,62±0,12 Aa	1,30±0,09 Db	0,88±0,01 Cc	0,91±0,03 Ec
Teor de água inicial 17%				
11	1,79±0,01 Aa	1,37±0,10 DCb	1,43±0,05 Bb	1,35±0,10 Cb
18	1,79±0,01 Aa	1,51±0,07 BCb	1,32±0,02 Bc	1,05±0,02 Dd
25	1,79±0,01 Aa	1,19±0,04 Db	0,83±0,04 CDc	0,90±0,03 Ec
32	1,79±0,01 Aa	0,90±0,03 Eb	0,68±0,01 Dc	0,54±0,02 Fd

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Dentre todos os metabólitos, o conteúdo de antocianinas totais (Tabela 22) foi o único que se manteve níveis semelhantes aos iniciais, porém este comportamento ocorreu somente nas temperaturas de 11 e 18°C no teor de água de 14%.

Campos-Vega, Loarca-Piña, e Oomah (2010) relataram valores semelhantes de compostos fenólicos totais (50,4 mg EAG. g⁻¹), flavonoides totais (2,49 mg EC. g⁻¹) e proantocianidinas (3,49 mg EC. g⁻¹)

Segundo Nasar-Abbas et al.(2008) durante o armazenamento de grãos, os compostos fenólicos são degradados e sintetizados a partir de moléculas de peso molecular menor, porém em temperaturas elevadas de armazenamento estes compostos são facilmente oxidados e podem ligar-se a proteínas formando complexos insolúveis.

Nas Tabelas 23 e 24 são apresentadas a capacidade antioxidante pelo método de (ABTS) e (DPPH) dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água

As avaliações das atividades antioxidantes dos grãos de feijão apresentaram o mesmo comportamento verificado nos metabólitos secundários, apresentando uma elevada taxa no início do armazenamento, sendo posteriormente reduzida durante o armazenamento.

Não foram observadas capacidades antioxidantes relacionadas a um determinado metabólito específico, apresentando assim o mesmo comportamento frente aos radicais livres ABTS e DPPH, Estes resultados são importantes porque

confirmam o comportamento dos metabólitos secundários frente a inibição dos radicais livres.

Resultados semelhantes de ABTS foram encontrados por Açar et al.(2009) estudando diferentes variedades de grãos de feijão com colorações de tegumento variadas. Eles encontraram valores de 15,8 a 55,6 mg de trolox.g⁻¹ para capacidade antioxidante pelo consumo do radical ABTS. Enquanto que Hayat et al. (2014) estudando a capacidade antioxidante pelo método de DPPH verificaram de 10 a 46% de inibição do radical DPPH.

É interessante que ao final do armazenamento os grãos apresentem elevadas atividades antioxidantes, pois com isso pode se ter certeza da qualidade do armazenamento. Embora estas moléculas de ABTS e DPPH sejam radicais livres sintéticos eles apresentam comportamento semelhante de interação com os compostos fenólicos e outros antioxidantes naturais e endógenos, sugerindo assim que a sua utilização *in vivo* também apresente estas mesmas características.

Pode ser verificado que embora os grãos de feijão preto apresentem elevada atividade antioxidante inicial, eles também apresentaram uma alta susceptibilidade a degradação ou a formação de complexos insolúveis. Esta redução no conteúdo de metabólitos secundários e da capacidade antioxidante pode estar relacionado com os elevados tempos de cocção, bem como a redução do pH e solubilidade proteica, que também foram mais afetados em altas temperaturas e teores de água.

Tabela 23 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na capacidade antioxidante medida pelo radical ABTS (mg de trolox.g⁻¹) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	19,63±0,11 Aab*	20,55±0,21 Aa	18,85±0,61 Ab	14,37±0,44 Bc
18	19,63±0,11 Aa	19,30±0,14 Aa	12,01±0,29 Cc	12,66±0,22 Cb
25	19,63±0,11 Aa	12,41±0,12 BCb	11,75±0,28 Cc	7,91±0,22 Efd
32	19,63±0,11 Aa	12,45±0,54 BCb	7,81±0,33 Ec	7,25±0,16 Fc
Teor de água Inicial 17%				
11	19,72±0,12 Aa	20,69±1,30 Aa	14,55±0,05 Bb	15,14±0,08 Ab
18	19,72±0,12 Aa	13,33±0,03 Ab	12,05±0,13 Cc	9,77±0,38 Dd
25	19,72±0,12 Aa	11,46±0,05 CDb	9,78±0,06 Dc	8,39±0,22 Ed
32	19,72±0,12 Aa	10,17±0,62 Db	6,65±0,16 Fc	5,63±0,15 Gd

