

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

Silvana Magalhães Salgado

EFEITO DO PROCESSO HIDROTÉRMICO SOBRE O AMIDO DO FEIJÃO
MACASSAR (*Vigna unguiculata* L.WALP) E SUAS RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS .

Recife-PE

2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

Silvana Magalhães Salgado

EFEITO DO PROCESSO HIDROTÉRMICO SOBRE O AMIDO DO FEIJÃO
MACASSAR (*Vigna unguiculata* L.WALP) E SUAS RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco- UFPE, como requisito para a obtenção do título de doutor.

Orientadora: *Dra. Nonete Barbosa Guerra*

Professora Titular do Departamento de Nutrição - UFPE.

Recife-PE

2003

Título:

EFEITO DO PROCESSO HIDROTÉRMICO SOBRE O AMIDO DO FEIJÃO MACASSAR (*Vigna unguiculata* L.WALP) E SUAS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS .

Nome: *Silvana Magalhães Salgado*

TESE APROVADA EM: 16/12/2003

MEMEBROS DA BANCA EXAMINADORA:

- ENAYDE DE ALMEIDA MELO
- FLORISBELA DE ARRUDA CAMARA E SIQUEIRA CAMPOS
- JANETE MAGALI DE ARAÚJO
- MARIA DA PAZ CARVALHO DA SILVA
- ZELYTA PINHEIRO DE FARO

Recife-PE
2003

Agradecimentos

Às Professoras **Nonete Barbosa Guerra** , pela orientação e estímulo à minha formação profissional, **Tânia Lúcia Montenegro Stamford**, pela atenção concedida durante todo o curso, **Edleide Freitas Pires** pela colaboração na execução das análises microbiológicas, **Zelyta Pinheiro de Faro**, por ter cedido parte do material bibliográfico.

Aos Professores **Sebastião Rogério** e **Neide Kasue S. Shinohara** pela ajuda na coleta do material fecal. Ao Prof. **Alexandre Ricardo Pereira Schuller** e a aluna **Fabricia Liz**, pela realização da cromatografia gasosa. Ao Prof. **Artur Bibiano de Melo Filho**, pela ajuda nas análise físico-químicas.

Àos amigos **Paulo Ricardo Santos Dutra**, pela ajuda na formatação do trabalho, **Samara Alvachian**, pela realização das análises estatísticas.

Aos funcionários do **Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos (LEAAL)** do Departamento de Nutrição -UFPE, pelo apoio e amizade.

À **Giselle Rabelo Maciel**, aluna do PIBIC, pela extrema dedicação durante a realização de todos os experimentos. A **Arcanjo Ferreira de Souza Neto**, pela valiosa ajuda no cálculo do índice glicêmico.

Sumário

	Páginas
1.Introdução	10
2. Revisão da Literatura	12
2.1. Considerações gerais sobre amido	12
2.2. Formação de amido resistente	14
2.3. Aspectos fisiológicos do amido resistente	17
2.3.1. Efeitos sobre o metabolismo intestinal	17
2.3.2. Efeitos sobre o metabolismo glicídico e lipídico	21
3. Referências bibliográficas	23
Objetivos	31
Planejamento de trabalho	32
Experimento 1	33
Introdução	34
Material e Métodos	35
Resultados e Discussão	36
Conclusões	41
Referências bibliográficas	42
Experimento 2	46
Introdução	47
Material e Métodos	48
Resultados e Discussão	50
Conclusões	56
Referências bibliográficas	56

Sumário	Página
Experimento 3	60
Introdução	61
Material e Métodos	62
Resultados e Discussão	65
Conclusões	71
Referências bibliográficas	72
Conclusões gerais	77

Lista de figuras

	Página
Figura 1. Difractograma de raio-X : amido de feijão verde, padrão C(I) e amido de feijão seco, padrão A (II).	39
Figura 2. Micrografia eletrônica: grânulo do amido do feijão seco (A) e amido do feijão verde (B).	39
Figura 1. Grânulos de amido in natura (A) e grânulos de amido processado.	50
Figura 2. Difractograma de Raio-X : amido do feijão seco (A), amido processado(B) e amido do feijão verde(C).	52
Figura 3. Média do teor de amido resistente obtido em função do tempo de armazenamento, tipo de cocção e grau de maturação do feijão.	54
Figura 1. Curva de Crescimento de Bactérias Lácteas durante a fermentação <i>in vitro</i> do feijão macassar verde(I) e seco(II).	66
Figura 2. Teores de amido hidrolisado (g%) <i>in vitro</i> do feijão verde processado (I) e do feijão verde cru (II).	69
Figura 3. Teores de amido hidrolisado (g%) <i>in vitro</i> do feijão seco processado (I) e do feijão seco cru(II).	70

Lista deTabelas

	Página
Tabela 1. Composição centesimal do feijão macassar <i>in natura</i> verde e seco.	37
Tabela 2. Composição química do grânulo do amido do feijão macassar(base seca).	40
Tabela 1. Níveis codificados das variáveis para os ensaios.	48
Tabela 2. Níveis decodificados das variáveis.	49
Tabela 3. Variação do teor de amido resistente (g%) em feijão macassar submetidos a diferentes ensaios e cinco repetições (R1 a R5).	53
Tabela 4. Determinação dos efeitos principais do planejamento fatorial 2 ³	53
Tabela 1. Concentração dos reagentes para o meio de fermentação.	63
Tabela 2. Produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) durante a fermentação do amido do feijão macassar verde e seco.	67
Tabela 3. Índice glicêmico(IG) do amido do feijão macassar verde e seco.	70

Resumo

Para avaliar efeitos dos tratamentos hidrotérmicos sobre a formação de amido resistente no feijão macassar verde e seco, as amostras *in natura* foram caracterizadas quanto a composição centesimal, amido resistente, amilose/amilopectina, difração de raio-X e microscopia e posteriormente submetida a tratamentos hidrotérmicos com e sem pressão seguido do congelamento por 15 e 30 dias. As respostas fisiológicas foram obtidas por fermentação *in vitro* seguida da contagem de lactobacilos e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) por cromatografia gasosa e o índice glicêmico (IG) foi calculado a partir da hidrólise enzimática do amido. Segundo os resultados o feijão verde diferiu do seco quanto ao superior teor de açúcares, fibras solúveis e reduzido percentual de amido total; e ao padrão de cristalinidade; dos tratamentos hidrotérmicos a maior formação de AR foi evidenciada no feijão seco após cocção sem pressão e armazenamento por 30 dias sob congelação; a fermentação do amido dos feijões verde e seco propiciou maior crescimento bacteriano e maior produção de AGCC, respectivamente e ambos apresentaram elevados IG. Conclui-se que: as características dos grânulos de amido exceto o aspecto morfológico são influenciadas pelo estágio de maturação; o teor de AR é modificado pelo tipo de processo térmico, tempo e temperatura de armazenamento; AR exerce efeitos prebióticos que beneficiam o metabolismo intestinal.

Abstract

To evaluate the effects of the hydrothermal treatment on the formation of the resistant starch (RS) of the unripe and ripe macassar beans, *in natura* samples were characterized as to centesimal composition, resistant starch, amylose/amylopectin, diffraction and microscopy and after submitted to hydrothermal treatment with and without pressure followed by freezing for the period of 15 and 30 days. The physiological responses were obtained by fermentation *in vitro* followed by lactobacillus count and short chain fatty acid (SCFA) by gasosa chromatography and the glycemic index (IG) was calculated from the enzymatic hydrolysis of the starch. According to the results the unripe bean differed from the ripe as to the superior content of sugars, soluble fibers and reduced percentage of total starch; and the crystallinity pattern; of the hydrothermal treatments the highest formation of RS was seen in the ripe bean after cooking without pressure and storage for 30 days under freezing; the fermentation of the starch of the unripe and ripe beans propiated higher bacterial growth and higher production of SCFA, respectively and both showed a high rate of IG . We concluded that: the characteristics of the granules of starch except the morphologic aspect are influenced by the state of maturation; the content of resistant starch is modified by the type of thermic process, storage time and temperature; RS exerts prebiotics effects that benefit the intestinal metabolism.

1. Introdução

Nos últimos anos, observa-se um crescente número de pesquisas sobre as propriedades dos carboidratos (amido resistente, inulina, fibras solúveis) relacionados aos efeitos benéficos à saúde.

Como consequência, o conceito do amido como um carboidrato totalmente hidrolisado a macromoléculas de baixo peso molecular foi revisado e a sua digestibilidade avaliada através da resposta glicêmica, processo de fermentação e análise dos resíduos não digeridos no intestino.

O efeito nutricional mais comprovado é a fermentação colônica que propicia a formação de ácidos graxos de cadeia curta, enquanto os demais como a redução da glicemia pós-prandial e a redução da concentração de colesterol e triglicerídeos sanguíneos, ainda são contraditórios (LUZ *et al.*, 1997).

Os referidos carboidratos, estão naturalmente presentes nos alimentos ou adicionados aos produtos industrializados com o objetivo de aumentar a capacidade de retenção de água pela formação de soluções viscosas, permitindo seu uso como substituto da gordura.

Embora o amido resistente não exiba esta propriedade, continua sendo foco de interesse da Indústria de Alimentos por desempenhar funções fisiológicas semelhantes às fibras alimentares solúveis sem alterar as características organolépticas dos produtos.

No que diz respeito a este polímero, estima-se que apenas 5% do total de amido ingerido nas dietas ocidentais são resistentes, percentual este que pode ser alterado durante o processamento dos alimentos através da manipulação das variáveis que regem o processo de gelatinização e retrogradação do amido.

Entre os alimentos que contribuem para atingir este valor destacam-se as leguminosas, que constituem à base da alimentação do Brasil e demais países em desenvolvimento (TOVAR, 1994; GOÑI; GARCIA-ALONSO; GARCIA, 1995).

A literatura disponibiliza informações sobre algumas cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e demais leguminosas como ervilha, lentilha e fava (MENEZES; LAJOLO, 2000; ROSIN, 1999) entretanto, até o momento não há dados

sobre o feijão macassar, considerado uma das leguminosas mais consumidas no Nordeste Brasileiro.

Sabendo das propriedades nutricionais atribuídas ao AR; a influência do processamento sobre a estrutura do amido e a importância das leguminosas na dieta do brasileiro, julgou-se relevante avaliar os efeitos do tratamento hidrotérmico do feijão macassar seco e verde sobre a estrutura do amido e suas respostas fisiológicas *in vitro*.

As informações geradas deverão subsidiar o real valor nutricional dos carboidratos, permitindo uma melhor prescrição dietoterápica para grupos populacionais específicos como diabéticos e obesos.

2. Revisão da Literatura

2.1. Considerações gerais sobre o amido

Os grânulos de amido constituem o material de reserva energética dos vegetais e estão depositados nos leucoplastos, cujas configurações e dimensões variam em função da espécie botânica. Ao microscópio os amidos de tubérculos são geralmente volumosos e elipsoidal; alguns são hemisféricos ou ainda poliédricos, enquanto que o dos cereais são polimórficos: lenticulares grandes, poliédricos pequenos (GUILBOT ; MERCIER 1985), e o das leguminosas, em especial os feijões, segundo Beux (1997), apresentam-se riniformes, ovóides, irregularmente cilíndricos ou esféricos.

No que concerne à sua constituição são formados por dois glicanos: amilose e amilopectina ordenados de forma radial em camadas concêntricas, nas quais os segmentos lineares dos polímeros encontram-se fortemente associados por pontes de hidrogênio. Entre as camadas concêntricas existem regiões amorfas, cujas ligações por serem mais fracas, possibilitam a penetração da água no grânulo e a ação hidrolítica de ácidos e enzimas (FRENCH, 1973). De acordo com Manners (1985) , com exceção dos amidos cerosos, a proporção dos glicanos no grânulo de amido varia entre 20 a 30% para amilose e 70 a 80% para amilopectina.

A amilose é formada por cadeias lineares helicoidais de resíduos de glicose em ligações glicosídicas do tipo $\alpha(1\rightarrow4)$, enquanto a amilopectina é altamente ramificada constituída por ligações glicosídicas do mesmo tipo , das quais partem ramificações com ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ a cada série com 25 resíduos de glicose. A amilopectina é o componente que parece ser responsável pela cristalinidade e birrefringência.

Além destes dois polímeros, alguns pesquisadores demonstraram a existência de um terceiro componente denominado material intermediário, cuja quantidade e composição depende do tipo e grau de maturação do grânulo de amido (WANG *et al* 1993). De uma maneira geral, o material intermediário é

constituído por cadeias lineares com grau de polimerização (DP) entre 20 e 200 e moléculas de glicose levemente ramificadas.

Com base na cristalinidade, determinada por difração de raio-X, o amido de acordo com o espaçamento entre os planos pode ser classificado em formas A,B,C. Os amidos de cereais que se enquadram na forma A, são termodinamicamente mais estáveis e, provavelmente, mais compactos que os do tipo B, presentes, classicamente, em batata crua, banana verde e outros vegetais verdes (CIACCO;TAVARES;TEXEIRA,2001). A forma C, considerada uma mistura da estrutura A e B é subdividida em Ca,Cb,Cc conforme o grau de semelhança que apresente com o tipo A e B. A forma C, mais resistente a digestão pela α -amilase encontra-se presente na maioria dos tubérculos, leguminosas e sementes (BELITZ;GROSCH, 1998; GALLANT *et al.*, 1992).

O grau de cristalinidade permite avaliar a solubilidade dos polissacarídeos no meio aquoso, propriedade de grande importância nos processos de digestão e absorção, cuja velocidade pode ser influenciada por diversos fatores que interferem na biodisponibilidade deste nutriente (FARO, 1998).

Baseando em resultados de pesquisas sobre o aproveitamento nutricional do amido, Englyst, Kigman e Cummings (1992), classificou-os conforme se segue: amido rapidamente digerível, convertido em glicose em apenas 20 minutos presentes em amiláceos recentemente cozidos; amido lentamente digerível encontrado em cereais crus, hidrolisado em 120 minutos e amido resistente (AR). Este último, foi definido pelo European Flair Concertet Action on Resistant Starch (EURESTA), como a soma do amido e produtos da degradação do amido que não são digeridos pelas enzimas humanas de indivíduos saudáveis (ANNISON ; TOPPING, 1994).

Quimicamente os AR são compostos bastante heterogêneos, cuja classificação depende da estrutura física e da susceptibilidade ao ataque enzimático. Desta forma tem-se: AR 1, grânulos fisicamente inacessíveis encapsulados na matriz do alimento que, geralmente, ocorrem em grãos parcialmente triturados (sementes e leguminosas), o AR 2, nativo presente especialmente na banana verde, batata crua, e alimentos processados com

gelatinização incompleta e AR 3, formado nos alimentos submetidos à temperatura elevada em presença de água. A formação de AR é decorrente da quebra das pontes de hidrogênio que mantêm o arranjo molecular do grânulo e da hidratação dos grupos hidroxilas das unidades de glicose que participavam das áreas cristalinas que por causarem o inchamento do grânulo de amido de forma irreversível, desencadeiam alteração significativa da sua estrutura com perda da birrefringência e cristalinidade. Esta modificação da estrutura granular é denominada gelatinização (FARO, 1998). O produto resultante, ao ser resfriado, forma um gel no qual as frações de amido tendem a agregar-se. Na reorganização destas frações, a amilose por ser linear, apresenta maior tendência para interagir por pontes de hidrogênio. Este fenômeno que resulta na formação de um agregado de baixa solubilidade, é reconhecido como recristalização, ou seja retrogradação.

Esta nova estrutura do amido AR 3 é constituída por cadeias lineares α -D glucano organizados em áreas cristalinas de baixo peso molecular com 22 a 65 unidades de glicose. Sua presença nos alimentos é variável, tendo sido detectado em diversos produtos: pães, cereais matinais, batatas e leguminosas. Estima-se que seu consumo entre os brasileiros atinge 3,1g/dia/pessoa devido à ingestão de feijão, arroz e milho (FREITAS, 2002 ; ROSIN, 1999) e entre os europeus 4,1g/dia/pessoa, oriundos dos pães e batatas (CHAMP;FAISANT, 1996; LANGKILDE;CHAMP;ANDERSON, 2002).

