

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

**LILIAN SEIKO KATO**

**Caracterização química de feijão para produção  
de material de referência certificado**

**Piracicaba**

**2014**

**LILIAN SEIKO KATO**

**Caracterização química de feijão para produção  
de material de referência certificado**

**Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011**

**Dissertação apresentada ao Centro de  
Energia Nuclear na Agricultura da  
Universidade de São Paulo para obtenção  
do título de Mestre em Ciências**

**Área de Concentração: Química na  
Agricultura e no Ambiente**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisabete A. De  
Nadai Fernandes**

**Piracicaba**

**2014**

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

**Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP**

Kato, Lilian Seiko

Caracterização química de feijão para produção de material de referência certificado / Lilian Seiko Kato; orientadora Elisabete A. De Nadai Fernandes. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2014.

87 f.: il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Avaliação nutricional 2. Composição química 3. Elementos químicos 4. Metrologia 5. Qualidade dos alimentos I. Título

CDU 543.5 : (633.35-006.063)

Aos meus pais, Rose e Júlio,  
e ao meu irmão Rodolfo

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

- A Deus, pela oportunidade
- À Universidade de São Paulo – USP
- Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA
- Ao Laboratório de Radioisótopos – LRi, pelo suporte técnico-científico
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo auxílio concedido
- À Profa. Dra. Elisabete A. De Nadai Fernandes, pela orientação e incentivo
- Ao Dr. Márcio Arruda Bacchi, pelas correções, ensinamentos e incentivo
- Ao Prof. Dr. Gabriel Adrián Sarriés e Andrés Enrique Lai Reyes, da ESALQ/USP, pelo auxílio nas análises estatísticas
- Aos técnicos de laboratório Adriana de Angelis Fogaça e Cláudio Luís Gonzaga, pelo apoio, disposição para ajuda e amizade
- Às amigas Gabriela de Matuoka e Chiocchetti, Maria Isabel Vega Martinez e Mariana Damiamas Baccarin pela ajuda nas análises e amizade
- À amiga Silvana Regina Vicino Sarriés, pela amizade e incentivo
- Aos amigos Simone Cofani dos Santos e Luís Gustavo Cofani dos Santos, pela ajuda, carinho e amizade
- Aos amigos e colegas de laboratório André Luis Lima de Araújo, Cahue Sbrana, Camila Elias, Felipe Biguzzi, Isabel Schiavinato, Jéssica Caroline Gonzaga, Mateus Eugenio Boscaro, Natália Protti, Nathalia Luccas e Paula Sancinetti Modolo, pelos momentos de convivência e amizade
- A toda minha família, pelo incentivo e apoio
- A todos os funcionários do Serviço de Pós-Graduação do CENA, pela disposição e constante ajuda
- À bibliotecária Sr<sup>a</sup>. Marília R. Garcia Henyei, pelo auxílio na revisão
- A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho

“Vencer a si próprio é a maior das vitórias”.

***Platão***

## RESUMO

KATO, L. S. **Caracterização química de feijão para produção de material de referência certificado**. 2014. 87 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