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 24 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) na capacidade antioxidante medida pelo radical DPPH (% de inibição) de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (meses)			
	Inicial	4	8	12
Teor de água inicial 14%				
11	75,47±1,89 Aa*	78,24±0,16 Aa	75,62±4,41 Aa	67,01±1,32 Ab
18	75,47±1,89 Aa	68,91±0,62 Bb	68,02±1,14 Bb	59,38±1,96 Bc
25	75,47±1,89 Aa	70,99±2,59 Ba	43,99±1,39 Db	36,23±0,52 Dc
32	75,47±1,89 Aa	47,71±1,12 DEb	35,32±1,65 Ec	31,66±0,52 Ec
Teor de água inicial 17%				
11	75,47±1,89 Aa	78,95±3,83 Aa	66,51±1,43 Bb	58,03±0,52 Bc
18	75,47±1,89 Aa	61,90±0,61 Cb	54,05±0,63 Cc	44,18±1,93 Cd
25	75,47±1,89 Aa	49,80±1,61 Db	41,34±1,40 Dc	35,29±1,09 Dd
32	75,47±1,89 Aa	43,68±0,14 Eb	30,31±1,26 Ec	22,99±0,16 Fd

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna, e minúsculas na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4.3. Estudo 3 - Alterações nas propriedades do amido de grãos de feijão armazenados durante 12 meses.

O amido isolado dos grãos de feijão armazenado não apresentou valores significativos de lipídeos e cinzas, enquanto para proteínas foram encontrados valores inferiores a 0,4% de proteína em todos amidos isolados.

Na Tabela 25 são apresentados os parâmetros de cor do amido isolado dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.

As condições de armazenamento promoveram alterações em todos parâmetros de cor avaliados em comparação a amostra inicial, sendo observados incrementos no valor de L* (0- mais escuro/ 100-mais claro) em todos os tratamentos ao final de 12 meses de armazenamento, sendo influenciados diretamente pela temperatura. Os maiores valores de L* foram encontrados no teor de água de 14% nas temperaturas de 25 e 32°C, indicando um amido com coloração mais clara.

Foram observados incrementos no valor de a* em todos os tratamentos ao final de 12 meses de armazenamento, sendo que os maiores valores foram observados na temperatura de 32°C em ambos teor de água (14 e 17%). O valor de a* mede de verde-azul (valores negativos) a vermelho (valores positivos), indicando que os amidos isolados de grãos armazenados em condições drásticas apresentam

uma degradação dos pigmentos azulados e passam a desenvolver pigmentos de coloração avermelhada, principalmente oriundos de oxidação proteica.

A análise do ângulo *Hue*° e *Chroma* nos permitem ter uma visão geral do padrão de cor das amostras, indicando a localização da cor dentro de um escala pré-definida.

Apesar da amplitude dos valores do ângulo *Hue*° podemos verificar com o auxílio da escala CIELAB de cores (Figura 8), que o amido isolado das amostras armazenadas a 11°C apresentaram padrão de coloração semelhante ao amido inicial, enquanto as demais amostras se apresentaram dispersas mas ao redor da tonalidade vermelha.

Tabela 25 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) os parâmetros de cor do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Parâmetros de cor do amido				
	L*	b*	a*	<i>Chroma</i>	<i>Hue</i> °
Inicial	94,36±0,06 f*	0,19±0,04 f	-0,44±0,05 g	0,48±0,06 g	293,14±3,33 b
Teor de água inicial 14%					
11	94,48±0,04 e	0,44±0,03 d	0,03±0,02 h	0,44±0,03 g	5,12±1,80 g
18	94,77±0,06 d	-0,08±0,04 h	0,14±0,03 f	0,16±0,03 h	120,76±11,91 c
25	96,54±0,08 b	0,13±0,04 g	1,83±0,04 c	1,83±0,04 c	85,91±1,30 d
32	97,40±0,06 a	0,59±0,05 c	2,19±0,03 b	2,27±0,04 b	74,90±1,07 e
Teor de água inicial 17%					
11	93,11±0,05 h	1,01±0,06 a	-0,67±0,02 i	1,21±0,06 e	326,25±0,98 a
18	93,74±0,08 g	0,87±0,03 b	0,50±0,06 e	1,00±0,05 f	29,75±2,90 f
25	96,16±0,09 c	0,33±0,03 e	1,68±0,08 d	1,71±0,08 d	78,92±1,15 e
32	96,10±0,15 c	0,32±0,03 e	3,00±0,04 a	3,02±0,04 a	83,91±0,15 d

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Nas Tabelas 26 e 27 estão apresentados o poder de inchamento e solubilidade do amido isolado dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água