Recentemente, BEDNAR *et al* (2001) avaliaram um amido modificado quimicamente, classificado como AR 4 que incorporado à formulação dos alimentos não alterou suas características organoléticas.

2. 2. Formação do amido resistente

Embora a formação de AR encontre-se associada à gelatinização seguida da retrogradação, outros fatores como repetidos ciclos de aquecimento e resfriamento, origem botânica do amido, relação amilose/amilopectina e a quantidade de água, utilizada durante a gelatinização podem aumentar o teor

deste constituinte (ESCARPA ; GONZÁLEZ, 1997). Essa influência é mais rápida e pronunciada sobre a amilose em relação a amilopectina, que devido às ramificações de sua estrutura, requer um maior tempo de armazenamento para formá-lo (GOÑI; GARCIA-ALONSO; GARCIA 1995). Fato confirmado por Namratha, Asna ; Prasad (2002), em vegetais indianos, ao evidenciar um aumento de 50% nos valores de AR após 4 meses de armazenamento. Por outro lado, NIBA (2003) detectou em pães de milho, redução do teor de AR após sete dias de armazenamento, provavelmente pela instabilidade dos cristais de amilopectina submetidos ao calor seco.

Correlação positiva entre o conteúdo de amilose e a formação de AR foi evidenciado por Pomeranz (1992) que encontrou para a ervilha (33% de amilose) e batata (20% de amilose) valores de 10,5% e 4,4% de AR , respectivamente e por Xue, Newman ; Newman (1996), em amostras de cevada. Embora tenha constatado esta correlação Sagum;Arcot (2000) e recentemente Tovar *et al.* (2002) acreditam que a formação de AR é também influenciada pelo grau de intumescimento do grânulo, bem como pelo tamanho das cadeias de amilose entre as diferentes espécies de amido.

O conteúdo de AR pode ainda ser manipulado tecnologicamente através do calor sob pressão que acarreta uma maior gelatinização devido a fusão dos cristais de amido e pela retenção da água nos grânulos em condições de baixa umidade (ESCARPA; GONZÁLEZ, 1997). Estes autores estabeleceram que a gelatinização completa do amido com altos rendimentos de AR, pode ser obtida, utilizando autoclave de alta pressão (2 bar) com agitação constante (1300rpm) para melhorar a transferência de calor entre as regiões quentes e frias do gel (GOÑI; GARCIA-ALONSO; GARCIA, 1995). Fato também observado por Escarpa *et al.* (1996), em amostras de batatas, quando comparadas com o autoclave convencional e com o cozimento em água fervente.

A observação de que o uso da autoclave aumenta os teores de amido resistente, também foi confirmada por Ranhotra; Gelroth ; Eisenbraun (1991), Eerlinger; Crombez; Lcour (1993), em farinha de trigo, utilizada na fabricação de *cookies* de aveia e chocolate, biscoitos e pães, e por Skarabanja; Kreft (1998) em

cereais à base de trigo. De acordo com estes pesquisadores repetidos ciclos de autoclavagem promovem uma quebra progressiva de ligações glicosídicas do amido, podendo os produtos resultantes formarem outros complexos resistentes, por exemplo amilose-lipídeo. A formação deste complexo também depende do ingrediente, utilizado na preparação, conforme referido por Platel; Shurpalekar (1994) em alimentos indianos fritos, cujos aumentos dos valores de AR, foram associados a fortes ligações entre o glicano e o óleo. Thed;Phillips (1995) também observaram um aumento dos teores de AR em batatas fritas em decorrência da formação do complexo amilose-lipídeo.

Quanto à influência de outros constituintes sobre a formação de AR Chandashekar; Kirli (1998); Escarpa ;González (1997) constataram que as proteínas e açúcares reduzem o teor de AR, por formarem uma rígida cobertura sobre os grânulos de amido, impedindo a completa gelatinização e, conseqüentemente a retrogradação que, pelo efeito antiplastificante, aumenta a temperatura de transição, respectivamente.

Outras técnicas de preparo de alimentos também podem favorecer o aumento de AR, como por exemplo, o emprego do calor seco que, tendo em vista a formação dos compostos de Maillard, provavelmente impedem o acesso das enzimas ao amido (KELKAR; SHASTRI; RAO, 1996 ; PLATEL; SHURPALEKAR, 1994).

A formação de AR também tem sido estudada em função da temperatura de armazenamento, o que é explicado a partir do modelo teórico da formação de cristais, que ocorre entre a temperatura de fusão dos cristais (150°C) e a temperatura de transição vítrea -5°C a -10°C. Sendo assim, a formação de AR é máxima sob baixa temperatura, exceto quando esta é inferior à transição vítrea, pois o sistema macromolecular se congela, perdendo a energia necessária para produzir a cristalização (ESCARPA; GONZÁLEZ 1997).

Os trabalhos conduzidos por Menezes (1992); Rosin (1999) e Leite (1999), confirmaram esta hipótese ao se verificarem em cereais e leguminosas cozidas, um aumento significativo no teor de AR. Aumento do teor de AR também foi referido por Niba (2003) em pães de milho armazenados por 4 dias a -20°C. Com base nas

referências citadas, observa-se que a formação de AR é influenciada por fatores que envolvem processamento e armazenamento e, como tal, os teores de AR na alimentação podem ser significativamente modificados em decorrência das diferentes práticas culinárias o que impede a generalização dos resultados.

2.3. Aspectos fisiológicos do amido resistente

Apesar da indefinição do teor de AR, capaz de propiciar respostas metabólicas benéficas ao organismo, alguns países da Comunidade Européia recomendam o consumo de 4g/dia (FREITAS, 2002), enquanto Brouns; Kettlitz; Arrigoni (2002) preconizam a ingestão de 20g/dia como suficiente para manifestação de suas propriedades funcionais.

2.3.1. Efeitos sobre o metabolismo intestinal

O amido não digerido ao chegar ao cólon é utilizado como substrato de fermentação por diversas bactérias intestinais, especialmente as anaeróbicas estritas como os *Bacteróides*, *Eubactérias*, *Bifidosbactérias*, *Clostridium* que constituem 99% da flora intestinal humana, razão pela qual é considerado um agente prebiótico. Os produtos dessa fermentação são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) acético, propiônico e butírico e gases como hidrogênio, dióxido de carbono e metano, dos quais cerca de 20% são excretados pela respiração e o restante favorece à flatulência, embora não exista correlação positiva entre a produção de gases e fermentação, já que a formação do metano depende da atividade de bactérias metanogênicas em proporção superior a 10^8 UFC/g de fezes (TOPPING; CLIFTON, 2001).

Dos AGCC, o ácido butírico, exerce efeito em nível intestinal gerando um aporte calórico, enquanto os demais (acético e propiônico) são absorvidos e metabolizados, proporcionando substratos para a lipogênese e cetogênese. A contribuição de 2 a 4% de energia/dia foi evidenciada por Topping; Clifton (2001) que registraram a formação de 300-400 mmol de AGCC a partir de 32 a 42g de

carboidrato. Por sua vez, Bourquin; Titgemeyer; Fahey (1993) constataram valores bem inferiores 5,19 - 5,12mmol/ g de substrato após fermentação das substâncias pécticas do aipo e alface que, provavelmente não influenciaram o valor calórico total da alimentação.

Ensaio *in vitro* têm demonstrado que, entre os ácidos, o butírico constitui a principal fonte de energia para o colonócito, mantendo sua integridade e inibindo o crescimento desordenado das células pela estabilização do DNA. Até o momento não existem evidências concretas da ação antineoplásica do butirato, pois a velocidade de crescimento e atividade das bactérias é maior na região do cólon proximal, enquanto as patologias são mais frequentes no cólon distal (TOPPING; CLIFTON, 2001) onde, progressivamente, os carboidratos fermentescíveis são depletados (FERREIRA, 2003; CAMBRODÓN; MARTIN-CARRÓN, 2001). Outro aspecto a ser considerado diz respeito à presença de nutrientes antioxidantes como os betacarotenos, ácido ascórbico e tocoferóis, que também favorecem à saúde do cólon, podendo, portanto, contribuir para o efeito protetor do AR.

Com relação ao ácido propiônico, duas funções têm sido demonstradas: o aumento da contração muscular do cólon, acelerando o peristaltismo intestinal, reduzindo a constipação e a inibição da síntese de colesterol nos hepatócitos mediada pela atividade da enzima hidroximetilglutaril-coenzima A redutase (HMG-CoA), diminuindo o risco de enfermidades cardiovasculares (FERREIRA, 2003; FREITAS, 2002).

Embora a literatura seja escassa quanto às interações entre bactérias colônicas e diferentes substratos nos alimentos, há evidências de que o amido resistente exerça comportamento fisiológico, semelhante à fração solúvel da fibra, já que os produtos de fermentação são os mesmos com exceção do ácido láctico, formado apenas a partir do AR (GOÑI, GARCIA-ALONSO, GARCIA, 1995).

O pH ácido favorece a vasodilatação e aumenta a absorção de água e sais melhorando a sintomatologia de indivíduos com diarreias. Além disso com a redução do pH colônico, a amônia torna-se ionizada, não sendo absorvida por difusão passiva, influenciando os níveis sanguíneos, beneficiando indivíduos em

tratamento de cirrose hepática com ou sem encefalopatia portal sistêmica (FERREIRA, 2003).

Outro aspecto relevante durante a fermentação é a necessidade de nitrogênio para o crescimento bacteriano, fato que reduz a produção de amônia, considerada agente de crescimento para células neoplásicas (ANNISON e TOPPING, 1994) .

O grau de fermentabilidade varia, consideravelmente, entre os indivíduos em função das características da alimentação que poderão induzir a atuação dominante de algumas espécies microbianas. Com vistas, a reduzir este interferente, antibióticos de largo espectro têm sido utilizados na supressão da flora bacteriana, de modo a permitir a quantificação do que não foi digerido. Como essa inibição não é completa, essa fração pode ser subestimada (CHAMP; FAISANT, 1994).

Dentre as metodologias *in vivo*, utilizadas para avaliar a digestibilidade do amido, destacam-se os modelos ileostomizado e de intubação nos quais, por meio de uma cânula, é introduzida no íleo terminal dos humanos ou dos animais o AR é quantificado diretamente no intestino delgado. No entanto, segundo Menezes (1992), estas técnicas por exercerem influência no tempo de trânsito intestinal interferem na avaliação da digestão do amido.

Considerando que parte dos gases produzidos pela fermentação do AR é excretada pelos pulmões, pesquisadores têm quantificado o amido não absorvido de forma indireta através do teor de H_2 no ar expirado, essa medida, entretanto, apresenta o inconveniente de abranger o H_2 , produzido por outros substratos fermentáveis como os polissacarídeos não amido (NSP) (CHAMP; FAISANT 1994). Esse gás é considerado o mais abundante no processo fermentativo podendo ser utilizado pelos microrganismos, permitindo uma completa oxidação dos substratos, favorecendo a formação de acetato (CAMBRODÓN; MARTIN-CARRÓN, 2001).

A fermentação tem sido estudada por meio da contagem de bactérias lácticas, anaeróbicas e aeróbicas nas fezes e a concentração de AGCC fecal por cromatografia gasosa, entretanto a quantificação fecal dos AGCC não revela o verdadeiro teor de ácidos formados, pois estes são sintetizados principalmente no

cólon proximal, sendo absorvidos progressivamente ao longo do trato intestinal (CAMBRODÓN; MARTIN- CARRÓN, 2001; BLAY *et al.* ,1997).

Há cerca de uma década, a fermentação vem sendo estudada por meio de modelos *in vitro* , que diferem entre si quanto ao tipo de inóculo, concentração deste e do substrato bem como a duração do processo fermentativo, gerando proporções distintas dos ácidos orgânicos.

Quanto ao tipo de inóculo, Macfarlane; Macfarlane (1993), citados por Morita *et al.* (1999), relatam que os gêneros *Clostridium* e *Bacteróides* sintetizam, principalmente, lactato e succinato. Por outro lado, os *Bífidobacterium* são capazes de produzir grandes quantidades de acetato, enquanto a produção de butirato e propionato dependem dos gêneros *Fusobacterium* e *Eubacterium* , e *Bacteróides* , respectivamente (VELÁSQUEZ *et al.*, 2000; SILVI *et al.*, 1999). Recentemente, Pryde *et al.*, 2002 associou a elevada produção de ácido butírico ao *Clostridium acetobutylcum*.

As diferentes características dos substratos como o tipo de cristal de amido, pontes de hidrogênio entre os glicanos influenciam o processo fermentativo, conforme foi descrito por Hopkins; Cummings ; Macfarlane (1998); espécies de *Bífidobacterium* têm preferência pelos galactoligossacarídeos e frutooligossacarídeos (FOS), sendo este último utilizado para a síntese da enzima β -fructofuranosidase capaz de hidrolizar as ligações β 2 $\rightarrow$ 1 e α 1 $\rightarrow$ 2 que se encontram na estrutura da inulina (PERRIN *et al.*, 2001). Posteriormente, Bielecka;Biedrzycka; Majkowska (2002), demonstraram que essa enzima a partir da espécie *B. adolescentis* G1, é capaz de fermentar frutooligossacarídeo (FOS) com grau de polimerização entre 2-8.

A produção de ácidos e a velocidade da fermentação são influenciadas pelas características dos substratos, conforme observado por Bourquin; Titgemeyer; Fahey (1993), que encontraram teores de acetato elevados após a fermentação da cenoura e brócolis, tendo em vista o alto conteúdo de pectina. Em outro experimento, Bourquin *et al.* (1992) verificaram que a aveia era rapidamente fermentada em decorrência da quantidade de β -glucanos, enquanto a presença de

lignina no trigo e milho inibe a degradação dos substratos. Resultados semelhantes foram encontrados por Nyman *et al.* (1986) com cenoura e farelo de trigo.

Uma análise destas metodologias demonstra que, face às vantagens apresentadas por cada uma delas, a escolha vai depender dos objetivos, recursos disponíveis e das limitações que todos oferecem na interpretação dos resultados.

2.3.2. Efeitos sobre o metabolismo glicídico e lipídico.

Os efeitos do AR sobre a resposta glicêmica são conflitantes. De acordo com a classificação nutricional do amido definido por Englyst; Kigman; Cummings (1992), o amido rapidamente digerido, ou seja, a diferença entre os valores de glicose obtida por hidrólise enzimática após 120 e 20 minutos, é que definirá a resposta glicêmica e não o teor de AR, pois segundo este autor, embora *cornflakes* contenham elevado teor de AR e amido, rapidamente digerido, produziram elevada resposta glicêmica (CARUSO; MENEZES, 2000).

A glicemia pós-pandrial, elevada após ingestão de batatas e cornflakes com alto teor de AR possivelmente é decorrente do elevado percentual de área amorfa, menos densa, que absorve água mais rapidamente que a torna mais susceptível à hidrólise enzimática. Outra explicação plausível é o padrão de cristalinidade tipo A presente nos cereais, que se caracteriza por ser, termodinamicamente mais estável e sensível à hidrólise pela α -amilase (LUZ *et al.*, 1997).

Nos grânulos com elevado teor de amilopectina a digestão ocorre mais rápido, devido as ramificações do glicano que contribui para aumentar a área superficial, exposta a hidrólise enzimática. Quando o alimento é rico em amilose, a resposta glicêmica pode ser menor, decorrente da formação de complexos de amilose com ácidos orgânicos, lipídeos e fatores antinutricionais (CARUSO e MENEZES, 2000).

A presença de fibras hidrossolúveis no alimento, fonte de amido é capaz de reduzir a resposta glicêmica e insulinêmica pós-pandriais e mascarar os efeitos do AR. Este

fenômeno acontece por um retardo no ritmo de esvaziamento gástrico, decorrente da capacidade de retenção de água pelas pectinas, gomas e beta-glucanos, aumentando a viscosidade do meio o que reflete no aumento da saciedade, menor taxa de absorção no intestino e decréscimo do índice glicêmico (TORRES, 2001).