Alimento base da dieta dos brasileiros, o feijão é a leguminosa de maior importância para consumo direto no mundo. Inúmeras pesquisas em relação às propriedades nutricionais do feijão comum e também do feijão de corda têm sido realizadas, no intuito de avaliar sua composição centesimal, mineral e fatores antinutricionais. Em relação à qualidade das determinações analíticas, sabe-se que os materiais de referência certificados (CRMs) estão se tornando cada vez mais necessários em procedimentos de medição. Contudo, ainda há escassez de CRMs para atender às demandas em todos os setores produtivos, especialmente na agricultura. O domínio da tecnologia para sua produção representa, portanto, um avanço estratégico, por colocar o país em condições de fornecer materiais específicos às próprias necessidades. Dessa forma, este trabalho envolveu a primeira etapa para elaboração de um material de referência certificado de feijão, com a caracterização química e nutricional dos principais tipos comerciais disponíveis no mercado, das espécies *Phaseolus vulgaris* L. (feijão comum) e *Vigna unguiculata* (feijão caupi), buscando atender demandas metrológicas específicas da pesquisa e da indústria alimentícia. Foram coletadas 55 amostras de feijão de dez tipos comerciais diferentes no varejo da cidade de Piracicaba. Determinaram-se os elementos químicos Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, Mo, Na, Rb, Sc e Zn utilizando análise por ativação neutrônica, a composição centesimal empregando metodologia preconizada pela AOAC e o fator antinutricional ácido fítico segundo o método descrito por Grynspan e Cheryan (1989). Os resultados mostraram diferença significativa entre os tipos comerciais de feijão ( $p < 0,05$ ) para Br, Cs, Co, K, Mo, Na e Zn, e também para os teores de proteínas, cinzas, umidade e ácido fítico. O feijão fradinho, da espécie *Vigna unguiculata*, apresentou diferenças consideráveis em relação ao feijão comum da espécie *Phaseolus vulgaris* L., tendo a maior concentração média de Na e as menores concentrações médias de Ca, Co, K e cinzas ( $p < 0,05$ ). O feijão preto apresentou as maiores concentrações médias de Ca, Co, Fe, proteínas e ácido fítico, enquanto o feijão cavalo as maiores concentrações médias de K, Mo e Zn ( $p < 0,05$ ). O feijão carioca apresentou valores médios próximos à média global para todos os parâmetros avaliados, exceto para ácido fítico. Alta variabilidade foi identificada para Br, Cs, Mo, Na, Rb e Sc dentro de um mesmo tipo comercial, enquanto baixa variabilidade foi observada para K, Zn, cinzas e proteínas. O conjunto de dados resultantes da caracterização química das 55 amostras de feijão mostra que os tipos comerciais carioca, preto e fradinho são os mais indicados para produção de material de referência certificado. Considerando o critério de comutatividade, o feijão carioca pode ser utilizado para produzir um material de referência que represente todos os tipos comerciais estudados.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.. *Vigna unguiculata*. Análise por ativação neutrônica. Nutrientes. Antinutricionais.

## ABSTRACT

KATO, L. S. **Chemical characterization of beans for production of certified reference material**. 2014. 87 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

Basic food of the Brazilian diet, beans are the most important leguminous for direct consumption in the world. Numerous researches on the nutritional properties of common bean and string bean have been performed in order to assess their centesimal and mineral composition as well the antinutritional factors. Regarding the quality of the analytical determinations, it is known that the certified reference materials (CRMs) are becoming increasingly necessary in measurement procedures. However, there is still lack of CRMs to meet the demands from all productive sectors, especially agriculture. Mastering the technology for their production therefore represents a strategic step forward, to put the country in a position to provide specific materials to own needs. Thus, this work involved the first step in developing a bean certified reference material, with chemical and nutritional characterization of the main commercial types available in the market, from the species *Phaseolus vulgaris* L. (common bean) and *Vigna unguiculata* (cowpea), meeting the specific metrological demand of research and food industry. In the retail market of the city of Piracicaba, 55 bean samples from ten different commercial types were collected. The chemical elements Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, Mo, Na, Rb, Sc and Zn were determined by neutron activation analysis, the proximate composition using methodology recommended by the AOAC and the anti-nutritional factor phytic acid, according to the method described by Grynspan and Cheryan (1989). The results showed significant differences between commercial bean types ( $p < 0.05$ ) for Br, Cs, Co, K, Mo, Na and Zn, and also for protein, ash, moisture and phytic acid. The black-eyed pea from *Vigna unguiculata* species showed considerable differences from the common bean *Phaseolus vulgaris* L. species, having the highest average concentration of Na and the lowest average concentrations of Ca, Co, K and ash ( $p < 0.05$ ). The black bean had the highest average concentrations of Ca, Co, Fe, proteins and phytic acid, while horse bean the highest average concentrations of K, Mo and Zn ( $p < 0.05$ ). The common bean showed mean values close to the global average for all parameters, except for the phytic acid. High variability has been identified for Br, Cs, Mo, Na, Rb and Sc within a commercial type, while low variability was observed for K, Zn, ash, and proteins. The data set resulting from the chemical characterization of 55 samples indicates that the commercial types common bean, black bean and black-eyed pea are more indicated for the production of the certified reference material. Considering the commutability criteria, the common beans could be used to produce a reference material representative of all commercial types studied.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L. *Vigna unguiculata*. Neutron activation analysis. Nutrients. Antinutritional Factors.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>13</b>
2.1. Importância do uso de materiais de referência.....	13
2.2. Panorama da produção de materiais de referência no Brasil.....	15
2.3. Etapas de produção de um MRC .....	17
2.4. Feijão: importância da cultura e relevância no agronegócio.....	18
2.5. Cadeia produtiva do feijão no Brasil.....	23
2.6. Propriedades nutricionais do feijão .....	25
2.6.1. Composição centesimal .....	26
2.6.2. Minerais e vitaminas.....	31
2.7. Fatores antinutricionais .....	35
2.7.1. Inibidores de proteases .....	35
2.7.2. Ácido fítico.....	36
2.7.3. Taninos.....	37
2.8. Produção de material de referência de feijão.....	38
2.9. Análise por ativação neutrônica .....	39
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>42</b>
3.1. Amostragem .....	42
3.2. Tratamento das amostras.....	43
3.3. Análise por ativação neutrônica para caracterização química.....	44
3.3.1. Preparo e irradiação com nêutrons .....	44
3.3.2. Detecção da radioatividade e cálculos .....	45
3.4. Composição centesimal .....	47
3.4.1. Determinação de umidade .....	47
3.4.2. Determinação de cinzas .....	48
3.4.3. Determinação de proteínas .....	48