Tabela 26 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) sobre o poder de inchamento (g.g^{-1}) do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Poder de inchamento (g.g^{-1})			
	60°C	70°C	80°C	90°C
Inicial	2,39±0,03 bc*	4,86±0,04 a	8,58±0,07 b	10,23±0,30 c
Teor de água inicial 14%				
11	2,39±0,03 bc	4,86±0,14 ab	8,94±0,05 ab	10,70±0,06 b
18	2,66±0,10 ab	4,96±0,10 a	8,81±0,46 ab	10,34±0,02 bc
25	2,78±0,25 a	4,88±0,07 ab	9,11±0,13 ab	10,66±0,26 bc
32	2,35±0,06 c	4,72±0,03b	9,31±0,12 a	10,68±0,19 bc
Teor de água inicial 17%				
11	2,39±0,04 bc	4,67±0,03 b	8,97±0,04 ab	10,36±0,06 bc
18	2,46±0,11 bc	4,94±0,02 a	8,61±0,15 b	10,34±0,17bc
25	2,34±0,05 c	5,02±0,02 a	8,77±0,18 b	10,45±0,04 bc
32	2,55±0,03 abc	5,04±0,11 a	8,86±0,05ab	11,20±0,08 a

* Médias aritméticas simples de três repetições \pm desvio padrão, seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 27 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) sobre a solubilidade (g.100g^{-1}) do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Solubilidade (g.100g^{-1})			
	60°C	70°C	80°C	90°C
Inicial	0,85±0,07 c*	2,57±0,18 a	13,61±0,39 a	17,18±0,22 ab
Teor de água inicial 14%				
11	0,77±0,04 c	2,55±0,15 ab	13,83±0,40 a	17,67±0,22 a
18	0,87±0,06 b	2,82±0,14 a	13,62±0,02 a	16,59±0,18 bcd
25	1,14±0,17 b	2,75±0,10 a	13,68±0,72 a	16,70±0,23 bc
32	0,74±0,04 c	2,30±0,08 ab	11,49±0,45 b	15,99±0,15 ed
Teor de água inicial 17%				
11	0,73±0,01 c	2,34±0,13 ab	12,78±0,39 a	17,27±0,14 ab
18	0,81±0,11 c	2,40±0,15 a	13,23±0,28 a	16,24±0,50 cde
25	0,69±0,03 c	2,66±0,12 a	10,49±0,55 b	16,69±0,14 bc
32	1,77±0,10 a	1,94±0,52 b	12,73±0,40 a	15,72±0,19 e

* Médias aritméticas simples de três repetições \pm desvio padrão, seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Estes parâmetros fornecem uma evidência da magnitude de interação entre as cadeias do amido no interior das regiões amorfa e cristalina (KAUR, SANDHU e LIM, 2010).

Foram verificadas pequenas alterações no poder de inchamento e na solubilidade dos amidos nas temperaturas de 60, 70 e 80°C, porém não foi possível

identificar com clareza um padrão de comportamento, portanto somente foram levados em conta os resultados encontrados na temperatura de 90°C.

O poder de inchamento inicial do amido foi 10,23 g.g⁻¹ e após o armazenamento foi verificado um aumento para 11,20 g.g⁻¹, somente no tratamento mais drástico com teor de água de 17 % e 32 °C de temperatura. Resultados semelhantes foram encontrados por Rupollo et al. (2011) que verificaram um aumento no poder de inchamento após 12 meses de armazenamento, apresentando 9,34, 9,42 e 10,05 g.g⁻¹, respectivamente para armazenamento hermético a 5°C, atmosfera modificada com nitrogênio e controle (25°C), estes resultados também estão de acordo com Hoover et al. (2010) relataram valores de 7 a 15g.g⁻¹.

Após o armazenamento dos grãos foram observadas reduções da solubilidade do amido, sendo verificadas solubilidades de 15,99 e 15,72 g.100g⁻¹, respectivamente nos tratamentos a 32C com teor de água de 14 % e 17 %. Resultados semelhantes foram observados por Kaur, Sandhu e Lim (2010), o qual encontraram 14,4% de solubilidade do amido.

A redução na solubilidade encontrada neste experimento pode ser resultado do fortalecimento da interação amilose/amilopectina ou pela sua complexação com compostos fenólicos e lipídeos, sendo este fenômeno responsável por facilitar a entrada de água no ao interior do grânulo, porém conferido dificuldade na lixiviação destes compostos (amilose e fragmentos de amilopectina).

Na Tabela 28 e Figura 9 estão apresentadas as propriedades térmicas e o resíduo de proteína (%) do amido isolado dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.

As propriedades térmicas do amido dos grãos são de extremo interesse, pois fornecem medidas quantitativas de calor, que podem ser associadas a temperatura de gelatinização.

Observou-se a redução na entalpia de gelatinização (ΔH) com a intensificação teor de água e temperatura de armazenamento, sendo obtidos valores de 5,83 j.g⁻¹ (14%-32°C), 5,56 j.g⁻¹ (17%-32°C) e 4,55 j.g⁻¹ (17%-32°C). Embora tenham ocorrido reduções na entalpia não foram verificadas estas mesmas reduções na temperatura inicial (To), temperatura de pico (Tp) e temperatura de conclusão (Tc).