Apesar das falhas metodológicas, o índice glicêmico vem sendo amplamente aplicado em estudos de biodisponibilidade dos carboidratos, com as seguintes ressalvas: os resultados podem ser influenciados pelo baixo conteúdo de carboidrato da amostra que implica a necessidade, nem sempre desejável, de ingerir grandes quantidades dos alimentos; a variabilidade das respostas glicêmicas requer um maior número de indivíduos; a trituração das amostras quebra as paredes celulares e facilita o acesso das enzimas ao amido; a presença de antinutrientes nos alimentos crus que pode inibir as amilases e finalmente os demais componentes dos alimentos, dos quais destacam-se os lipídeos por provavelmente, retardarem o esvaziamento gástrico. (CHAMP; FAISANT, 1994)

As propriedades do AR sobre o metabolismo lipídico, segundo Annison; Topping (1994) são decorrentes dos produtos da fermentação e das características da microbiota intestinal. Conforme citado anteriormente, o ácido propiônico parece inibir a síntese de colesterol por mecanismo ainda não esclarecido.

Quanto à composição da microbiota intestinal, a presença de bactérias lácticas, é capaz de desconjugar ácidos biliares, tornando-os menos solúveis em pH baixo, induzindo a precipitação do colesterol junto com os ácidos biliares, o que os tornam indisponíveis para reabsorção no fígado, sendo eliminado nas fezes. Dessa forma mais colesterol é requerido para a síntese de ácidos biliares no fígado, reduzindo os níveis de colesterol sérico (FERREIRA, 2003).

Diante desta revisão, verifica-se que os efeitos do AR sobre as respostas glicêmicas e lipídicas são conflitantes face à influência de inúmeros fatores que precisam ser melhor investigados. Essa constatação demonstra que há um longo caminho a ser percorrido até a aplicabilidade deste constituinte na dieta de diabéticos, obesos e hiperlipidêmicos.

3- Referências bibliográficas

ANNISON, G., TOPPING, D. L. Nutritional role of resistant starch: chemical structure vs physiological function. **Annual Review Nutrition**, v.14, p.297-320, 1994.

BEDNAR, G. E.; PLATIL, A .R.; MURRAY, S. M.; GRIESHOP, C. M.; MERCHEN, N. R.; FAHEY, G. C. Starch and fiber fractions in selected food and feed ingredients affect their small intestinal digestibility and fermentability and their large bowel fermentability *in vitro* in a canine model. **Journal of Nutrition**. v.131, N.2,P. 276-286,2001.

BELITZ, M., D., GROSCHE, W. Química de los alimentos. Zaragoza, Acribia.1998. p.257-259.

BEUX, M. R. Atlas de microscopia alimentar -Identificação dos elementos histológicos vegetais. São Paulo. Varela.1997.79p.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA., E.; MAJKOWSKA, A . Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. **Food Research International**.v.35,p. 125-131,2002.

BLAY, G. Le., ICHEL, C., BLOTTIÉRE, H. M., BONNET, C. CHERBUT, C. Long term adaptation suppresses the fructooligosaccharides prebiotic effect in rats. In: **INTERNATIONAL CONGRESS OF NUTRITION**,16. Montreal,1997.

BOURQUIN, L. D.; TITGEMEYER, E. C.; FAHEY, C. G. Vegetable fiber fermentation by human fecal bacteria: cell wall polysaccharide disappearance and short-chain fatty acid production during in vitro fermentation and water- holding capacity of unfermented residues. **Journal of Nutrition**., p.860-869,1993.

BOURQUIN, L. D.; TITGEMEYER, E. C.; GARLEB, K. A.; FAHEY, G. C. Short-chain fatty acid production and fiber degradation by human colonic bacteria : effects of substrate and cell wall fractionation procedures. **Journal of Nutrition**. p.1508-1520,1992.

BROUNS, F.; KETTLITZ, B.; ARRIGONI, E. Resistant starch and the butyrate revolution. **Food Science and Technology**. v.13,p.251-261,2002.

CAMBRODÓN, I. G.; MARTÍN-CARRÓN, N. Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. In : **LAJOLO, F. M.; SAURA-CALIXTO, F.; PENNA, E. W.; MENEZES, E. W.** Fibra dietética en Iberoamérica tecnología y salud -obtención, caracterización , efecto fisiológico y aplicación en alimentos. São Paulo. Varela .2001.p.311-337.

CARUSO, L.; MENEZES, E. W. Índice glicêmico dos alimentos. **Nutrire**.v.19/20,p.49-63,2000.

CHAMP, M., FAISANT, N. Resistant starch: Analytical and Physiological aspects. **Boletim da SBCTA**. v.30, p.37-43, 1996.

CHAMP, M.,FAISANT, N. Resistant starch. In: **VAN BEKKUM, H., ROPER, H., VORAGEN, F.** Carbohydrates as organic raw materials. Weinheim: VCH Publishers.1994.p.189-215.

CHANDRASHEKAR, A .; KIRLEIS, A .W. Influence of protein on starch gelatinization in sorghum. **Cereal Chemistry**. v.65,N.6,p.457-462,1998.

CIACCO, F. C.; TAVARES, D. Q.; TEXEIRA, M. A .V. *Amido resistente*. In: Lajolo,f.m.; Saura-Calixto,F.; Penna,E.W.; Menezes,E.W. **Fibra dietética en**

Iberoamérica tecnologia y salud -obtención, caracterización , efecto fisiológico y aplicación en alimentos. São Paulo. Varela .2001.P.129-139.

EERLINGEN, R. C., CROMBEZ, M., DE LCOUR, J. A Enzyme-resistant starch. I Qualitative and quantitative influence of incubation time and temperature of autoclaved starch on resistant starch formation. **Cereal Chemistry**. v.70, p.339-334,1993.

ENGLYST, H. N.; KIGMAN, S. M.; CUMMINGS, J. H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal Clinical Nutrition**. v.46, SUPPL. 2, S 33- S 50,1992.

ENGLYST, K. N.; ENGLYST, H. N.; HUDSON, G. F.; COLE, T. J.; CUMMINGS, J. H. Rapidly available glucose in foods: *in vitro* measurements that reflect the glycemic response. **American Journal Clinical Nutrition**. v.69,p.448-454,1999.

ESCARPA, A , GONZÁLEZ, M. C., Tecnologia del almidón resistente. **Food Science and Technology International**, v.3, p.149-161, 1997.

ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M. C.; MAÑAS, E.; GARCIA-DIZ, L.; SAURA-CALIXTO, F. Resistant starch formation : standardization of a high-pressure autoclave process. **JOURNAL AGRICULTURAL FOOD CHEMISTRY**. v.44,p.924-928,1996.

FARO, Z. P. Extração e caracterização de amido com vistas a sua utilização na Indústria de Alimentos. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 1998. 25p. Exame de Qualificação do Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco.

FERREIRA, C. L. L. F. Prebióticos e Probióticos: Atualização e Prospecção. Viçosa. Suprema Gráfica e Editora.2003. 203p.

FREITAS, M. C. J. Amido resistente: propriedades funcionais. **Nutrição Brasil**. v.1,p. 40-48,2002.

FRENCH, D. Chemical and physical properties of starch. **Journal of Animal Science**, Albany, v.39, n.4, p.1048-1061, 1973.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BULEÓN, A.; PEREZ, S. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. *European Journal of Clinical Nutrition* .v.46,n.2,p.3-16,1992.

GOÑI, I., GARCIA-ALONSO, A, GARCIA, D. Almidon resistente componente indigestible de la dieta *alimentaria*. **Alimentaria**.v.261, p.31-33,1995.

GOÑI, I.; GARCÍA-ALONSO, A . ; MARTIN-CARRÓN, N.; SAURA-CALIXTO, F. In vitro fermentation of different types of α -amylase resistant corn starches. **European Food Research Technology**. v.211,p. 316-321,2000.

GUILBOT, A .; MERCIER, C. Starch. In: **ASPINALL, G. O . The Polisacchrides**. New York: Academic Press.1985.v.3.p.209-282.

HOPKINS, M. J.; CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. Inter-species differences in maximum specific growth rates and cells yields of bifidobacteria cultured on oligosaccharides and other simple carbohydrate sources. **Journal of Applied Microbiology**.v.85,p. 381-386,1998.

KELKAR, M., SHASTRIP, P., RAO, B. Y. Effect of processing on in vitro carbohydrate digestibility of cereal and legumes. **Journal Food Science Technology**.v.33, n.6, p. 493-497, 1996.

LANGKILDE, A . M.; CHAMP, M.; ANDERSON, H. Effects of high-resistant starch banana flour (RS2) on in vitro fermentation and small- bowel excretion of energy, nutrients and sterols : na ileostomy study. **American Journal Clinical Nutrition.** v.75,p. 104-111,2002.

LEITE, M. S. Caracterização do amido e formação de amido resistente em diferentes cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). São Paulo. Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 1999.67p. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo.

LUZ, S. S., CAMPOS, P. L., RIBEIRO, S. M. L., TIRAPEGUI, J. Aspectos atual da digestão e absorção de carboidratos. **Arquivos de Gastroenterologia**, v.34, n.3, p.175-185,1997.

MANNERS, D. J. Some Aspects of the Structure of Starch. **Cereal Foods World**, v.10, n.7, p.461-467, 1985

MENEZES, E. W. , LAJOLO, F. M. Contenido em fibra dietética y almidón resistente em alimentos y productos Iberoamericanos. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.São Paulo. 2000. 121p.

MENEZES, E. W. Aproveitamento do amido de alimentos- estudo em humanos e animais. São Paulo. Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.1992.105p. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo.

MORITA, T.; KASAOKA, S.; HASE, K.; KIRIYAMA, S. Oligo-L-methionine and resistant protein promote cecal butyrate production in rats fed resistant starch and fructoligosaccharides. **Journal Nutrition.** v.129,N.7,p.1333-1339,1999.

NAMRATHA, J.; ASNA, U.; PRASAD, N. N.; Effect of storage on resistant starch content of processed ready-to-eat foods. **Food Chemistry.** v.79,p. 395-400,2002.

NIBA, L. L. Effect of storage period and temperature on resistant starch and beta-glucan content in cornbread. **Food Chemistry** (2003 ?).

NYMAN, M.; ASP, N. G.; CUMMINGS, J.; WIGGING, H. Fermentation of dietary fibre in the intestinal tract : comparison between man and rat. **Brit. Journal Nutrition.** v.55,p. 487-496,1986.

PLATEL, K.; SHURPALEKAR, K. S. resistant starch content of Indian foods. **Plant foods for Human Nutrition.** v.45,p.91-95,1994.

PERRIN, S.; WARCHOL, M.; GRILL, J.P.; SCHNEIDER, F. Fermentations of fructoligosaccharides and their components by *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 on batch culture in semi-synthetic medium. **Journal of Applied Microbiology.** v.90, p.859-865, 2001.

POMERANZ, Y. Research and development regarding enzyme-resistant starch (RS) in the USA: a review. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.46, Sppl 2, p.s63-S68, 1992.

PRYDE, S, E.; DUNCAN,S.H.; HOLD,G.L. H.; STEWART, C. S. ; FLINT, H. J. The microbiology of butyrate formation in the human colon. **FEMS Microbiological letters.** v.217, p.133-139, 2002.

RANHOTRA, G. S., GELROTH, J. A, EISENBRAUN, G. J. High-fiber white flour and its use in cookie products. **Cereal Chemistry** .v.68, n.4, p.432-434, 1991.

ROSIN, P. M. Formação de amido resistente em alimentos submetidos ao congelamento. Estudo in vivo e in vitro. São Paulo. Universidade de São Paulo,1999.60p. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo.

SAGUN, R.; ARCOT, J. Effect of domestic processing methods on the starch, non-starch polysaccharides and in vitro starch and protein digestibility of three varieties of rice with varying levels of amylose. **Food Chemistry**. v.70, p.107-111,2000.

SILVI, S.; RUMNEY, C. J.; CRESCI, A .; ROWLAND, I. R. Resistant starch modifies gut microflora and microbial metabolism in human flora associated rats inoculated with faeces from Italian and UK donors. **Journal of Applied Microbiology**. v.86,p. 521-530,1999.

SKRABANJA, V.; KREFT, I.; Resistant starch formation following autoclaving of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) groats an *in vitro* study. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.46,p. 2020-2023,1998.

THED, S. T.; PHILLIPS, R. D. Changes of dietary fiber and starch composition of processed potato products during domestic cooking. **Food Chemistry**. v.52.p. 301-304,1995.

TOPPING, D. L.; CLIFTON, P. M. Short-chain fatty acids and human colonic function : roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological Reviews**. v.81. N.3,p. 1031-1064,2001.

TORRES, G. F. Efeito do processamento térmico sobre o teor de fibra alimentar em hortaliças. Recife, 2001. 57p. *Tese. Mestrado*. Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Nutrição.

TOVAR, J. Bioavailability of carbohydrates in legumes: Digestible and indigestible fractions. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v.44, n.4, p.36-40, 1994.

TOVAR, J.; MELITO, C.; HERRERA, E.; RASCÓN, A.; PÉREZ, E. Resistant starch formation does not parallel syneresis tendency in different starch gels. **Food Chemistry**. v.76,p.455-459,2002.

TRUSWELL, A .S. Glycaemic index of foods. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.46., SUPPL.2.; S 91- S 101,1992.

VELÁSQUEZ, M.; DAVIES, C.; MARRET, R.; SLAVIN, J. L.; FEIRTAG, J. M. Effect of oligosaccharides and fiber substitutes on short-chain fatty acid production by human fecal microflora. **Anaerobe**.v.6,p. 87-92,2000.

WANG, Y. J.; WHITE, P.; POLLAK, L.;JANE, J. Amilopectin and intermediate marterials in starches from mutant genotypes of the Oh43 imbred line. **Cereal chemistry**.v.70,p.521-525,1993.

XUE, Q.; NEWMAN, R. K.; NEWMAN, C. W. Effects of heat treatment of barley starches *in vitro* digestibility and glucose response in rats. **Cereal Chemistry**. v. 73, N.5,p. 588-592,1996.

Objetivos

Geral

Avaliar a influência de diferentes condições de processamento sobre a estrutura e propriedades nutricionais e funcionais do amido do feijão macassar.

Específicos

Caracterizar os grânulos do amido do feijão macassar em diferentes estádios de maturação.

Determinar a influência de processamento hidrotérmico sobre as características do amido do feijão macassar.

Avaliar os possíveis efeitos fisiológicos do amido resistente do feijão macassar com vista a sua aplicação dietética.

Planejamento de Trabalho

Para a consecução dos objetivos pretendidos neste trabalho, foram executados os seguintes experimentos:

Experimento 1

Características físico-químicas do grânulo do amido do feijão macassar (Vigna unguiculata L. Walp).

- Determinação da composição química do feijão.
- Isolamento dos grânulos de amido.
- Determinação dos constituintes químicos, cristalinidade e morfologia dos grânulos de amido.

Experimento 2

Modificação das características do amido do feijão macassar (Vigna unguiculata L. Walp) por tratamento térmico.

- Aplicação de tratamentos hidrotérmicos sob pressão e sem pressão.
- Determinação do teor de amido resistente, cristalinidade e morfologia dos grânulos de amido antes e após os tratamentos hidrotérmicos.

Experimento 3

Resposta fisiológica in vitro do amido do feijão macassar (Vigna unguiculata L. Walp).

- Isolamento dos grânulos de amido.
- Avaliação da velocidade de fermentação do amido e determinação dos produtos resultantes.
- Avaliação da cinética da hidrólise dos grânulos de amido.
- Determinação do índice glicêmico (IG).

Experimento 1

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO GRÂNULO DO AMIDO DO FEIJÃO MACASSAR (*Vigna Unguiculata* L.Walp).