3.4.4. Determinação de extrato etéreo (lipídeos) .....	49
3.4.5. Cálculo de carboidratos .....	50
3.5. Determinação de fatores antinutricionais .....	50
3.5.1. Ácido fítico .....	50
3.6. Análise estatística .....	51
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>52</b>
4.1. Análise por ativação neutrônica .....	52
4.1.1. Qualidade da determinação analítica .....	52
4.1.2. Elementos químicos .....	53
4.2. Composição centesimal .....	63
4.2.1. Proteínas .....	64
4.2.2. Cinzas .....	66
4.2.3. Lipídeos .....	67
4.3. Ácido fítico .....	68
4.4. Seleção do material de referência candidato .....	70
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>76</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>78</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão é a leguminosa de maior importância para consumo humano direto no mundo (BROUGHTON et al., 2003; BLAIR et al., 2013), principalmente em alguns países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais, como América Latina, África e Ásia (EMBRAPA, 2005). A principal espécie de feijão cultivada é a *Phaseolus vulgaris* L. (feijão comum ou feijão seco), porém há outra espécie de consumo expressivo, denominada *Vigna unguiculata* (feijão caupi, de corda, feijão verde ou macassar), cultivada em sua grande maioria na África, especialmente na Nigéria e no Níger (FAOSTAT, 2012a).

Considerado fonte de proteínas, o feijão contribui para a melhoria do valor protéico das dietas de grande número de pessoas, particularmente naqueles países em que o consumo de proteína animal é limitado por razões econômicas (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996; CIAT, 2014). Possui também bom conteúdo de vitaminas, minerais, fibras e compostos fenólicos, sendo indicado na prevenção e no tratamento de várias doenças, incluindo câncer de mama e cólon, diabetes e doenças cardiovasculares (MITCHELL, 2009). No Brasil, constitui a base da dieta da população e é um dos ingredientes símbolos da culinária nacional (BORÉM; CARNEIRO, 2011; SOUZA et al., 2013), apresentando-se como uma cultura de grande importância econômica e social (EMBRAPA, 2003).