Existem poucos relatos na literatura a respeito das alterações estruturais ocorridas nos grânulos de amido extraídos de grãos de feijão armazenados, porém sabe-se que a desestruturação das cadeias de amilose e amilopectina fazem com

que surjam zonas desestruturadas dentro do grânulo, nas quais são facilitadas a entrada de água e calor, afetando de forma direta térmicas e de gelatinização do amido.

Tabela 28 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e do teor de água (14 e 17%) sobre as propriedades térmicas do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses

Temperatura (°C)	Propriedades térmicas				
	To (°C)	Tp (°C)	Tc (°C)	ΔT (Tc-To)	ΔH (j.g ⁻¹)
Inicial	66,3	73,1	78,4	12,1	4,69
Teor de água inicial 14%					
11	66,35	72,72	76,88	10,53	6,14
18	67,32	73,13	78,46	11,14	6,24
25	66,66	72,43	77,54	10,88	6,41
32	66,54	73,12	78,15	11,61	5,83
Teor de água inicial 17%					
11	66,16	72,74	77,85	11,69	6,12
18	66,13	72,9	78,27	12,14	6,01
25	66,17	72,74	77,84	11,67	5,56
32	66,51	72,71	77,45	10,94	4,55

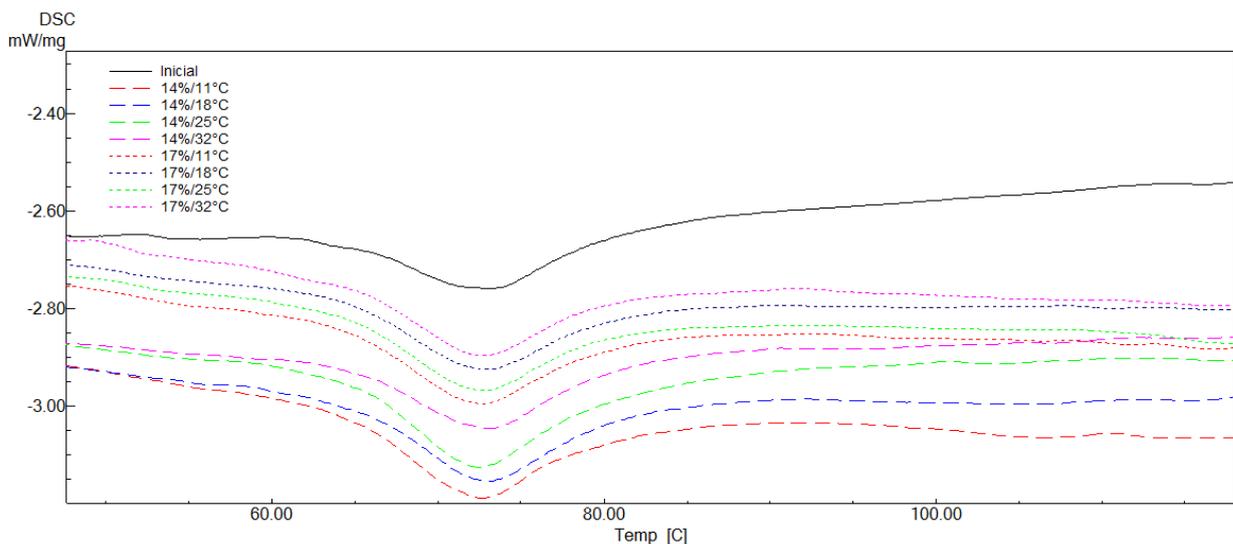


Figura 9 - Propriedades térmicas do amido isolado de grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água.

Na Tabela 29 estão apresentadas as propriedades de pasta e a dureza do gel de amidos isolados dos grãos de feijão armazenados durante 12 meses, em quatro condições de temperatura e dois teores de água..

As propriedades de pasta foram muito afetadas pelo armazenamento dos grãos por 12 meses. De maneira geral após o armazenamento os amidos

apresentaram aumentos no pico de viscosidade e viscosidade de quebra; redução na viscosidade final e retrogradação, sendo estas alterações mais pronunciadas nos tratamentos mais drásticos, porém sem apresentar alterações na temperatura de pasta.

Segundo Hoover et al. (2010) a pasta é definida como uma massa viscosa formada pela associação ou dissociação dos homopolímeros de glicose amilose/amilopectina ou por fragmentos de ambas. Hughes et al. (2009) avaliaram o amido de grãos de bico e relacionou elevados picos de viscosidade aos elevados conteúdos de amilopectina e a baixa complexação de lipídeos e amilose.