Resumo

O elevado consumo do feijão macassar no Nordeste do Brasil e o conhecimento de que o aproveitamento biológico do amido depende das diferenças estruturais entre seus grânulos motivou a realização deste trabalho que teve como objetivo caracterizar o feijão macassar nos estádios de maturação em que é consumido. Para a consecução deste objetivo, os grãos verde e seco foram submetidos a ensaios analíticos, químicos, físico-químicos e físicos inerentes a determinação da composição centesimal do feijão, constituintes e estrutura dos grânulos do amido. Os dados relativos à composição centesimal demonstram a existência de diferenças quanto aos carboidratos totais e suas frações. Fato também observado, no que concerne às características químicas do amido: feijão verde apresentou maior teor de AR tipo 2 em relação ao amido total e baixo conteúdo de amilose. Quanto ao aspecto físico a maturação influencia apenas sobre os padrões de cristalinidade conforme se segue tipo C para o feijão verde e o A para o seco. Os resultados permitem concluir que: o estágio de maturação exerce influência sobre aspectos qualitativos e quantitativos dos constituintes dos feijões e dos grânulos do amido; o feijão verde apresenta menor possibilidade de formar AR tipo 3 em decorrência do menor teor de amilose e, por conter elevado percentual da fração solúvel da fibra alimentar, é mais recomendado para o planejamento alimentar de diabéticos e obesos.

Palavras-chave: composição química, feijão, amido resistente

Introdução

No Agreste e Sertão Nordestino entre as leguminosas mais consumidas destaca-se o feijão macassar tradicionalmente utilizado na forma seca e verde.

No que concerne ao seu valor nutritivo, é indiscutível a relevância de sua proteína, em termos quantitativos e qualitativos (ANTUNES *et al.* 1976; CHAVES *et al.* 1962), no entanto pouco se conhece sobre os carboidratos que representam 60% do grão (TOVAR, 1994).

Informes recentes referem que o amido das leguminosas pode ser constituído por frações resistentes à digestão cuja classificação nutricional corresponde ao amido nativo, resistente tipo 2 (AR -2), encontrado especialmente em banana verde, batata crua, alimentos processados com gelatinização incompleta e outros vegetais crus ou verdes.

A resistência à hidrólise enzimática encontra-se relacionada ao tipo de cristal do amido, cujo padrão de cristalinidade e composição química variam segundo a origem botânica e grau de maturação do vegetal.

Sabe-se ainda que a relação amilose/amilopectina constitui outra característica relevante no processo digestivo, devido à facilidade pela qual a amilose quando retrogradada por processamento hidrotérmico, origina um polímero resistente à digestão, denominado amido resistente tipo 3 que se encontra relacionado a etiologia e redução do risco de patologias crônicas não transmissíveis (CAMBRODÓN e MARTIN-CARRÓN, 2001; ANNISON e TOPPING, 1994).

Considerando a participação do feijão macassar no planejamento alimentar do nordestino, a importância do amido como fonte de calorias e a influência das características estruturais deste composto sobre a sua biodisponibilidade, foi realizada esta pesquisa com o objetivo de determinar as características físico-químicas do grânulo de amido dessa leguminosa nos estádios de maturação nos quais é consumida.

Material e Método

Material

Foi constituído pelo feijão macassar (*Vigna unguiculata* L.Walp) nos estádios de maturação verde e maduro (seco), adquiridos de forma aleatória no comércio local da Região Metropolitana do Recife.

Métodos

A caracterização das amostras dos feijões *in natura* foi obtida por meio de ensaios físico-químicos referentes a :

composição centesimal: umidade, proteína, carboidratos, cinzas, lipídeos, fibra alimentar, segundo AOAC (1998);

amido total e açúcares totais: Normas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

Após o isolamento dos grânulos de amido do material, de acordo com o procedimento preconizado por Hohlberg e Stanley (1987) com modificações introduzidas por Rosin (1999), foi procedida a caracterização deste constituinte quanto aos seguintes parâmetros físico-químicos:

amido resistente: segundo Faisant *et al.*(1995);

amilose e amilopectina: de acordo com Gilbert e Spragg (1964);

difração de raio-X: em Difractômetro Siemens D500 com radiação $\text{CuK}\alpha$ a 40 KV 40mA, sendo a velocidade de varredura de 2,5 segundos, sob ângulo 2θ variando de $5-4^\circ$. Os resultado obtidos foram comparados com padrão JCPDS-Internacional Centre for Diffraction 2000;

microscopia eletrônica de varredura (MEV): em microscópio eletrônico de varredura JEOL modelo JMS 5900 sob aceleração de 15 KV a 1600X.

Resultados e Discussão

Características dos feijões

O fato do consumo do feijão macassar verde ser um hábito tipicamente Nordestino, explica a dificuldade de se obter dados sobre sua composição centesimal em Tabelas de Composição de Alimentos. A literatura cita apenas o trabalho realizado por Lira (1991), cujos resultados são semelhantes, exceto para o teor de carboidratos, lipídeos e fibras .

No que diz respeito aos grãos secos (tabela 1), ressalvadas as variações, decorrentes da cultivar analisada, das condições de cultivo e dos métodos de análises utilizados, os resultados corroboram com os apresentados por Mendez, Derivi, Rodrigues (1995); Guerra, Lago, Chaves (1973); Queiroz, Costa, Oliveira (2002); Onwuliri; Obu(2002).

Das diferenças decorrentes do estágio de maturação dos grãos ensaiados, após conversão dos dados do feijão verde para base seca, permaneceram apenas aquelas relativas aos carboidratos (Tabela 1). A predominância de açúcares no feijão macassar verde, segundo Stanley (1991) decorre da ativação da enzima frutose 2-6 biofosfatase responsável pela síntese específica de sacarose em presença de elevada proporção de triosefosfato/ortofosfato, enquanto que o baixo teor de amido se deve ao processo competitivo entre a sacarose e amido que ocorre no citosol e cloroplasto, respectivamente. No grão seco é reduzido o teor de açúcares provavelmente pelas reações de oxidação, via mitocôndria e ainda a síntese de enzimas envolvidas na formação da amilose (FENNEMA , 2000).

O amido, cuja síntese ocorre nos cloroplastos durante o amadurecimento do vegetal, representa 67,40% do total de carboidratos do feijão seco em contraposição aos 35,37% e 34,66% determinado para o grão verde in natura e em base seca respectivamente.

Esta diferenciação também se faz presente de modo quantitativo e qualitativo na fibra alimentar total (FAT), bem como em suas frações e nos constituintes do amido.

No feijão macassar verde a FAT representa cerca de 35% do total de carboidratos, percentual que é reduzido para 29,33% no grão seco. Trabalho realizado por Mendez, Derivi, Rodrigues (1995), utilizando o método fibra detergente neutro e ácido demonstra uma grande variação 9,82 a 20,25g% dos valores de FAT bem como de fibra insolúvel 47 a 83g%, em distintas espécies de feijões crus. Com relação a este aspecto qualitativo, constata-se que 90,9% da FAT do feijão macassar seco é constituído por fibras insolúveis semelhante aos achados por Menezes; Lajolo (2000) para o feijão branco e preto crus e superiores aos de Mendez, Derivi, Rodrigues (1995), enquanto no verde, esta fração representa apenas 75,5%. O feijão verde apresenta, portanto, uma relação compatível ao recomendado pelo Food and Drug Administration - FDA 1987 para uma dieta equilibrada : 70-75% de fibra insolúvel e 20-25% de solúvel, baseado em estudos sobre os efeitos fisiológicos destes constituintes (TORRES, 2001; MARQUÉZ, 2002).

Tabela 1- Composição centesimal do feijão macassar *in natura* verde e seco.

Constituintes ensaiados	Feijão verde	Feijão verde	Feijão seco (g%)
	Base úmida (g%)	Base seca (g%)	
Umidade	66,35	10,21	11,08
Proteína	9,65	25,74	22,13
Lipídeo	0,83	2,23	1,87
Cinzas	1,63	4,36	3,56
Carboidratos totais	21,54	57,46	61,36
Fibra alimentar total	7,54	20,14	18,00
Fração solúvel	1,85	4,95	1,61
Fração insolúvel	5,69	15,19	16,37
Amido	7,62	19,92	41,36
Açúcares redutores em glicose e não redutores em sacarose	6,38	17,4	2,00
Valor calórico total(kcal)	102,07	272,31	278,79

Caracterização dos grânulos de amido

Características físicas dos grânulos dos amidos dos feijões

As longas cadeias polissacarídeas do grânulo de amido se associam entre si por meio de pontes de hidrogênio, resultando em cristalinidade que é atribuída a amilopectina. Com base na cristalinidade, o amido pode ser classificado em formas A, B, C. Das quais a A e B encontram-se presentes, praticamente, nos cereais e a forma C, considerada uma mistura das anteriores, é encontrada na maioria dos tubérculos, leguminosas e sementes (GALLANT *et al.*, 1992; ANNISON e TOPPING, 1994).

De acordo com a Figura 1, constata-se mais uma vez a influência do estágio de maturação: o feijão verde cru apresentou padrão C e o feijão seco do tipo A. As diferenças entre os padrões, embora não se encontrem completamente estabelecidas, parecem estar relacionadas ao tamanho da cadeia de amilopectina (GALLANT, BOUCHET, BALDWIN, 1997).

Os grânulos do amido nativo, embora apresentem semelhança quanto ao percentual de cristalinidade, são diferentes quanto à organização tridimensional das estruturas (GALLANT, BOUCHET, BALDWIN, 1997). O padrão tipo A possui a cadeia de amilopectina mais curta, a estrutura é ortogonal e contém apenas 8 moléculas de água com ligações pouco numerosas, irregulares sendo a amilose, distanciada da amilopectina por uma região amorfa que é menos densa, absorve água mais rapidamente e é mais susceptível as modificações químicas e enzimáticas (ANNISON e TOPPING, 1994).

Quanto ao grau de cristalinidade das amostras em estudo, observa-se que a intensidade do pico do difractograma foi maior para o padrão tipo C (feijão verde), sugerindo fortes ligações internas das moléculas e maior grau de associação entre as cadeias de amido (Figura 1).

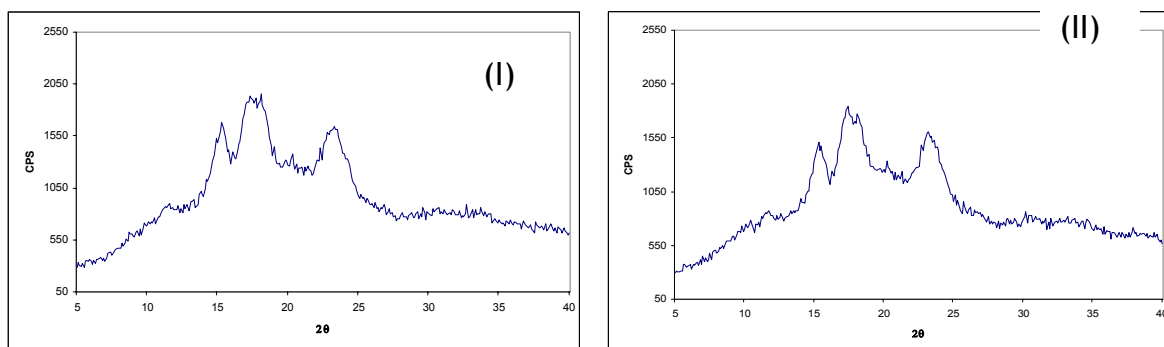
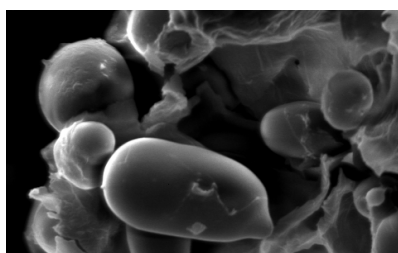
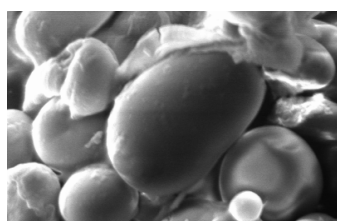


Figura 1 - Difractograma de raio X : amido de feijão verde, padrão C (I) e amido de feijão seco, padrão A (II).

Com relação à morfologia, os grânulos de amido nativo podem ser reconhecidos por seus formatos e tamanhos, posição do hilo e temperatura de gelatinização. O amido de milho, por exemplo, pode ser esférico, angular ou em forma de dente. O trigo é lenticular e tem distribuição de tamanho variável ($> 14\mu\text{m}$; $5\text{-}14\mu\text{m}$; $1\text{-}5\mu\text{m}$). O arroz, considerado o menor de todos os amidos comerciais ($1,5\text{-}9\mu\text{m}$), apresenta uma melhor digestibilidade, devido ao aumento da área superficial em relação ao volume, após a cocção. Os grânulos de amido das raízes e tubérculos são volumosos, elipsoidais, em geral são menos densos e mais fáceis de cozinhar (GUILBOT e MERCIER, 1985). Os feijões, independente do grau de maturação, apresentaram formatos riniformes de tamanhos variáveis ($11,8\mu\text{m}\text{-}26,7\mu\text{m}$) e superfície lisa, conforme figuras que se seguem.



(A)



(B)

Figura 2- Micrografia eletrônica: grânulo do amido do feijão seco **(A)** e amido do feijão verde **(B)**.

Características químicas dos grânulos de amido dos feijões

Diferenças importantes foram também registradas entre os grânulos de amido obtidos nos dois estádios de maturação. No que diz respeito a sua constituição o percentual de amido resistente tipo 2 é similar, ratificando Menezes; Lajolo(2000) embora discorde de Lintas; Capelloni (1992) que encontraram até 40% em leguminosas como o feijão branco, ervilha, lentilha e fava.

Em termos proporcionais, percentual de AR 2 do feijão verde é superior ao feijão seco, 68,82g% e 31,19g% do amido total, respectivamente. Esta elevada redução do conteúdo de AR tipo 2 em vegetais, durante o amadurecimento, é segundo Ciacco; Tavares; Texeira (2001), devida a finalização da gênese do amido que ocorre neste estágio de desenvolvimento.

Segundo Manners (1985), com exceção dos cerosos, a proporção dos glicanos: amilose e amilopectina que formam o grânulo de amido varia entre 20 a 30% e 70 a 80%, respectivamente.

De acordo com nossos registros (Tabela 2) o teor de amilose do feijão seco, representa 37,79% do amido total, superior, portanto ao referido acima e ao determinado para o verde 27,66%.

Tabela 2- Composição química do grânulo do amido do feijão macassar (base seca).

Determinações analíticas	Feijão verde (g%)	Feijão seco (g%)
Amido total	19,92	41,36
Amido resistente	13,71	12,90
Amilose	5,51	15,63
Amilopectina	13,33	27,10

Esta diferença é característica deste estágio de maturação, no qual a síntese de amilose ocorre nos amiloplastos a partir da sacarose por ação da enzima sacarose- uridinadifosfoglicose (UDPG) glicosiltransferase ou pela glicose a partir da adenosinadifosfoglicose (ADPG) fosforilase (FENNEMA, 2000), o que implica a redução destes açúcares, no grão seco, conforme demonstra a Tabela 1.

A existência de uma relação entre o teor de amilose e a formação de AR 3 é referida por Sievert; Pomeranz(1989) ; Ring, Gee, Wittam (1988). Essa propriedade a distingue da amilopectina , altamente ramificada e esférica, cujas ligações intermoleculares responsáveis pela retrogradação do gel ,só ocorrem , de modo parcial nas cadeias laterais.

Do ponto de vista funcional, a amilose poderá participar da redução do risco de enfermidades crônicas não transmissíveis, visto que o AR tipo 3 exerce funções fisiológicas semelhantes às exibidas pela fração solúvel das fibras alimentares: de serem fermentadas no cólon, produzindo ácidos graxos de cadeia curta que geram impactos sobre a integridade dos colonócitos e possíveis efeitos sobre o metabolismo glicídico e lipídico.

Conclusões

Os resultados obtidos nas condições nas quais este trabalho foi desenvolvido, permitem concluir que:

com exceção do aspecto morfológico dos grânulos de amido, os demais parâmetros analisados foram influenciados, de forma qualitativa e quantitativa, pelo estágio de maturação dos grãos;

embora contenha um maior teor de amido resistente tipo 2 e padrão de cristalinidade mais resistente , o feijão verde apresenta menor possibilidade de formar amido resistente tipo 3 face ao teor de amilose;

o consumo de feijão macassar verde deve ser recomendado no planejamento alimentar dos diabéticos e obesos, tendo em vista o considerável percentual da fração solúvel da fibra alimentar.

Referências bibliográficas

ANNISON, G.; TOPPING, D. L. Nutritional role of resistant starch: chemical, structure vs physiological function. **Annual Review Nutrition**.v.14, p.297-320. 1994.