A Ásia é o continente onde mais se produz o feijão comum, seguida das Américas e África. Em 2013, colheram-se 23 milhões de toneladas de feijão em cerca de 124 países produtores, que cultivaram um total de 29 milhões de hectares (FAOSTAT, 2013). No ano de 2012, o Brasil foi o terceiro maior produtor mundial, ficando atrás de Mianmar e Índia. Ocupou a primeira posição de 2008 a 2009, caindo para o terceiro lugar em 2010 (FAOSTAT, 2012b). Atualmente, o país tem um consumo médio anual de 3,5 milhões de toneladas, sendo um dos maiores consumidores mundiais dessa leguminosa, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2013). Apesar da alta produção, o Brasil importa feijão de países como Argentina e China, figurando como o segundo maior importador, depois da Índia. Também há um pequeno volume em exportação, cerca de 20 mil toneladas registradas em 2011, principalmente para países como Índia e Egito. Outros destinos são África do Sul, Portugal, Japão e Estados Unidos (FAOSTAT, 2011a).

Diante de sua relevância, inúmeras pesquisas em relação às propriedades nutricionais do feijão comum e também do feijão caupi são realizadas no país. Há também um significativo investimento em melhoramento genético e muitas instituições promovem seu desenvolvimento e aperfeiçoamento. Esses estudos dão ênfase ao alto potencial de rendimento e produtividade, resistência às doenças, tolerância aos fatores abióticos e também qualidade culinária, buscando promover seu consumo. A Embrapa Arroz e Feijão vem, inclusive, desenvolvendo cultivares com características de exportação, como é o caso da cultivar Embaixador e Dark Red Kidney (EMBRAPA, 2013). Algumas pesquisas têm sido direcionadas no intuito de avaliar a composição centesimal, mineral e fatores antinutricionais presentes nas diversas espécies de feijão e cultivares (MESQUITA et al., 2007).

A globalização da ciência, indústria e comércio criou a necessidade de assegurar a comparabilidade de medições químicas em nível mundial (DYBCZYNSKI, 2002). Um dos grandes desafios que os países enfrentam consiste na capacitação nacional para superar as barreiras técnicas ao comércio e estar em conformidade com os acordos sobre as condições sanitárias e fitossanitárias, pré-requisitos para o acesso ao mercado e ao sistema de negociação mundial. Para superar esse desafio, muitos países em desenvolvimento precisam de assistência técnica significativa para melhorar sua capacidade metrológica (UNIDO, 2006).

No caso do feijão, recentemente foi estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento a Instrução Normativa nº 17 de 31 de julho de 2014, que define o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal para o ano-safra de 2014 - 2015, aplicável a produtos importados, sendo fixada para o feijão preto e carioca a análise de resíduos de agrotóxicos, aflatoxinas e ocratoxina (BRASIL, 2014). A legislação brasileira prevê também o Regulamento Técnico do Feijão, que foi instituído pela Instrução Normativa nº 12, de 28/03/2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2008). Esse regulamento define o padrão oficial de classificação do feijão, considerando os seus requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto.

Laboratórios de ensaio e calibração, incluindo laboratórios químicos e analíticos, são continuamente solicitados a fornecer evidências sobre a qualidade de suas operações. Isso é ainda mais importante nos casos em que limites legislativos

estão envolvidos, como no comércio internacional de alimentos, análises ambientais, e em atividades de pesquisa e desenvolvimento (IAEA, 2003). Nesse cenário insere-se o papel crucial dos materiais de referência certificados (CRMs), que tornam possível a transferência dos valores de grandezas medidas ou atribuídas, entre os laboratórios de ensaio, analíticos e de medição (ISO Guide 34:2009). De acordo com a ISO Guide 33:2000, os CRMs são aplicados para calibração de aparelhos, validação de métodos, avaliação de desempenho de métodos e instrumentos, além de estabelecer rastreabilidade aos resultados da medição. A essência de sua função é que ele conduz valores certificados de uma ou mais grandezas, associados a incertezas, em um determinado material. Entretanto, há insuficiente disponibilidade de CRMs para atender as demandas em todos os setores. Somente estão disponíveis materiais de referência para as técnicas analíticas mais rotineiramente empregadas e para um número muito pequeno de matrizes. Acessando-se a base de dados internacional de CRMs ([www.comar.bam.de](http://www.comar.bam.de)), verifica-se que há mais de 10 mil materiais de referência registrados, dos quais somente 500 são voltados para o setor agropecuário (COMAR, 2014).

Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo caracterizar os principais tipos comerciais de feijão disponíveis no mercado, das espécies *Phaseolus vulgaris* L. (feijão comum) e *Vigna unguiculata* (feijão caupi), em relação à sua composição química, visando fornecer subsídios para a produção de material de referência certificado de feijão que atenda as principais necessidades e requisitos de medição específicos para essa matriz. Deste modo, delinearam-se os seguintes objetivos específicos:

- Selecionar os principais tipos comerciais de feijão comercializados
- Caracterizar as amostras selecionadas em relação a elementos químicos utilizando a análise por ativação neutrônica instrumental (INAA)
- Determinar componentes nutricionais, incluindo teor de proteínas, gordura, cinzas e umidade
- Determinar fatores antinutricionais (fitatos)
- Prover dados conclusivos para seleção de candidato a material de referência certificado de feijão

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Importância do uso de materiais de referência

Toda experimentação científica usualmente depende de algum tipo de medição e é de fundamental importância para sua credibilidade que os resultados obtidos sejam rastreáveis a uma referência confiável. Em termos mundiais, cerca de 50 % de todas as medições realizadas correspondem a medições em química, com significativas consequências sociais e econômicas (SZCHUNK, 2001). Os resultados analíticos de tais medições devem ser, portanto, confiáveis, rastreáveis e com todas as incertezas declaradas, permitindo sua comparabilidade e equivalência em nível mundial. Neste contexto, inserem-se os conceitos de rastreabilidade metrológica, calibração, validação e utilização de materiais de referência certificados (TAGLIAFERRO, 2003; DE BIÈVRE et al., 2011).

Realizar análises químicas confiáveis não é uma tarefa simples. A aplicação de materiais de referência certificados (MRCs) em química analítica para fins de controle da qualidade é bem reconhecida e recomendada por uma ampla gama de organizações nacionais e internacionais (IAEA, 2003). Os materiais de referência, de acordo com a ISO Guide 33:2000, são aplicados para calibração de instrumento de medição, validação do método, avaliação do método e desempenho do instrumento, estabelecer rastreabilidade dos resultados da medição e determinação da incerteza dos resultados.

O Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM, 2012) define rastreabilidade metrológica como sendo a *“propriedade dum resultado de medição pela qual tal resultado pode ser relacionado a uma referência através duma cadeia ininterrupta e documentada de calibrações, cada uma contribuindo para a incerteza de medição”*. Quando o resultado de uma medição é descrito como rastreável, é essencial especificar a qual referência foi estabelecida a rastreabilidade metrológica, podendo ser, por exemplo, a uma grandeza de base do Sistema Internacional de Unidades (SI) ou a um valor representado por um material de referência (ISO GUIDE 34:2009).

Ainda segundo o VIM (2012), a validação é uma *“verificação na qual os requisitos especificados são adequados para um uso pretendido”*. A calibração é *“uma operação que estabelece, sob condições especificadas, numa primeira etapa, uma relação entre os valores e as incertezas de medição fornecidos por padrões e*

*as indicações correspondentes com as incertezas associadas; numa segunda etapa, utiliza esta informação para estabelecer uma relação visando à obtenção de um resultado de medição a partir de uma indicação”.*

O material de referência (MR) é definido como sendo “*um material, suficientemente homogêneo e estável em relação a propriedades específicas, preparado para se adequar a uma utilização pretendida numa medição ou num exame de propriedades qualitativas. Os materiais de referência com valores atribuídos podem ser utilizados para a calibração ou para o controle da veracidade de medição. Numa dada medição, um dado material de referência pode ser utilizado apenas para calibração ou para garantia da qualidade*”. O material de referência certificado (MRC) é definido como “*um material de referência acompanhado de uma documentação emitida por uma entidade reconhecida, a qual fornece um ou mais valores de propriedades especificadas com as incertezas e as rastreabilidades associadas, utilizando procedimentos válidos. Os valores de grandezas especificadas dos materiais de referência certificados exigem uma rastreabilidade metrológica com uma incerteza de medição associada*” (VIM, 2012).