Dados obtidos neste experimento, como as reduções (na entalpia, na viscosidade de quebra e na solubilidade do amido), bem como o aumento do poder de inchamento, nos permitem dizer que de alguma forma ocorreram alterações na estrutura granular (possivelmente na região cristalina do grânulo, composta predominantemente por amilopectina), facilitando a absorção de água, possibilitando aos grânulos intumescerem sem que houvesse a ruptura dos grânulos. Estas condições relatadas foram encontradas nos amidos extraídos de grãos de feijão armazenados em elevados teores de água e temperatura, e nestes mesmos amidos foram verificados elevados picos de viscosidades.

A dureza do gel de amido obtido a partir dos grãos de feijão apresentou inicialmente 1824 g sendo mantidos valores estatisticamente iguais após 12 meses de armazenamento, com valores de 1788 e 1620 g, respectivamente nas temperaturas de 11 e 18°C armazenados com teor de água de 14%, enquanto que nos demais tratamentos foram verificadas reduções.

Valores semelhantes foram encontrados por Vanier et al. (2012) que relataram altos valores de dureza do gel 2307,87 g, que segundo Du et al. (2014) são proporcionados pelo alto teor de amilose (45,4%).

Reduções nos valores de retrogradação podem ser associados aos valores de dureza do gel, os quais apresentaram os menores valores nos tratamentos que apresentaram menores retrogradações. Estes valores estão de acordo com a solubilidade do amido (Tabela 23), na qual foram encontradas reduções na solubilidade após o armazenamento. Esta redução na solubilidade esta principalmente associada a menor quantidade de amilose, molécula mais solúvel e responsável pela retrogradação, pois apresenta elevada taxa de reassociação e formação de pontes de hidrogênio.

Tabela 29 - Efeitos da temperatura (11, 18, 25 e 32°C) e teor de água (14 e 17%) sobre as propriedades de pasta e dureza do gel de amidos isolados de grãos de feijão armazenados por 12 meses

Tratamento	Temperatura de pasta (°C)	Viscosidade máxima (RVU)	Viscosidade de quebra (RVU)	Viscosidade Final (RVU)	Retrogradação (RVU)	Dureza do gel (g)
Inicial	76,38±0,64 a	264,36±2,98 c	88,20±6,54 f	352,06±8,56 b	175,89±0,96 b	1824±91 a
Teor de água inicial 14%						
11	76,73±0,03 a	286,±1,69 a	100,03±2,51 cd	374,11±5,39 a	187,91±6,21 a	1788±129 a
18	77,43±0,03 a	255,30±2,21 d	90,19±3,27 ef	317,34±4,47 d	152,22±5,54 cd	1620±50 ab
25	77,23±0,38 a	266,25±2,02 c	99,53±1,21 cd	319,61±3,65 d	152,89±2,84 cd	1461±53 bcd
32	76,70±0,00 a	276,95±2,98 b	110,00±0,29 b	316,03±7,41 d	150,78±4,32 cd	1194±1,83 e
Teor de água inicial 17%						
11	77,32±0,58 a	266,33±2,17 c	96,00±1,44 de	319,47±0,24 d	149,14±0,96 d	1487±39 bc
18	76,73±0,03 a	279,06±1,40 b	104,36±0,53 bc	333,44±1,63 c	158,75±0,29 c	1112±95e
25	77,02±0,92 a	273,53±0,96 b	108,50±0,29 b	314,78±0,82 d	149,75±0,14 cd	1286±138 cde
32	77,25±0,52 a	291,42±0,87 a	120,28±1,35a	310,55±1,35 d	139,42±0,87 e	1232±67 e

* Médias aritméticas simples de três repetições ± desvio padrão, seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5 Conclusões

O aumento da temperatura em grãos armazenados com teor de água de 17% aumenta a suscetibilidade ao desenvolvimento do HTC

O armazenamento promove o aumento da acidez lipídica, condutividade elétrica, sólidos lixiviados e reduz o pH e solubilidade proteica dos grãos.

O teor de água, associado ao aumento da temperatura e do tempo de armazenamento aumenta a dureza dos grãos.

Em temperatura de 11°C é possível armazenar grãos com manutenção da qualidade semelhante em ambos os teores de água

Os teores de metabólitos secundários: compostos fenólicos totais, compostos fenólicos não tânicos, taninos, flavonoides totais, antocianinas totais e proantocianidinas são reduzidos em todos os tempos de armazenamento.

O teor de água afeta de forma mais significativa o conteúdo de metabólitos secundários e o aumento da temperatura ambiente, intensifica a degradação dos metabólitos secundários ao final do armazenamento.

A temperatura e o teor de água reduzem a atividade antioxidante (ABTS e DPPH).

O amido isolado apresenta elevado grau de pureza, com teores não significativos de minerais e lipídeos, com baixos teores de proteína (< 0,4 %).