ANTUNES, N. L.; LAGO, E. S.; BION, F. B.; NASCIMENTO, J. S.; ARAÚJO, T. M. V. C.; FREITAS, L. P. C. G.; PONTES, D. C. N. Valor nutritivo do feijão macaçar (*Vigna unguiculata* L. Walp.) **Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas**. v.9, n.5-6, p-293-296, 1976.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist Internacional..Food Composition; Additives; Natural Contaminants**. 16 th Edition, 4 th Revision. Maryland-USA, AOAC Internacional.1998.V.II.

CAMBRODÓN, I. G.; MARTÍN-CARRÓN, N. *Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente*. In : LAJOLO, F. M.; SAURA-CALIXTO, F.; PENNA, E. W.; MENEZES, E. W. **Fibra dietética en Iberoamérica tecnología y salud -obtención, caracterización , efecto fisiológico y aplicación en alimentos**. São Paulo. Varela, 2001. p.311-337.

CHAVES, N.; BARROS, M. M. R.; MADRUGA, I.; LAPA, M. A. G.; FREITAS, C. P.; LIMA, J. A. L.; COSTA, L. P.; Valor nutritivo da associação de proteínas do feijão macaçar (*Vigna sinensis*) e da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) . **Revista Brasileira de Medicina**.v.17,n.7, 1962.

CIACCO, F. C.; TAVARES, D. Q.; TEXEIRA, M. A. V. *Amido resistente*. In: LAJOLO, F. M.; SAURA-CALIXTO, F.; PENNA, E. W.; MENEZES, E. W. **Fibra dietética en Iberoamérica tecnología y salud -obtención, caracterización , efecto fisiológico y aplicación en alimentos**. São Paulo. Varela .2001. p.129-139.

FAISANT, N.; PLANCHOT, V.; KORLOWSKI, F.; PACOURET, M. P.; COLONNA, P.; CHAMP, M. Resistant starch determination adapted to products containing high level of resistant starch. **Science des Aliments**. v.15, p.83-89,1995.

Food and Drug Administration (FDA). Center for Food Safety and applied nutrition. Departament of health and humam services. Recommendations for fiber intake in the United States. In: **Physiological effects and health consequences of dietary fiber**. Life Sciences Research Office, Bethesda, Maryland, 1987.

FENNEMA, O. R. **Química de os Alimentos**. 2ª Edição. Zaragoza. 2000. 1258p.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrates Polymers**. v.32, p.177-191, 1997.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BULÉON, A.; PÉREZ, S. Physical Characteristics of Starch Granules and Susceptibility to Enzymatic Degradation. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.46, p.3-165, 1992.

GILBERT, G. A.; SPRAGG, S. P. Iodometric determination of amylose. In: Whistler,R.L.(ed.) **Methods in carbohydrate chemistry - starch**. New York.Academic Press, 1964.v.4,p168-169.

GUERRA, N. B.; LAGO, E. S.; CHAVES, N. Contribuição ao estudo do Feijão Macaçar (*Vigna unguiculata*). **Revista Brasileira de Medicina**. v.30, n.2, p.82-86, 1973.

GUILBOT, A.; MERCIER, C. Starch. In: ASPINALL, G. O . **The Polisacchrides**. New York: Academic Press.1985.v.3.p.209-282.

HOHLBERG, A. I.; STANLEY, D. W. Hard-to-cook defect in black beans. Soaking and cooking processes. **Journal Agricultural Food Chemistry**.v.35,p 571-576, 1987.

LINTAS, C.: CAPPELONI, M. Effect of processing on legume resistant starch. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.46, Sppl.2, p.S101-104, 1992.

LIRA, G. M. **Propriedades nutricionais e sensoriais do feijão macaçar verde (*Vigna unguiculata* L. WALP) enlatado e armazenado**. Recife, Universidade Federal de Pernambuco ,1991.83p. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

MANNERS, D. J. Some Aspects of the Structure of Starch. **Cereal Foods World**. v.10, n.7, p.461-467. 1985.

MARQUÉZ, L. R. **A fibra terapêutica**. São Paulo. GRF Propaganda Ltda. 2002. 175 p.

MENDEZ, M. H. M.; DERIVI, S. C. N.; RODRIGUES, M. C. R. **Tabela de Composição dos Alimentos**. Niterói. Editora da Universidade Federal Fluminense, 1995. 41p.

MENEZES, E. W.; LAJOLO, F. M. **Contenido em Fibra Deitética y Almidón Resistente in Alimentos y Productos Iberoamericanos**. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. São Paulo. 2000. 121p.

NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos Químicos e Físicos para análise de alimentos. 3ª Edição. São Paulo, 1985.v.1, 533p.

ONWULIRI, V. A .; OBU, J. A . Lipids and other constituents of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* grown in northern Nigeria. **Food Chemistry** .v.76,N.1,p.1-7,2002.

QUEIROZ, K. S.; COSTA, G. E. A. A .; OLIVEIRA, A. C. Composição centesimal de grãos de ervilha (*Pisum sativum*), Feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), Grão-de-bico (*Cicer arietinum*) e Lentilha (*Lvens culinais*) crus, cozidos e liofilizados. XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, RS, agosto, 2002.

RING, S.G; GEE, J. M.; WITTAM, M. Resistant starch: its chemical form in foodstuffs and effect on digestibility in vitro. **Food Chemistry**. v.28, p,97-109, 1988.

ROSIN, P. M. Formação de amido resistente em alimentos submetidos ao congelamento. Estudo in vivo e in vitro. São Paulo. Universidade de São Paulo,1999. 60p. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo.

SIEVERT, D.; POMERANZ, Y. Enzyme - resistant starch. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical, and microscopic methods. **Cereal Chemical**. v.66, n.4, p.342-347, 1989.

STANLEY J. K. **Postharvest Physiology of Perishable Plant Products**. New York. Editora Van Nostrand Reinhold. 1991.532p.

TORRES, G. F. Efeito do processamento térmico sobre o teor de fibra alimentar em hortaliças. Recife, 2001. 57p. Tese Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Nutrição.

TOVAR, J. Bioavailability of carbohydrates in legumes: digestible and indigestible fractions. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v.44, n.4, p.36-40,1994.

Experimento 2

MODIFICAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DO AMIDO DO FEIJÃO MACASSAR (*Vigna unguiculata* L. Walp) POR TRATAMENTO TÉRMICO.

Resumo

Considerando a importância das propriedades funcionais do amido resistente para a saúde o elevado consumo de feijão macassar no Nordeste brasileiro e os efeitos do processo térmico e da estocagem sobre a estrutura do amido, foi implementado este trabalho com o objetivo de avaliar a influência de diferentes tratamentos térmicos (cocção sob pressão e sem pressão) e do armazenamento a -20°C por 15 e 30 dias, sobre a formação de amido resistente do feijão macassar em dois estádios de maturação(verde e seco). Para analisar os fatores combinados foi realizado um planejamento fatorial do tipo 2³ com três variáveis independentes (fatores) e uma variável dependente (resposta). Os resultados demonstraram que todas as variáveis exerceram efeitos significativos na produção de AR e a maior formação foi registrada para o feijão seco devido ao elevado teor de amilose e a hidratação prévia a cocção sem pressão além do tempo de armazenamento de 30 dias. No que diz respeito às análises físicas, após os tratamentos hidrotérmicos ocorreram transformações nos padrões de cristalinidade e no aspecto morfológico nos feijões que apresentaram teores de AR comparáveis ao recomendado pela Comunidade Européia.

Palavras- chave: amido resistente; processamento térmico; feijão macassar

Introdução

Dos carboidratos que representam 40 a 80% do valor calórico total da alimentação diária (FREITAS, 2002; PLATEL; SHURPALEKAR, 1994), o amido presente nos grãos é o principal componente e, conseqüentemente a maior fonte de glicose da dieta humana, além do relevante papel exercido, no que diz respeito, as alterações metabólicas como diabetes, obesidade e ao desenvolvimento de doenças coronarianas.

Do ponto de vista químico, o amido quando submetido ao processo hidrotérmico, é gelatinizado, ocorrendo ruptura da estrutura granular e, conseqüentemente, solubilização das moléculas. Com o progressivo resfriamento, sobretudo sob congelamento, os géis de amido retrogradam, isto é, passam por modificações estruturais durante a estocagem, resultando em agregação das cadeias, recristalização e separação de fase entre polímero e solvente.

Esta nova estrutura do amido é composta por diversas e variadas formas, sendo resultantes de forças de ligações intermoleculares variáveis, que o torna resistente à hidrólise enzimática do trato gastrointestinal dos humanos, porém de relevância nutricional por exercer efeitos fisiológicos semelhantes às fibras solúveis. Considerando que grande parte do amido consumido na dieta do brasileiro é proveniente dos grãos; que o conteúdo de AR nos alimentos é variável e dependente dos processos térmicos e das condições de estocagem às quais foram submetidos; e que à prática de congelamento, utilizada para prolongar a vida útil dos alimentos, pode provocar alterações na estrutura do grânulo do amido, favorecendo a formação de amido resistente (OSORIO-DÍAZ *et al.* 2002), foi realizado este trabalho com o objetivo de avaliar os efeitos de distintos tratamentos térmicos e tempos de armazenamento sobre a concentração de AR em feijão macassar verde e seco.

Material e Métodos

Material

Feijão macassar (*Vigna unguiculata* L. Walp) nos estádios de maturação verde e seco, adquiridos de forma aleatória no comércio local da Região Metropolitana do Recife.

Métodos

Delineamento Experimental

Para analisar os efeitos combinados dos estádios de maturação dos feijões, tipos de cocção e tempo de armazenamento sobre a formação de AR foi realizado um planejamento fatorial do tipo 2^3 (NETO; SACARMINIO; BRUNS, 1995), com três variáveis independentes (fatores) e uma variável dependente (resposta) totalizando 8 ensaios, com cinco repetições cada, cujas condições (níveis codificados e decodificados) encontram-se nas Tabelas 1 e 2:

Tabela 1- Níveis codificados das variáveis para os ensaios

Ensaio	Grau de Maturação	Tipo de cocção	Tempo de armazenamento
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1

Tabela 2 - Níveis decodificados das variáveis

Níveis codificados	Estádio de maturação	Tipo de cocção	Tempo de armazenamento
-1	seco	Sob pressão	30 dias
1	verde	Sem pressão	15 dias

As respostas de interesse foram obtidas através das determinações de amido resistente segundo Faisant *et al.* (1995) nos grânulos isolados.

Tratamento hidrotérmico

Os feijões foram selecionados, tendo em vista a eliminação dos grãos defeituosos lavados em água corrente e submetidos aos seguintes processos de cocção:

cocção sem pressão: utilizou-se 5ml de água/ g do grão até o completo cozimento;

cocção sob pressão (1 Kgf / Cm²) em 5ml de água/g de grão, durante 30 minutos.

Estes processos, no caso dos grãos secos, foram precedidos de hidratação por 8 horas em água potável. Após a cocção, foi procedida a drenagem da água e os grãos armazenados sob congelamento (-20°C± 1) por 15 e 30 dias. Ao final destes períodos, amostras de cada ensaio foram retiradas do freezer e secadas em estufa ventilada a 45°C durante 18 horas, e, em seguida, trituradas em multiprocessador, pulverizadas até obter uma granulometria < 0,250mm.

Métodos Químicos e Físicos

Com vista a avaliar as modificações químicas e físicas decorrentes do processamento, procedeu-se o isolamento dos grânulos de amido de acordo com Rosin 1999, os quais foram submetidos as seguintes análises:

difração de raio-X: em Difractometro Siemens D500 com radiação $\text{CuK}\alpha$ a 40 KV 40mA, sendo a velocidade de varredura de 2,5 segundos, sob ângulo 2θ , variando de $5-4^\circ$, utilizando o padrão JCPDS-Internacional Centre for Diffraction 2000;

microscopia eletrônica de varredura (MEV): em microscópio eletrônico de varredura JEOL modelo JMS 5900 sob aceleração de 15 KV a 1000X e 1600X;

amido resistente: segundo Faisant *et al* (1995);

amido total: segundo Normas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

Análise dos Resultados

As respostas obtidas para todos os ensaios foram avaliadas quanto aos efeitos principais e interações entre os fatores através do programa *Statistica*, versão 6.0.

Resultados e Discussão

Características físicas do grânulo de amido dos feijões processados com maior teor de amido resistente

Segundo o detalhamento da morfologia, grânulos de amido *in natura* independentemente do grau de maturação apresentam-se riniformes e de tamanhos variáveis (Figura 1A). As alterações iniciadas com o tratamento hidrotérmico e consolidadas durante a estocagem sob congelamento, processo responsável pelas maiores transformações estruturais, devido a agregações das cadeias de amilose e amilopectina, podem ser apreciados na Figura 1B .

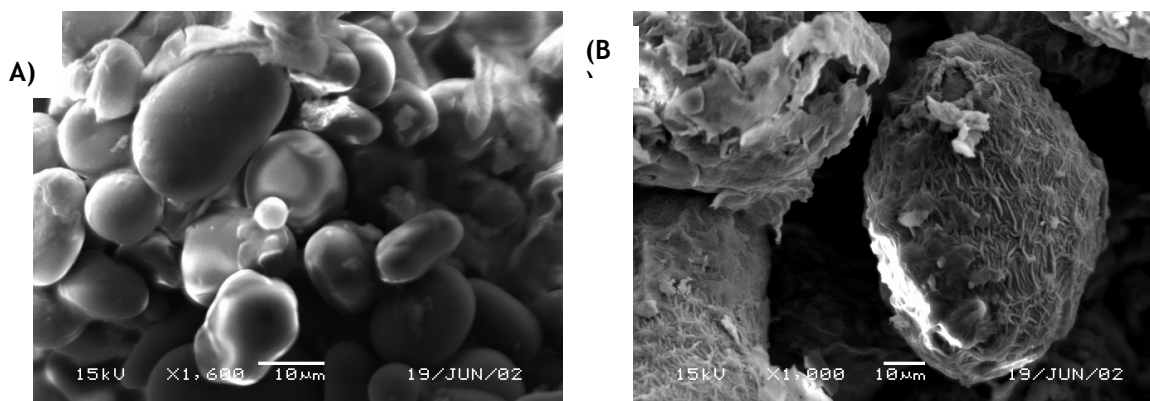
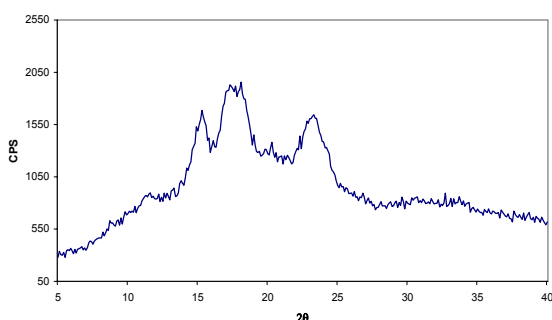


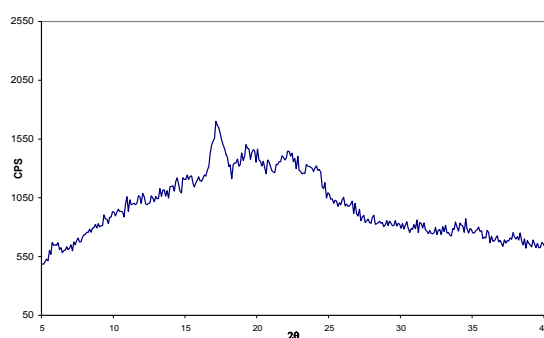
Figura 1- Grânulos de amido *in natura* (A) e grânulos de amido processado (B).

Com relação à cristalinidade, Gallant; Bouchet; Baldwin (1997), constataram que o amido nativo possui 15% a 45% de cristais, com padrão diferenciado. Através da difração de raio-x foi constatado que o estágio de maturação influenciou o tipo do padrão de cristalinidade dos feijões em estudo, uma vez que no grão seco é A, enquanto no grão verde é C (Figuras 2A e 2C).