Os materiais de referência mais comumente utilizados incluem:

- substâncias puras caracterizadas pela pureza química e/ou vestígios de impurezas;
- soluções e misturas de gás padrão, muitas vezes preparadas gravimetricamente a partir de substâncias puras e utilizadas para fins de calibração;
- materiais de referência matriciais ou de matriz, caracterizados para a composição especificada ou para rastrear componentes químicos. Tais materiais podem ser preparados a partir de matrizes contendo os componentes de interesse ou por preparação de misturas sintéticas;
- materiais de referência físico-químicos, caracterizados por propriedades tais como o ponto de fusão, viscosidade e densidade óptica;
- objetos ou artefatos de referência caracterizados para propriedades funcionais, tais como sabor, odor, dureza, etc. Este tipo também inclui amostras de microscopia caracterizadas para propriedades que vão desde o tipo de fibra a microbiológicos (ILAC, 2005).

Para os materiais de referência matriciais ou de matriz, é fundamental que sua composição seja a mais semelhante possível da composição das amostras que

serão analisadas, ou seja, preconiza-se o uso de materiais de referência de matrizes análogas às amostras, a fim de incluir todos os problemas analíticos que poderiam causar erros nas medições (ISO Guide 32:1997; ISO Guide 33:2000). No entanto, a disponibilidade de CRMs é limitada, principalmente para as áreas agropecuárias e alimentícias. No Brasil, estes setores são atendidos por meio da importação de países produtores a custos elevados.

Além de propriedades como homogeneidade, estabilidade e rastreabilidade, recentemente a ISO Guide 34:2009, que traz os requisitos gerais para produtores de materiais de referência, estabeleceu o conceito de comutatividade de um material de referência certificado. O termo foi utilizado primeiramente em química clínica, para descrever a habilidade de um material de referência, ou de um material de controle calibrador para medições com enzimas, apresentar propriedades comparáveis àquelas demonstradas por amostras clínicas autênticas, quando medidas por mais de um método analítico. Esta descrição foi mais tarde expandida para outros analitos, sendo a comutatividade em análises clínicas agora definida como a equivalência das relações matemáticas entre os resultados de diferentes procedimentos de medição para um material de referência e para amostras representativas de indivíduos saudáveis e doentes (VESPER; MILLER; MYERS, 2007).

De acordo com o VIM (2012), a comutatividade ou a comutabilidade de um material de referência é definida como a *“propriedade dum material de referência expressa pelo grau de concordância entre, por um lado, a relação entre os resultados de medição obtidos para uma dada grandeza desse material a partir de dois dados procedimentos de medição e, por outro lado, a relação entre os resultados de medição para outros materiais especificados”*. Os outros materiais especificados são geralmente amostras comuns.

## **2.2. Panorama da produção de materiais de referência no Brasil**

Algumas instituições governamentais do país têm se dedicado à produção de materiais de referência diversos. É o caso do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo – IPT, conveniado ao *National Institute of Standards and Technology* (NIST), dos EUA, o Instituto Nacional de Controle da Qualidade na

Saúde – Fundação Oswaldo Cruz (INCQS), o Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) e o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO).

A linha de produção do IPT se concentra na certificação da composição química de ligas metálicas, derivados de petróleo, minerais e refratários, além de propriedades físicas como densidade ([www.ipt.br](http://www.ipt.br)). Já o INCQS atua no controle da qualidade dos produtos sujeitos à vigilância sanitária, como medicamentos, alimentos e cosméticos, produzindo referências para substâncias químicas, substâncias químicas em agrotóxicos, microorganismos e substâncias biológicas ([www.incqs.fiocruz.br](http://www.incqs.fiocruz.br)). O CETEM preparou alguns materiais de referência para carvão mineral e para teores de bauxita, silício, ouro, prata, enxofre, etc ([www.cetem.gov.br](http://www.cetem.gov.br)). O INMETRO, por sua vez, produziu alguns materiais de referência para verificar contaminantes orgânicos em cachaça, teor de água em etanol, cloreto de sódio, entre outros ([www.inmetro.gov.br](http://www.inmetro.gov.br)).