A temperatura e teor de água aumentam os valores de L*, a* e chroma, e promovem alterações no ângulo Hue°, tornando os amidos mais claros e avermelhados.

Ao final do armazenamento ocorre o aumento do poder de inchamento, e redução na entalpia de gelatinização e a solubilidade, nas temperaturas de 32°C, em ambos os teores de água.

O armazenamento altera as propriedades de pasta do amido, aumentando a viscosidade máxima e viscosidade de quebra, e reduzindo a viscosidade final, a retrogradação e dureza do gel, sendo as maiores alterações verificadas na temperatura de 32°C e teor de água de 17%.

O amido isolado de grãos armazenados em temperatura de 11 °C são semelhantes nos valores de poder de inchamento, solubilidade e entalpia de gelatinização, e apresentam coloração branca azulada semelhante ao amido isolado da amostra inicial.

Referências

- ABDEL-AAL, E.-S. M.; HUCL, P. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 3, p. 350–354, 1999.
- AÇAR, Ö. Ç.; GÖKMEN, V.; PELLEGRINI, NICOLETTA; F. V. Direct evaluation of the total antioxidant capacity of raw and roasted pulses, nuts and seeds. **European Food Research and Technology**, v. 229, n. 6, p. 961–969, 2009.
- ACOSTA-ESTRADA, B. A; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food chemistry**, v. 152, p. 46–55, 2014.
- ANGEL, S. S. DEL; MARTÍNEZ, E. M.; LÓPEZ, M. A. V. Study of denaturation of corn proteins during storage using differential scanning calorimetry. **Food Chemistry**, v. 83, n. 4, p. 531–540, 2003.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of Analysis**. 18 ed. Washington DC US, 2006.
- ASAE – American Society of Agricultural Engineers. Moisture measurement- underground grain and seeds. In: Standards, 2000. St. Joseph: **ASAE**, p. 563, 2000.
- BATISTA, K. A; PRUDÊNCIO, S. H.; FERNANDES, K. F. Changes in the functional properties and antinutritional factors of extruded hard-to-cook common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of food science**, v. 75, n. 3, p. C286–90, 2010.
- BERRIOS, J. D. J.; SWANSON, B. G.; ADELIN CHEONG, W. Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Research International**, v. 32, n. 10, p. 669–676, 1999.
- BOATENG, J.; VERGHESE, M.; WALKER, L.T.; OGUTU, S. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus spp.* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 9, p. 1541–1547, 2008.
- BOYE, J.; ZARE, F.; PLETCH, A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 414–431, 2010.
- BOURNE, M.C. Texture profile analysis. **Food Technology**. v. 32, p. 62–66, 1978.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 30, p. 25–30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, Mapa / ACS, 399p., 2009.
- BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: Structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85–112, 1998.

BURR, K.H.; KON, S.; MORRIS, H.J. Cooking rates of dry beans as influenced by moisture content, temperature and time of storage. **Food Technology**, v. 22, p. 336-338, 1968.

CALDAS, G. V.; BLAIR, M. W. Inheritance of seed condensed tannins and their relationship with seed-coat color and pattern genes in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik**, v. 119, n. 1, p. 131–42, 2009.

CAMPOS-VEGA, R.; LOARCA-PIÑA, G.; OOMAH, B. D. Minor components of pulses and their potential impact on human health. **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 461–482, 2010.

CHAKRABARTI, D. K. A review of deterioration of oil-seeds by fungi with special reference to India. **International Biodeterioration**, v. 23, p. 137–157, 1987.

CHALKER-SCOTT, L. Invited review environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. **Photochemistry and Photobiology**, v. 70, n. 1, p. 1–9, 1999.

CHIDANANDA, K.P.; CHELLADURAI, V.; JAYAS, D.S.; ALAGUSUNDARAM, K.; WHITE, N.D.G.; FIELDS, P.G. Respiration of pulses stored under different storage conditions. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 42–47, 2014.

CHUNG, H.-J.; LIU, Q.; PAULS, K. P.; FAN, M. Z.; YADA, R. In vitro starch digestibility, expected glycemic index and some physicochemical properties of starch and flour from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Canada. **Food Research International**, v. 41, n. 9, p. 869–875, 2008.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Conjuntura semanal de preços**, Maio, 2013.

COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M. C. Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 6, p. 1527–1534, 2009.

DÍAZ, A. M.; CALDAS, G. V.; BLAIR, M. W. Concentrations of condensed tannins and anthocyanins in common bean seed coats. **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 595–601, 2010.

DU, S.-K.; JIANG, H. AI, Y. JANE, J.-L. Physicochemical properties and digestibility of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 108, p. 200–5, 2014.

EDMISTER, J. A.; BREENE, W. M.; SERUGENDO, A. Influence of temperature, water activity and time on cookability and color of a stored Rwandan dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) mixture. **Journal of Stored Products Research**, v. 26, n. 3, p. 121–126, 1990.