Além do grau de maturação, foi também evidenciada a influência do processo hidrotérmico sobre a estrutura cristalina dos grânulos de amido dos feijões submetidos as condições de ensaios 3 e 4, cujo teor de AR foi superior aos demais. Por meio da representação gráfica (Figura 2B), verifica-se uma alteração do padrão para B, o que segundo Gallant *et al.* (1992) ocorre apenas em grânulos de amido, completamente destruídos e recristalizados com novo sistema de organização. Alterações para outros padrões também podem ocorrer de acordo com Teixeira (1998), como, por exemplo, em amido de milho de A para C. Segundo este autor, estudos micrográficos demonstram que o tipo B tende a ser mais resistente a enzimas amilolíticas. Esta tendência é devida as cadeias longas e compactas de amilopectina de alta cristalinidade, reforçada por numerosas associações com moléculas menores e espiraladas de amilose, cuja estrutura hexagonal é formada por seis duplas hélices conectadas por pontes de hidrogênio Gallant *et al.*, 1992).



(A)



(B)

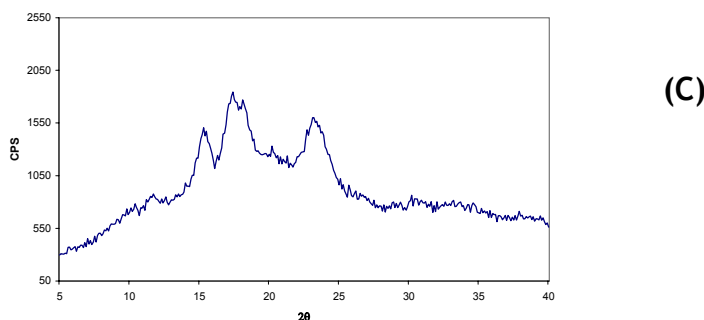


Figura 2- Difractograma de Raio-X: Amido do feijão seco (A), amido processado (B) e amido feijão verde (C).

Do ponto de vista nutricional, o fenômeno da gelatinização seguido da retrogradação ocorrido nos tratamentos utilizados nesta pesquisa é considerado benéfico, pois aumenta a disponibilidade de glicose do alimento e o teor de amido resistente . O que justifica o foco de interesse por esta pequena fração e as propriedades funcionais a ela atribuída. Em decorrência destas evidências, os países da Comunidade Européia recomendam um consumo médio de 4g/dia de AR, quantidade presente na dieta do Brasil, devido ao elevado consumo de feijão, seguido do arroz, milho e batatas (ROSIN 1999, FREITAS, 2002).

Formação de amido resistente

Pretendendo-se obter uma referência para o estabelecimento de comparações posteriores, o teor de AR e amido total dos feijões foram determinados antes da aplicação dos tratamentos. Os resultados obtidos 13,71% (feijão verde cru) e 12,90% (feijão seco cru) representam 68,82% e 31,19% do amido total em base seca, respectivamente.

Pelas respostas obtidas, após o tratamento hidrotérmico seguido de congelamento (Tabela 3), verifica-se que ocorreu uma considerável redução dos referidos percentuais. Este comportamento foi também observado por Venna;

Urooj; Puttaraj (1995), em pesquisa com leguminosas de origem indiana, inclusive da *Vigna unguiculata*. Convém ressaltar que, dos tratamentos aplicados nesta pesquisa, as combinações empregadas nos ensaios 1 e 3 resultaram os maiores teores de AR, 4,48 e 4,63 g%, respectivamente.

As variações detectadas, encontram suporte em estudos realizados por Pomeranz (1992) ; Hoebler *et al.* (1999) ; Sagun; Arcot (2000), cujos resultados sugerem que a formação de amido resistente durante o processamento encontra-se relacionada à gelatinização e retrogradação , embora seu teor, nos alimentos, dependa do tipo de processamento, relação amilose/amilopectina, tempo e temperatura de armazenamento e quantidade de água empregada no processamento que atua como agente plastificante.

Por meio da análise estatística dos dados constata-se que todos os fatores independentes utilizados nesta pesquisa exerceram influência sobre o percentual de AR, e mais significativamente a maturação e tempo de armazenamento (Tabela 4).

Tabela 3- Variação do teor de amido resistente (g%) em feijão macassar submetidos a diferentes ensaios e cinco repetições (R1 a R5).

Ensaio	R1	R2	R3	R4	R5	X ± DP
1	4,17	4,20	4,20	4,87	4,98	4,48±0,40
2	2,20	2,20	2,20	2,3	2,3	2,24±0,05
3	4,17	5,10	4,40	4,40	5,10	4,63±0,43
4	3,0	3,24	3,01	3,5	3,0	3,15±0,22
5	1,62	1,97	1,39	1,5	1,74	1,64±0,22
6	1,91	1,27	1,62	1,39	1,62	1,56±0,24
7	2,6	2,8	2,2	2,5	2,7	2,56±0,23
8	1,27	1,62	1,62	1,27	1,27	1,41±0,19

Tabela 4- Determinação dos efeitos principais do planejamento fatorial 2³.

Fatores	Efeitos
Maturação (1)	-1,24*
Cocção (2)	0,46*
Armazenamento (3)	-1,83*
1 e 2	-0,077
1 e 3	0,62*

2 e 3	-0,074
1,2 e 3	-0,46*

*Efeitos significativos

Embora estatisticamente significativa, o efeito da cocção sob pressão na formação de AR não atingiu as expectativas geradas pelos resultados obtidos por Skarabanja; Kreft (1998); Namratha; Asna; Prasad (2002); Ranhotra; Gelroth; Eisenbraun (1991), segundo os quais a alta pressão (1 Kgf/cm²) ao provocar uma ruptura gradual de algumas ligações glicosídicas do amido, origina produtos, capazes de formarem agregados mais complexos com a amilose retrogradada e/ou complexos amilose-lipídeo favorecendo , portanto este tipo de amido . O diferenciado comportamento registrado nesta pesquisa pode ter sido decorrente da quantidade de água utilizada , pois segundo Collona; Leloup; Buléon (1992) a produção de AR é máxima sob pressão em condições de baixa umidade (1:3,5 amido:água). Champ ; Faisant (1994) também enfatizaram o favorecimento da retrogradação a temperatura de estocagem a 4⁰C com hidratação superior a 70% .

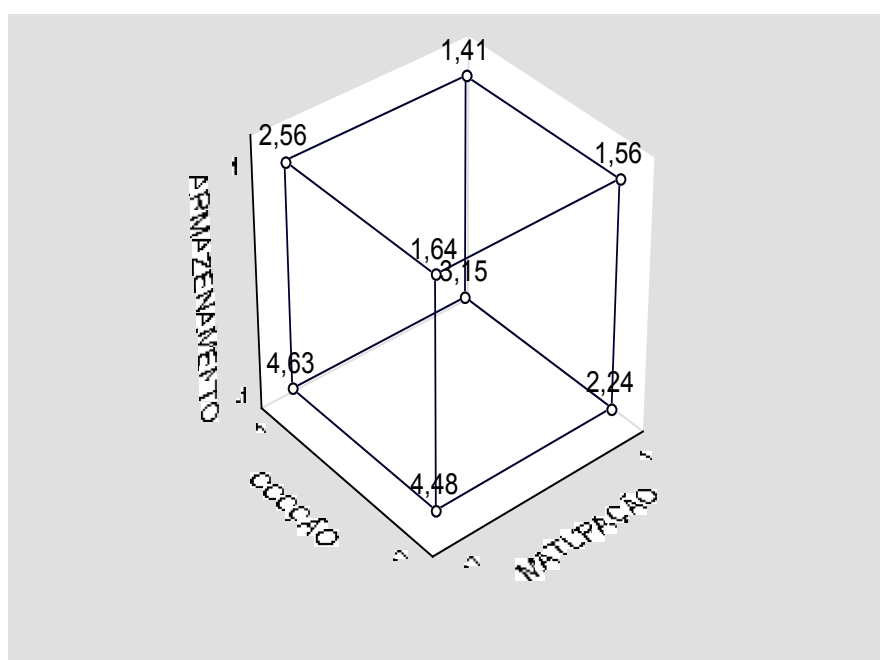


Figura 3- Média do teor de AR em feijão macassar obtido em função do tempo de armazenamento, tipo de cocção e grau de maturação do feijão.

Recentemente Namantha; Asna; Prasad (2002), ao avaliar a formação de AR nos alimentos armazenados a temperatura ambiente, confirmou o efeito do congelamento sobre a intensidade da retrogradação , explicando que, nesta

condição, a organização do grânulo de amido segue a teoria da cinética da formação de cristais, cuja nucleação ocorre em temperatura bem abaixo da fusão dos mesmos (150° C) e acima da transição vítrea -5 ° C, -10 ° C (ESCARPA , GONZALEZ 1997).

É necessário ressaltar, que mesmo sob congelamento os teores de AR, encontram-se relacionados à origem botânica do amido, como foram relatado por Menezes; Lajolo (2000) e Leite(1999) para o feijão cozido e congelado(*Phaseolus vulgaris*), cujos valores de AR foram superiores (4,0 a 6,5 g %) à maioria dos obtidos neste trabalho.

A formação de AR, segundo Goñi; Garcia-Alonso; Garcia (1995) também depende dos ciclos de aquecimento sob calor úmido, no que foi ratificado por Velasco; Rascón; Tovar (1997) que encontrou 7,6% de AR em feijão preto estocado e reaquecido.

De acordo com a literatura as leguminosas, quando processadas formam mais AR do que outros alimentos, devido ao elevado teor de amilose (ANNISON; TOPPING, 1994). Pomeranz (1992) e Hoebler *et al.* (1999) encontraram correlação positiva entre este glicano e a formação de AR em pães, ervilha e batatas. Fato também comprovado nesta pesquisa para o feijão seco que, por conter o triplo de amilose em relação ao verde (SALGADO., *et al* 2003) formou 13 a 43% a mais de AR .Outras explicações plausíveis para esta prevalência dizem respeito à prática culinária de hidratar os grãos antes da cocção (KUTOS; GOLOB; KAC, 2003; REHMAN; SALARIYA; ZAFAR, 2001) que concorre para o aumento do teor de AR.

No que tange ao grão verde, o elevado teor de açúcares (SALGADO *et al.*, 2003) pode ter evitado a retrogradação do amido devido a formação de pontes entre o açúcar e as cadeias de amido, estabilizando as regiões amorfas do grânulo (ANNISON; TOPPING, 1994).

A contribuição do tempo de armazenamento para a maior formação de AR, era esperada, face à estrutura ramificada da amilopectina, cujo processo de retrogradação por ser lento necessita de um maior tempo de armazenamento, conforme demonstrado na Figura 3, especialmente, para o feijão seco.

Trabalho anterior implementado por Leite (1999), sobre a formação de AR (4 a 6% base seca) em diferentes cultivares de feijões armazenados a -20°C durante 30 dias confirma esta tendência.

Conclusões

Os resultados obtidos permitem concluir que:

o tipo de cocção, o grau de maturação e o tempo de armazenamento , isoladamente e através das interações exerceram significativos efeitos na produção de AR;

o AR nos feijões secos, cozidos sem pressão e armazenado por 30 dias foi maior e comparável ao recomendado pela Comunidade Européia , face ao seu teor de amilose e hidratação prévia a cocção;

o processamento hidrotérmico alterou o aspecto morfológico original e o padrão de cristalinidade para o tipo B, considerado mais resistente, dos feijões com elevado teor de AR.

Referências bibliográficas

ANNISON, G., TOPPING, D. L. Nutritional role of resistant starch:chemical structure vs physiological function. **Annual Review Nutrition.** v.14, p.297-320, 1994.

CHAMP, M., FAISANT, N. Resistant starch. In: Van BEKKUM, H., ROPER, H., VORAGEN, F. **Carbohydrates as organic raw materials III.** Weinheim: VCH Publishers,1994.p.189-215.

COLONNA, P.; LELOUP, V.; BULÉON, A . Limiting factors of starch hydrolysis. **European Journal Clinical Nutrition.**v.46,pS17-S32,1992.

ESCARPA, A , GONZÁLEZ, M. C., Tecnología del almidón resistente. **Food Science and Technology International**. v.3, p.149-161, 1997.

FAISANT, N., PLANCHOT, V., KORLOWSKI, F., PACOURET, M. P., COLONNA, P., CHAMP, M. Resistant starch determination adapted to products containing high level of resistant starch. **Science des Aliments**. v.15, p.83-89, 1995.

FREITAS, M. C. J. Amido resistente: propriedades funcionais. **Nutrição Brasil**. v.1,p. 40-48,2002.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BULEÓN, A.; PEREZ, S. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **European Journal of Clinical Nutrition** .v.46,n.2,p.3-16.1992.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrates Polymers**. v.32, p.177-191, 1997.

GOÑI, I., GARCIA-ALONSO, A, GARCIA, D. Almidon resistant componente indigestible de la dieta alimentaria. **Alimentaria** . n.261, p.31-33, 1995.

HOEBLER, C.; KARINTHI, A.; CHIRON, H.; CHAMP, M.; BARRY, J. L. Bioavailability of starch in bread rich in amylose. Metabolic responses in healthy subjects and starch structure. **European journal Clinical Nutrition**. V.53,p.360-366,1999.

KUTOS, T.; GOLOB, T.; KAC, M.; PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chemistry**.v.80,p.231-235,2003.

LEITE, M. S. Caracterização do amido e formação de amido resistente em diferentes cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). São Paulo. Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 1999.67p. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo.

MENEZES, E. W. , LAJOLO, F. M. **Contenido em fibra dietética y almidón resistente em alimentos y productos Iberoamericanos.** *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.*São Paulo. 2000. 121p.

NAMRATHA, J.; ASNA, U.; PRASAD, N. N. Effect of storage on resistant starch content of processed ready-to-eat foods. *Food Chemistry.* v.79,p.395-400,2002.

NETO, B. B; SACARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos.** Editora da UNICAMP.1995.299p.

NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Químicos e Físicos para análise de alimentos.** 3 Edição. São Paulo, 1985.v.1, 533p.

OZÓRIO-DIAZ, P.; BELLO-PÉREZ, L. A.; AGAMA-ACEVEDO, E.; VARGAS-TORRES, A.; TOVAR, J.; PAREDES-LÓPEZ, O. In vitro digestibility and resistant starch content of some industrialized commercial beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry.*v.78,p.333-337,2002.

PLATEL, K.; SHURPALEKAR, K. S. Resistant starch content of Indian foods. *Plant foods for Human Nutrition.* v.45,p.91-95,1994.

POMERANZ, Y. Research and development regarding enzyme-resistant starch (RS) in the USA: a review. *European Journal of Clinical Nutrition.* v.46, Sppl 2, p.S63-S68, 1992.

RANHOTRA, G. S., GELROTH, J. A, EISENBRAUN, G. J. High-fiber white flour and its use in cookie products. *Cereal Chemistry.* v.68, n.4, p.432-434, 1991.

REHMAN, Z. U.; SALARIYA, A .M.; ZAFAR, S. I. Effect of processing on available carbohydrate content and starch digestibility of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry.*v.73,p.351-355,2001.

ROSIN, P. M. Formação de amido resistente em alimentos submetidos ao congelamento. Estudo *in vivo* e *in vitro*. São Paulo. Universidade de São Paulo. 1999. 60p. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo.

SAGUN, R.; ARCOT, J. Effect of domestic processing methods on the starch, nonstarch polysaccharides and *in vitro* starch and protein digestibility of three varieties of rice with varying levels of amylose. **Food Chemistry**. v.70, p.107-111, 2000.

SALGADO, S. M.; ANDRADE, S. A. C.; MACIEL, G. R.; GUERRA, N. B. Physical chemical characteristics of the granule of the starch of the macassar bean (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Food Chemistry** [em prelo]. 2003.

SKRABANJA, V.; KREFT, I. Resistant starch formation following autoclaving of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) groats. An *in vitro* study. **Journal Agricultural Food Chemistry**. V.46, p.2020-2023, 1998.

TEXEIRA, M. A . V. Amido resistente: estudo da estrutura, ocorrência, e propriedades nutricionais em amido de milho e banana. São Paulo. Universidade Estadual de Campinas. 1998. 93p. Tese de Mestrado, Universidade estadual de Campinas.

TOVAR, J. Bioavailability of carbohydrates in legumes: Digestible and indigestible fractions. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v.44, n.4, p.36-40, 1994.

VELASCO, Z. I., RASCÓN, A, TOVAR, J. Enzymic availability of starch in cooked black beans (*Phaseolus vulgaris* L) and Cowpeas (*Vigna sp.*) **Journal Agricultural Food Chemistry**. v.45, p.1548-1551, 1997.

VENNA, A, UROOJ, PUTTARAJ, S. Effect of processing on the composition of dietary fibre and starch in some legumes. **Die Nahrung**. v.39, n.2, p.132-138, 1995.

Experimento 3

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS *IN VITRO* DO AMIDO DO FEIJÃO MACASSAR (*Vigna Ungiculata* L.Walp).

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar as respostas fisiológicas em amido de feijão macassar verde e seco, processados hidrotermicamente sem pressão e congelados por 30 dias. Para tanto o amido isolado foi hidrolisado por técnicas enzimáticas para estimar o índice glicêmico (IG) e fermentado sob sistema *in vitro* durante 12 horas para quantificação dos ácido graxos de cadeia curta (AGCC) por cromatografia gasosa. Os resultados demonstraram que o amido resistente presente no amido do feijão seco, embora tenha contribuído para menor crescimento de bactérias lácteas mostram uma maior eficácia na síntese de AGCC, especialmente do ácido butírico. Quanto à hidrólise do amido, observou-se que o processamento favoreceu, significativamente, o aproveitamento do amido e que a fração resistente não contribuiu para reduzir o índice glicêmico, restringindo a sua influência ao metabolismo intestinal.

Palavras-chave: amido resistente; fermentação; índice glicêmico

Introdução

Nos últimos anos, os pesquisadores demonstraram a existência de uma pequena fração de amido que diferentemente do restante não é hidrolisada, tampouco absorvida no intestino delgado, motivo pelo qual foi cognominada de amido resistente (AR). Esta fração é, no entanto, fermentada no intestino grosso pela microbiota colônica, originando ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), cuja ação fisiológica tem positiva repercussão na saúde humana (BEDNAR *et al*, 2000; CAMBRODÓN E MARTÍN-CARRÓN 2001).

Diversos pesquisadores (TOVAR,1994 GOÑI; GARCIA-ALONSO; SAURA-CALIXTO 1997) destacam as leguminosas como um dos alimentos que contribui para o percentual de AR presente na alimentação da população do Ocidente.

O simples conhecimento da composição química e das características físicas dos grânulos de amido não é suficiente, no entanto, para explicar as respostas metabólicas por eles produzidas no organismo humano.

As respostas glicêmicas, por exemplo, decorrentes da hidrólise e absorção do amido ao longo do intestino delgado variam dentre outros fatores da relação amilose/amilopectina, do padrão de cristalinidade e também da sua origem botânica (FREI e BECKER, 2003).

No entanto, o conhecimento de suas propriedades funcionais é ainda incipiente provavelmente devido às dificuldades e a complexidade dos experimentos *in vivo* para avaliá-las. Diante destes complicadores os sistemas *in vitro*, não obstante as conhecidas limitações para extrapolar os resultados para as condições reais, vêm sendo testados e aprovados em países da Comunidade Européia, por meio de estudos interlaboratoriais, para execução de ensaios que têm gerado respostas confiáveis sobre os efeitos destes e de outros resíduos indigeríveis sobre o homem (CAMBRODÓN, MARTÍN-CARRÓN, 2001).

No caso de cultivares de uso local, como o feijão macassar bastante consumido no Nordeste, desconhece-se o teor de AR. Esta constatação associada ao exposto acima justificou a realização desta pesquisa com o objetivo de avaliar *in vitro* as respostas fisiológicas do amido da referida leguminosa em diferentes estádios de maturação, tendo em vista sua aplicação no controle da glicemia dos diabéticos e o papel relevante do AR sobre o epitélio colônico.

Material e Métodos

Material

Amostra - O amido do feijão macassar (*Vigna unguiculata* L.Walp) verde e seco cozidos sem pressão, contendo 3,15g% e 4,63g% de amido resistente, respectivamente e padrão de cristalinidade tipo B (SALGADO *et al.*, 2003).

Inóculo - Fezes de crianças saudáveis entre 4-5 meses de idade, alimentadas exclusivamente, com leite materno.

Métodos

Preparação do Inóculo

As fezes foram suspensas no meio de fermentação na proporção de 10ml /g de fezes e incubadas a 37°C, sob anaerobiose durante 12 horas.

Meio de fermentação

Elaborado segundo Barry *et al*(1995), na proporção de 5 ml da solução B em 1 litro da solução A, conforme especificado a seguir:

Tabela 1- Concentração dos reagentes para o meio de fermentação

<i>Reagentes</i>	Concentração g/l
<i>Solução A</i>	
Bicarbonato de Sódio (NaHCO_3)	9,24
Fosfato de Sódio Bibásico (Na_2HPO_4)	7,12
Cloreto de sódio (NaCl)	0,47
Cloreto de Magnésio (MgCl_2)	0,12
Cloreto de Potássio (KCl)	0,45
Sulfato de Sódio Anidro (Na_2SO_4)	0,10
Cloreto de Cálcio (CaCl_2)	0,06
Uréia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$)	0,40
<i>Solução B</i>	
Sulfato de Ferro II (FeSO_4)	3,68
Sulfato de Manganês (MnSO_4)	1,41
Sulfato de Zinco (ZnSO_4)	0,44
Cloreto de Cobalto (CoCl_2)	0,12
Sulfato de Cobre (CuSO_4)	0,10
Molibdato de Amônio ((NH_4) $_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$)	0,02

Procedimento da Fermentação *in vitro*

A fermentação foi procedida segundo a metodologia proposta por Cambrodón e Martín-Carrón (2001), envolvendo as seguintes etapas:

Triplícatas das amostras, pesando 100mg cada foram colocadas em tubos de ensaio com 8 ml do meio de fermentação ; incubadas a 37°C em estufa em Jarra Gaspak com Sistema Anaeróbico, durante toda a noite.

Transcorrido este tempo, foi adicionado 2ml do inóculo em cada tubo de ensaio e a Jarra Gaspak, colocada em estufa a 37°C sobre agitador mecânico, permanecendo nestas condições durante todo o processo de fermentação (2h, 4h, 6h, 8h, 10h e 12h). Em cada um destes intervalos de tempo foi tomada uma alíquota de 1ml do líquido metabólico para determinação da contagem total de bactérias lácteas utilizando caldo MRS (ARUNACHALAM,1999) como diluente e em seguida inoculando em placa petrifilm AC (Aerobic Plate Count), AOAC (2000).

Para análise de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) foi adicionado 2,5ml de NaOH 1M para interromper o processo de fermentação e em seguida procedida a centrifugação a 3000 rpm durante 10 minutos. Alíquotas de 2,5ml do sobrenadante foram imediatamente congeladas em tubos com vedação de borracha até posterior análise.

Determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) no líquido metabólico.

Após descongelamento à temperatura ambiente foi adicionada com 5 ml de hexano e a seguir analisado quanto ao teor de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em cromatógrafo à gás (CG Master), equipado com um detetor de ionização de chama; coluna capilar 15 m x 0,53 mm² com enchimento de polietilenoglicol (Carbowa x 20 M) e nitrogênio como gás transportador. A temperatura de trabalho foi de 220°C para o forno e 250°C para o injetor e detetor.

Cinética da hidrólise do amido

Conduzida segundo o protocolo desenvolvido por Goñi; Garcia-Alonso; Saura-Calixto (1997), com modificações sugeridas por Rosin (1999), conforme as etapas descritas abaixo:

Triplicata de amostras pesando 25mg foram dissolvidas em 10ml de tampão KCl-HCl (pH 1,5) e adicionados 0,1ml de pepsina, seguido de agitação manual por 1hora a 40°C. Em seguida, adicionou-se 15ml de tampão tris-maleato

(pH 6,9) e 1ml da solução de α -amilase e incubou-se a 37°C sob agitação manual por 2 horas.

Durante 3 horas a cada 30 minutos, alíquotas de 1ml de cada tubo foram retiradas submetidas a 100°C por 15 minutos para inativar a α -amilase.

Após resfriamento foi adicionado 3ml do tampão acetato (pH 4,75) e 80 microlitros de amiloglucosidade, incubados a 60°C durante 45 minutos.

Ao final a concentração de glicose foi determinada enzimaticamente através do método oxidase-peroxidase .

Para calcular o índice glicêmico (IG) determinou-se a área da curva de hidrólise por meio da equação:

$$AUC = C_{\infty} (T_f - T_o) - (C_{\infty}/K) \cdot [1 - \exp [-K (T_f - T_o)] , \text{ onde:}$$

C_{∞} - percentual de hidrólise do amido após 180 minutos

T_f - tempo final (180 minutos)

T_o - tempo inicial (0 minuto)

K - constante cinética

Em seguida, o índice de hidrólise (HI) foi obtido com base na relação entre a área da curva de hidrólise do alimento em estudo e a área da curva do alimento padrão (pão branco). Goñi; Garcia-Alonso; Saura-Calixto1997, estimaram o índice glicêmico (IG), usando o modelo: $IG = 39,71 + (0,549 \times HI)$

Análise Estatística

Para avaliar as diferenças dos Índices Glicêmicos empregou-se o teste t pareado, com nível de significância $p < 0,05$ através do Programa Statistica for Windows (Stat Soft, Inc., 1996).

Resultados e Discussão

Fermentação *in vitro*

A necessidade de desenvolver pesquisas utilizando substratos fermentecíveis isolados foi demonstrada por Englyst; Hudson (1996) Phillips *et al.*, (1995); Bourquin; Titgemeyer; Fahey,(1993), Bednar *et al.*, 2000, Mcburney *et al.*, (1985), uma vez que a maioria dos experimentos analisam o alimento como um todo, englobando os polissacarídeos não amido (NSP) com comprovada propriedade fermentativa . Por esta razão optou-se pela utilização do amido isolado de feijão nas condições anteriormente especificadas, como substrato de fermentação.

Os resultados apresentados na Figura 1 demonstram uma ligeira superioridade do amido do feijão verde no que diz respeito ao crescimento bacteriano, cujo máximo de $6,6 \times 10^9$ UFC/ml do líquido metabólico, foi alcançado após oito horas de fermentação. Este nível populacional é superior ao considerado ideal para colonização dos microrganismos no trato intestinal, impedindo a proliferação de determinadas espécies patogênicas dos gêneros *Clostridium*, *Eubactérias* e *Enterobactéria* (NICOLI; VIEIRA, 2000; CHARTERIS *et al.*, 1998; HOPKINS; CUMMINGS; MACFARLANE, 1998).

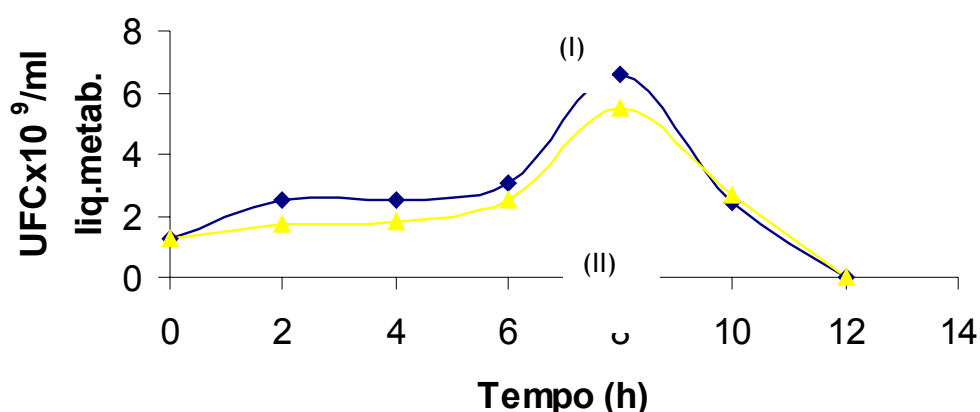


Figura 1. Curva de Crescimento de Bactérias Lácteas durante a fermentação *in vitro* do amido do feijão macassar verde (I) e seco (I).

Os AGCC produzidos pelas amostras em estudo, foram inferiores aos obtidos por Bednar *et al.*, 2000 em feijão preto e lentilha 7,24 - 8,46mmol/g do substrato, respectivamente, embora ambos apresentassem 10% de AR do total de amido. Produção mais expressiva com outros substratos foram relatados por Topping e Clifton 2001, 62mmol% após 10 horas de fermentação da pectina; Bourquin; Titgemeyer; Fahey, 1993 em hortaliças (brócolis, cenoura, aipo, alface, couve-flor, pepino) 6,5mmol AGCC/g de substrato. Em contraposição foram superiores aos valores apresentados por Cambrodón e Martin-Carrón 2001, para a aveia (0,37mmol/g do substrato) e do composto farmacêutico psyllium (1,83mmol/g substrato) constituídos por 6,30% e 20% de fibra alimentar solúvel, respectivamente (MENDEZ *et al.*, 1995; MARQUÉZ,2002).

Com relação a produção de ácidos (Tabela 2) as diferenças encontradas entre os substratos são possivelmente decorrentes das distintas organizações dos grânulos do amido que dificultam o acesso às enzimas microbianas ou do baixo teor dos mesmos. Segundo a equação de Michaelis-Menten pequenas concentrações de substratos são insuficientes para saturar o sítio ativo das moléculas das enzimas lactato desidrogenase, fosfotransbutirase, fosfotranscetilase acarretando uma redução da sua atividade (CONN 1980;PRYDE *et al.*,2002; GOÑI *et al* 2000;ROBERTSON *et al.*, 2001).

Tabela 2. Produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) durante a fermentação do amido do feijão macassar verde e seco.

Substrato	Total de AGCC (mmol/g substrato)	Ácido acético (%)	Ácido butírico (%)	Ácido propiónico (%)
Amido do feijão	1,06	43,39	33,96	22,65

feijão				
verde				
Amido do	2,29	30,13	65,93	3,94
feijão seco				

No que diz respeito ao tipo de ácido formado, embora a literatura refira o ácido butírico como o principal produto da fermentação do AR, apenas o amido proveniente do feijão seco apresentou esta característica. Este ácido por ser praticamente oxidado na mucosa do cólon, estimula a proliferação das células do epitélio intestinal. (PRYDE *et al.*, 2002). Esta propriedade explica resultados obtidos em experimentos *in vivo* e *in vitro* quanto a relação entre a ingestão de amido resistente e a menor incidência de câncer colorretal. Em estudos *in vivo*, entretanto, têm demonstrado que o processo fermentativo devido à concentração elevada de bactérias ocorre preferencialmente no cólon proximal, reduzindo, portanto a oxidação do butírico na parte distal do cólon, onde ocorrem os processos neoplásicos (MARQUÉZ, 2002).

A produção dos ácidos também é influenciada pelo tipo de inóculo utilizado: enquanto os gêneros *Clostridium*, *Eubactérias* e *Fusobactérias* sintetizam principalmente o ácido butírico, os bífidos segundo Arunachalam, 1999 os quais constituem 95% do inóculo empregado neste trabalho, produzem outros ácidos, o *B. breve*, por exemplo, metaboliza a glicose através de uma via específica a frutose 6- fosfato, formando acetato e lactato, enquanto a espécie *B. infantis* utiliza a glicose apenas para favorecer o crescimento bacteriano (PRYDE *et al.*, 2002, CAMBRODÓN e MÁRTIN-CARRÓN 2001, ROBERTSON *et al.*, 2001, GONI *et al.*, 2000, SILVI *et al.*, 1999). Estes gêneros, apesar de apresentarem uma maior afinidade pelos frutooligossacarídeos (FOS), presentes em alcachofra, cebola, aspargo e chicória, produzindo principalmente acetato, são capazes também de hidrolisar o amido (HOPKINS; CUMMINGS; MACFARLANE 1998, VELASQUEZ *et al.*, 2000, WANG *et al.*, 1999 e GIBSON e WANG 1994; PERRIN *et al.*, 2001; FERREIRA 2003).

O ácido acético, encontrado em maior percentual durante a fermentação do amido do feijão verde (Tabela 2), é considerado por Cambrodón e Martín-Carrón 2001 um substrato lipogênico e cetogênico.