EL-REFAI, A. A.; HARRAS, H. M.; EL-NEMR, K. M.; NOAMAN, A. M. Chemical and technological studies on Faba Bean seeds . I- Effect of storage on some physical and chemical properties. **Food chemistry**, v. 29, p. 27–39, 1988.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Crops primary equivalent: dry beans supply rank in the world, by quantity, 2009. Disponível em:

<<http://faostat.fao.org/site/609/default.aspx#ancor>>. Acesso em 20 de outubro de 2014.

GRAHAM, P.H. e RANALLI, P. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Field Crops Research**, v. 53, p. 131-146, 1997.

HAYAT, I.; AHMAD, A.; MASUD, T.; AHMED, A.; BASHIR, S. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, v. 54, n. 5, p. 580–92, 2014.

HOOVER, R.; HUGHES, T.; CHUNG, H.J.; LIU, Q. Composition, molecular structure, properties, and modification of pulse starches: A review. **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 399–413, 2010.

HUGHES, T.; HOOVER, R.; LIU, Q.; DONNER, E.; CHIBBAR, R.; JAISWAL, S. Composition, morphology, molecular structure, and physicochemical properties of starches from newly released chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars grown in Canada. **Food Research International**, v. 42, n. 5-6, p. 627–635, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**, 4ª Edição, São Paulo, 2004.

KAPCHIE, V. N.; YAO, L.; HAUCK, C. C.; WANG, T.; MURPHY, P. A.; Oxidative stability of soybean oil in oleosomes as affected by pH and iron. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2286–2293, 2013.

KAPLAN, L. AND KAPLAN, L.N. *Phaseolus* in archeology. In: ed. P. Gepts, Genetic Resources of *Phaseolus* Beans: Their Maintenance, Domestication, Evolution and Utilization. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, p. 125-142, 1988.

KAUR, M.; SANDHU, K. S.; LIM, S.-T. Microstructure, physicochemical properties and in vitro digestibility of starches from different Indian lentil (*Lens culinaris*) cultivars. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 2, p. 349–355, 2010.

KAUR, S.; SINGH, N.; SODHI, N. S.; RANA, J. C. Diversity in properties of seed and flour of kidney bean germplasm. **Food Chemistry**, v. 117, n. 2, p. 282–289, 2009.

KIGEL, J. Culinary and nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* seeds as affected by environmental factors. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ.**, v. 3, n. 4, p. 205–209, 1999.

LEACH, H. W.; MCCOWEN, L. D.; SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v. 36, p. 534–544, 1959.

LIN, L.-Z. LIN, L.-Z.; HARNLY, J. M.; PASTOR-CORRALES, M. S.; LUTHRIA, D. D L. The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 399–410, 2008.

LIU, K.; MCWATTERS, K. H.; PHILLIPS, R. D. Protein insolubilization and thermal destabilization during storage as related to hard-to-cook defect in cowpeast. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 40, p. 2403–2407, 1992.

LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, v. 46, n. 3, p. 207–219, 2007.

LUTHRIA, D. L.; PASTOR-CORRALES, M. A. Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 205–211, 2006.

MARIA, C.; COELHO, M.; BELLATO, M.; CESAR, J.; SANTOS, P.; MOISES, E.; ORTEGA, M.; TSAI, S. M. Effect of phytate and storage conditions on the development of the “hard-to-cook.” **Journal of science of food and agriculture**, v. 1243, p. 1237–1243, 2007.

MATTSON, S. The cookability of yellow peas: a colloid-chemical and biochemical study. **Acta agriculturae Suecana**, v. 2, p. 185-231, 1946.

MAURER, G. A.; OZEN, B. F.; MAUER, L. J.; NIELSEN, S. S. Analysis of hard-to-cook red and black common beans using Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1470–1477, 2004.

NASAR-ABBAS, S.M.; PLUMMER, J.A.; SIDDIQUE, K.H.M.; WHITE, P.F.; HARRIS, D.; DODS, K. Nitrogen retards and oxygen accelerates colour darkening in faba bean (*Vicia faba* L.) during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p. 113–118, 2008.

NASAR-ABBAS, S. M.; PLUMMER, J. A.; SIDDIQUE, K. M.; WHITE, P.; HARRIS, D.; DODS, K. Cooking quality of faba bean after storage at high temperature and the role of lignins and other phenolics in bean hardening. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 7, p. 1260–1267, 2008.

NASAR-ABBAS, S.M.; SIDDIQUE, K.H.M.; PLUMMER, J.A.; WHITE, P.F.; HARRIS, D.; DODS, K.; D'ANTUONO, M. Faba bean (*Vicia faba* L.) seeds darken rapidly and phenolic content falls when stored at higher temperature, moisture and light intensity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 10, p. 1703–1711, 2009.