O ácido propiônico sintetizado em menores quantidades (Tabela 2) parece inibir a atividade da enzima hidroximetilglutaril-coA redutase relacionada com a síntese de colesterol nos hepatócitos (MARQUEZ, 2002; CAMBRODÓN-MARTÍN-CARRÓN 2001; FERREIRA 2003). Embora muitos estudos experimentais *in vivo* e *in vitro* demonstrem este efeito, o mecanismo molecular que regula a atividade desta enzima ainda não está totalmente esclarecido (WANMACHER; DIAS, 1988; MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR 1994; CAMPBELL 2000).

Nutricionalmente, a ingestão de constituintes prebióticos como o AR, presentes nos feijões, constitui uma boa alternativa para a saúde, visto que, as bífidobactérias são difíceis de serem carregadas pelos alimentos probióticos, por não resistirem ao ambiente ácido e aeróbico (FERREIRA, 2003; MARQUEZ, 2002 ; TOPPING E CLIFTON 2001).

Cinética da Hidrólise do Amido

Na Figura 2 observa-se que apenas 10% de amido do feijão verde *in natura* foi hidrolisado aos 30 minutos, enquanto o amido do feijão seco na mesma condição alcançou 41,02%. Esta diferença pode ser atribuída ao tipo de cristal C encontrado no amido do feijão verde (SALGADO *et al.*, 2003) e que segundo Gallant *et al.*, 1992 é mais resistente à α -amilase que o tipo A do feijão seco. Valores semelhantes foram relatados por Tovar, 1994, estudando a digestibilidade *in vitro* do amido do feijão preto (50 g%) após 60 minutos de hidrólise .

As duas amostras apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), entre os índices, demonstrando que o processo de gelatinização torna o amido mais susceptível a digestão enzimática (AMADO, 1994).

Teoricamente, apesar de pequenas as diferenças entre os teores de AR, os feijões verdes deveriam propiciar IG superior ao feijão seco (Tabela 3). Os resultados obtidos, no entanto, não comprovaram a existência de correlação

entre estes parâmetros. O reduzido percentual de hidrólise do amido do feijão verde justifica o maior crescimento bacteriano durante a fermentação e poderá explicar o menor índice glicêmico .

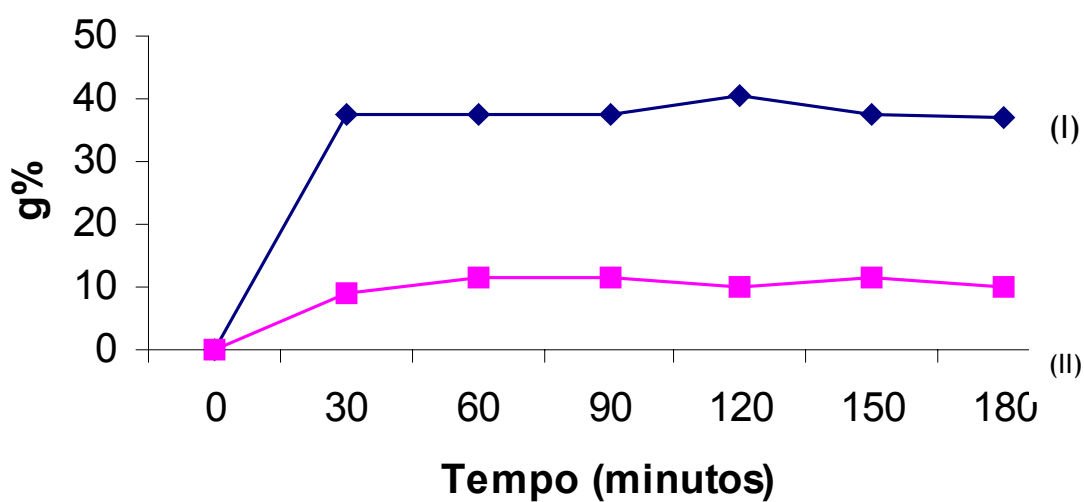


Figura 2. Teores de amido hidrolisado (g%) *in vitro* do feijão verde processado (I) e do feijão verde cru (II).

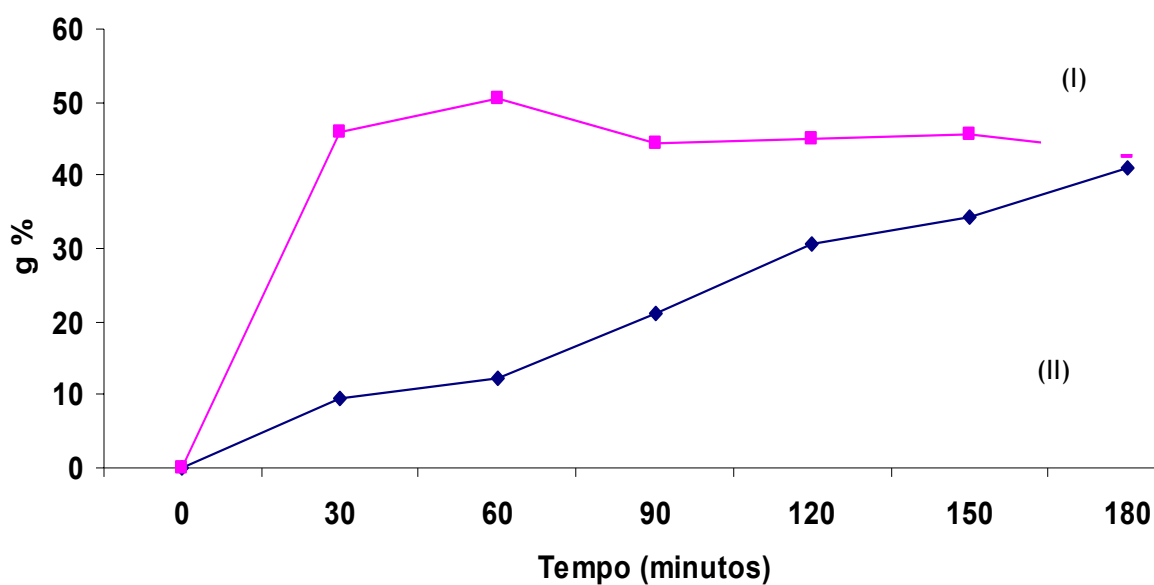


Figura 3. Teores de amido hidrolisado (g%) *in vitro* do feijão seco processado (I) e do feijão seco cru (II).

Tabela 3. Índice glicêmico (IG) do amido do feijão macassar verde e seco.

Amido do feijão macassar	IG
verde <i>in natura</i>	51,93±0,18
verde processado	83,23±3,8
seco <i>in natura</i>	55,38±0,36
seco processado	91,34±1,98

Nos amidos isolados dos grãos processados, os IG foram superiores ao preconizado pela literatura para o tratamento nutricional de diabéticos e obesos (LEMOS, 1997 e TRUSWELL, 1992). Esses valores, no entanto, não podem ser extrapolados, uma vez que na dieta os feijões são consumidos na sua forma integral que contem elevado teor de fibra solúvel que pode favorecer este efeito (SALGADO *et al.*, 2003; TORRES, 2001; CARUSO e MENEZES 2000).

Por outro lado, Rosin, 1999, detectou IG = 67 para feijões processados em condições semelhantes ao desta pesquisa, porém com 6,99 g% de AR, provavelmente devido ao maior teor de AR encapsulado na parede celular (TOVAR, 1994) . Goñi e Valentín-Gamazo, 2003 encontraram IG = 58 em massa de espaguete com farinha de ervilha (3,78 g% de AR) em relação à massa de espaguete elaborada tradicionalmente (IG=73 e AR = 2,92 g%), o que foi relacionado ao amido resistente, oligossacarídeos e polifenóis presentes nas leguminosas. Estes estudos, segundo os próprios autores, necessitam de mais

comprovações com vistas a identificar o verdadeiro constituinte do alimento responsável por este efeito.

Do exposto, constata-se que o conhecimento das propriedades funcionais do amido é imprescindível para os profissionais da área de nutrição na orientação e elaboração de dietas, desde que sejam consideradas as variáveis envolvidas na metodologia empregada, bem como os diversos fatores relacionados à digestão e à absorção dos carboidratos.

Conclusões

Os resultados obtidos nas condições apresentados permitem concluir que :

o amido do feijão macassar, independente do estágio de maturação, apresenta propriedades prebióticas;

os índices glicêmicos produzidos pelos amidos isolados dos feijões verde e seco processados não são recomendados para o tratamento dietético de grupos populacionais específicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMADO, T.C.F. Resposta glicêmica dos indivíduos normais a alimentos isolados e em refeições mistas. Recife. Universidade Federal de Pernambuco, 1994. 92p. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist Internacional. 17 Edição.v.1. Revisão 1. Capítulo 17.p.173. 2000.

ARUNACHALAM, K.D. Role of Bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. *Nutrition Research*.v.19, n.10,p.1559-1597, 1999.

BARRY, J.L.; HOEBLER, C.; MACFARLANE, G.T.; MACFARLANE, S.; MATHERS, J.C.; REED, K. A .; MORTENSEN, P.B.; NORDGAARD, I.; ROWLAND, I.R.; RUMNEY, C.J. Estimation of the fermentability of dietary fiber in vitro: a European Interlaboratory study. *British Journal of Nutrition*.v.74, p.303-322, 1995.

BEDNAR, G.E.; PATIL, A .R.; MURRAY, S.M.; GRIESHOP, C.M.; MERCHEN, N.R.; FAHEY, C.G. Starch and fiber fractions in selected food and feed ingredients affect their small intestinal digestibility and fermentability in vitro in a canine model. *Nutrient Metabolism*.p.276-286, 2000.

BOURQUIN, L.D.; TITGEMEYER, E.C.; FAHEY, C.G. Vegetable fiber fermentation by human fecal bacteria: cell wall polysaccharide disappearance and short-chain

fatty acid production during in vitro fermentation and water-holding capacity of unfermented residues. *Nutrient Metabolism*.p.860-869, 1993.

CAMBRODÓN, I.G.; MARTIN-CARRÓN,N. Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. In: LAJOLO, F.M.; SAURA-CALIXTO,F.; PENNA, E.W.; MENEZES, E.W. *Fibra dietética en Iberoamérica tecnología y salud- obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos*. São Paulo. Varela.2001.p.311-317.

CHARTERIS, W.P.; KELLY,P.M.; MORELLI,L.; COLLINS, J.K. Development and application na in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium species* in the upper human gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*. v.84, p.759-768, 1998.

CONN, E.E.; STUMP, P.K. *Introdução a Bioquímica*. São Paulo. Editora Edgard Blucher. 1980.512p.

ENGLYST, H.N.; HUDSON, G.J. The classification and measurement of dietary carboydrates. *Food Chemistry*. v.57, n.1, p.15-21, 1996.

FERREIRA, C.L.F. *Prebióticos e Probióticos: Atualização e Prospecção*. Viçosa. Suprema Gráfica e Editora. 2003. 203p.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BULEÓN, A .; PEREZ, S. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. *European Journal of Clinical Nutrition*. v.46, n.2, p.3-16, 1992.

GOÑI, I.; GARCIA-ALONSO, A .; MARTIN-CARRÓN, N.; SAURA-CALIXTO, F. In vitro fermentation of differents types of amylase resistant corn starches. *European Food Research Technology*. v.211, p.316-321, 2000.

GOÑI, I.; GARCIA-ALONSO, A .; SAURA-CALIXTO,F. A starch hydrolisis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*. v.17, n.3, p.427-437, 1997.

GOÑI, I.; VALENTÍN-GAMANZO, C. Chickpea flour ingredient slows glycemc response to pasta in healthy volunteers. **Food Chemistry**.v.81, p.511-515, 2003.

HOPKINS, M.J.; CUMMINGS, J.H.; MACFARLANE, G.T. Inter-species differences in maximum specific growth rates and cell yields of bifidobacteria cultured on oligosaccharides and other simple carbohydrate sources. **Journal of Applied Microbiology**. v.85, p.381-386, 1998.

LEMONS, M.C.C. Resposta glicêmica e insulinêmica a frutas regionais em diabéticos tipo 2. Recife. Universidade Federal de Pernambuco, 1997. 85p. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco.

MARQUÉZ, L.R. *A fibra terapêutica*. São Paulo. GRF Propaganda Ltda. 2002. 175p.

McBURNEY, M.I.; HORVATH, P.J.; JERACI, J.L.; VAN SOEST, P.J. effect of in vitro fermentation using faecal inoculum on the water-holding capacity of dietary fiber. **British Journal of Nutrition**.v.53, p.17-24, 1985.

MENDEZ, M.H.M.; DERIVI, S.C.N.; RODRIGUES, M.C.R.; FERNENDES, M.L. *Tabela de Composição de Alimentos*. Nitéroí. Editora da UFF. 1995. 41p.

NICOLI, J.R.; VIEIRA, L.Q. Moduladores do Ecosystema Digestivo. **Ciência Hoje**. v.28, n.163, p.34-38, 2000.

PHILLIPS, J.; MUIR, J.G.; BIRKETT, A .; LU, X.Z.; JONES, G.P.; ODEA, K. YOUNG, G.P. Effect of resistant starch on fecal bulk and fermentation. **American Journal Clinical Nutrition**.v.62, p.131-130, 1995.

PRYDE, S.E.; DUNCAN, S.H.; HOLD, G.L.; STEWART, C.S.; FLINT, H.J. The microbiology of butyrate formation in the humam colon. **FEMS Microbiology letters**.v.217, p.133-139, 2002.

ROBERTSON, J. A .; RYDEN, P.; LOUSE, B.L.; READING, S.; GIBSON, G.; RING, S.G. Structural properties of diet-derived polysaccharides and their influence on butyrate production during fermentation. *Lebensm-Wiss Techonology*. v.34, p.567-573, 2001.

ROSIN, P.M. **Formação de amido resistente em alimentos submetidos ao congelamento. Estudo in vivo e in vitro.** São Paulo. Universidade de São Paulo, 1999.60p. Tese de Mestrado, Unversidade de São Paulo.

SALGADO, S.M.; ANDRADE, S. A .C.; MACIEL, G. R.; GUERRA, N. B. Physical chemical characteristics of the granule of the starch of the macassar bean (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Food Chemistry* [em prelo].2003.

SALGADO, S.M.; BIBIANO, A. M.F.ANDRADE, S. A .C.; MACIEL, G. R.; GUERRA, N. B. Modificação da concentração de amido resistente em feojão macassar (*Vigna unguiculata* L.Walp) por tratamento térmico.*Ciência e tecnologia de Alimentos* [em prelo].2003.

SILVI,S.; RUMMEY, C.J.; CRESCI, A .; ROWLAND, I.R. Resistant starch modifies gut microflora and microbial metabolism in humam flora associated rats inoculated with faeces from Italian and UK donors. *Journal of Applied Microbiology*. v.86, p.521-530, 1999.

TOPPING, D.L.; CLIFTON, P.M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*. v.81, n.3, p.1031-1064, 2001.

TORRES, G. F. **Efeito do processamento térmico sobre o teor de fibra alimentar em hortaliças.** Recife, 2001. 57p. *Tese. Mestrado.* Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Nutrição.

TOVAR, J. Bioavailability of carbohydrates in legumes: Digestible and indigestible fractions. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. v.44, n.4, p.36-40, 1994.

TRUSWELL, A . S. Glycaemic index in foods. *European Journal of Clinical Nutrition*.v.46, suppl.2, p.S91-S101, 1992.

WANMACHER, C.M.D.; DIAS, R.D. *Bioquímica Fundamental*.6 Edição. Rio Grande do Sul. 1988. 556p.

Conclusões Gerais

As características dos grânulos de amido com exceção dos aspectos morfológicos são dependentes do estágio de maturação dos feijões.

O tipo de processo hidrotérmico empregados na cocção bem como o tempo e a temperatura de armazenamento influem no percentual de amido resistente.

O amido resistente dos feijões processados apresenta propriedades prebióticas que podem gerar implicações positivas para a microbiota do cólon.

Embora o teor de amido resistente presente nos feijões processados não tenham gerado reduzidas respostas glicêmicas, o grão verde deve ser recomendado no planejamento alimentar dos diabéticos e obesos, face ao considerável