NJOROGE, D. M.; KINYANJUI, P. K.; MAKOKHA, A. O.; CHRISTIAENS, S.; SHPIGELMAN, A.; SILA, D. N.; HENDRICKX, M. E. Extraction and characterization of pectic polysaccharides from easy- and hard-to-cook common beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Research International**, v. 64, p. 314–322, 2014.

OVANDO-MARTÍNEZ, M.; BELLO-PÉREZ, L. A.; WHITNEY, K.; OSORIO-DÍAZ, P.; SIMSEK, S. Starch characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in different localities. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 1, p. 54–64, 2011.

PARAGINSKI, R. T.; VANIER, N. L.; MOOMAND, K.; OLIVEIRA, M.; ZAVAREZE, E. R.; MARQUES, R.; FERREIRA, C. D.; ELIAS, M. C.; Characteristics of starch isolated from maize as a function of grain storage temperature. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 88–94, 2014a.

PARAGINSKI, R. T.; VANIER, N. L.; BERRIOS, J. J.; OLIVEIRA, M.; ELIAS, M. C. Physicochemical and pasting properties of maize as affected by storage temperature. **Journal of Stored Products Research**, p. 1–6, 2014b.

PAREDES-LÓPEZ, O.; MAZA-CALVIÑO, E. C.; GONZÁLEZ-CASTAÑEDA, J. Effect of the Hardening Phenomenon on some Physico- chemical Properties of Common Bean. **Food Chemistry**, v. 31, p. 225–236, 1989.

PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the Physical Chemistry of Starch. **Journal of Cereal Science**, v. 34, n. 1, p. 1–17, 2001.

RANI, P. R.; CHELLADURAI, V.; JAYAS, D.S.; WHITE, N.D.G.; KAVITHA-ABIRAMI, C.V.; Storage studies on pinto beans under different moisture contents and temperature regimes. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, p. 78–85, 2013.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C.; Antioxidant activity applying an improved abts radical. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 98, p. 1231–1237, 1999.

REHMAN, Z.-U.-; HABIB, F.; ZAFAR, S. . Nutritional changes in maize (*Zea mays*) during storage at three temperatures. **Food Chemistry**, v. 77, n. 2, p. 197–201, 2002.

RUPOLLO, G.; VANIER, N. L.; ZAVAREZE, E. R.; OLIVEIRA, M.; PEREIRA, J. M.; PARAGINSKI, R. T.; DIAS, A. R. G.; ELIAS, M. C.; Pasting, morphological, thermal and crystallinity properties of starch isolated from beans stored under different atmospheric conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 3, p. 1403–1409, 2011.

SALES, J. M.; RESURRECCION, A. V. A. Phenolic profile, antioxidants, and sensory acceptance of bioactive-enhanced peanuts using ultrasound and UV. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 795–803, 2010.

SHIGA, T. Changes in the cell wall polysaccharides during storage and hardening of beans. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 53–64, 2004.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B.; Morphological , thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219–231, 2003.

STANLEY, D. W. A possible role for condensed tannins in bean hardening. **Food Research International**, v. 25, p. 187–192, jan. 1992.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch—composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 2, p. 151–165, 2004.

TOCI, A. T.; NETO, V. J. M. F.; TORRES, A. G.; FARAH, A. LWT - Food Science and Technology Changes in triacylglycerols and free fatty acids composition during storage of roasted coffee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 581–590, 2013.

VANDEPUTTE, G.; DELCOUR, J. From sucrose to starch granule to starch physical behaviour: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n. 3, p. 245–266, 2004.

VANIER, N. L.; ZAVAREZE, E. R.; PINTO, V. Z.; KLEIN, B.; BOTELHO, F. T.; DIAS, A. R. G.; ELIAS, M. C.; Physicochemical, crystallinity, pasting and morphological properties of bean starch oxidised by different concentrations of sodium hypochlorite. **Food Chemistry**, v. 131, n. 4, p. 1255–1262, 2012.

XIAO, J.; MUZASHVILI, T. S.; GEORGIEV, M. I. Advances in the biotechnological glycosylation of valuable flavonoids. **Biotechnology advances**, v. 32, n. 6, p. 1145–1156, 2014.

YOUSIF, A.M.; DEETH, H.C.; CAFFIN, N.A.; LISLE, A.T.; Effect of storage time and conditions on the hardness and cooking quality of Adzuki (*Vigna angularis*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 338–343, 2002.

YOUSIF, A. M.; BATEY, I. L.; LARROQUE, O. R.; CURTIN, B.; BEKES, F.; DEETH, H. C. Effect of storage of adzuki bean (*Vigna angularis*) on starch and protein properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 6, p. 601–607, 2003.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555–559, 1999.

ZIELIŃSKI, H.; KOZŁOWSKA, H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2008–16, 2000.