Em colaboração com a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), o Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP) produziu em 1992 o material de referência Trace Elements in Soya Flour (IAEA RM-361), certificado para Br, Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Rb e Zn em comparação interlaboratorial, em que participaram 21 laboratórios da América Latina, e o NIST, dos Estados Unidos. Essa foi a primeira experiência brasileira na produção de um material de referência voltado para a agricultura. Em 2006, como resultado de um programa de pós-doutoramento, foi finalizada a produção de material de referência certificado de café denominado “Café Arábica”, para atender prioritariamente laboratórios analíticos de institutos de pesquisa, empresas, órgãos governamentais fiscalizadores, bem como de organizações nacionais e estrangeiras servindo o setor de importação e exportação de café.

Em 2008, com o intuito de auxiliar o país na obtenção de CRMs para o setor agropecuário, o CENA e mais 2 instituições, sendo elas a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP), pertencente à Universidade de São Paulo (USP), e Embrapa Pecuária Sudeste (EMBRAPA), tornaram-se parceiras de um Centro Colaborador de Defesa Agropecuária para Produção de Materiais de Referência Certificados e Organização de Ensaios de Proficiência de Resíduos e Contaminantes Inorgânicos. O Centro atuou na produção de dez materiais de referência com ênfase nos contaminantes As, Cd, Hg e Pb. Dos dez materiais, quatro envolveram tecidos de origem animal (sangue, músculo, rim e fígado de

ovinos), outros quatro são da área de insumos usados na pecuária (adubo fosfatado, forragem, concentrado e mistura mineral) e dois são produtos de origem vegetal (arroz e tomate).

Outra iniciativa tomada no país foi o preparo de material de referência de mexilhão da espécie *Perna perna* para ser utilizado em estudos de biomonitoramento de elementos tóxicos em pontos do litoral brasileiro (MOREIRA, 2010), em seu doutorado pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). Ulrich (2011), por sua vez, preparou um material de referência para a certificação de mercúrio e metilmercúrio em peixe. Carioni et al. (2011) avaliaram vários parâmetros para a quantificação de arsênio total em um material candidato a material de referência de atum. Silva (2011) desenvolveu um material candidato a material de referência de suplemento mineral para gado de leite, em seu mestrado pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Apesar de todas essas iniciativas, a produção de materiais de referência no país ainda é incipiente.

### **2.3. Etapas de produção de um MRC**

As normas ISO Guide 30 a 35 fornecem as diretrizes aos produtores de materiais de referência, onde são abordadas práticas de garantia da qualidade e rastreabilidade do material preparado. Segundo a ISO Guide 35:2006, as etapas envolvidas na produção de um material de referência certificado são as listadas a seguir:

- definição do projeto e escolha do material de referência: basicamente, definem-se a matriz, as propriedades de certificação, e os níveis desejados e, também, o nível de incerteza pretendido;
- definição do procedimento de preparo das amostras;
- escolha dos métodos de medição apropriados para os testes de homogeneidade e estabilidade, e também de caracterização do material;
- amostragem e preparo (secagem, moagem para redução do tamanho de partículas, envase, homogeneização);
- teste de homogeneidade;
- teste de estabilidade;
- caracterização do material;

- combinação de todos os resultados e cálculo de todas as incertezas de medição;
- emissão do certificado.

Todas as etapas são devidamente detalhadas e particularizadas em tópicos no guia, para elucidação dos procedimentos e cuidados que se devem considerar. A ISO Guide 34:2004 ainda traz os requisitos básicos de organização e de implementação de sistemas da qualidade de um produtor de materiais de referência.

A etapa de planejamento do material de referência e a escolha da matriz são cruciais para o sucesso do CRM final. Nessas etapas, devem ser avaliadas também a viabilidade e adequação à finalidade do projeto, o que é necessário certificar no material escolhido em relação ao objetivo de uso do material, e quais as propriedades de interesse para os laboratórios de análise.

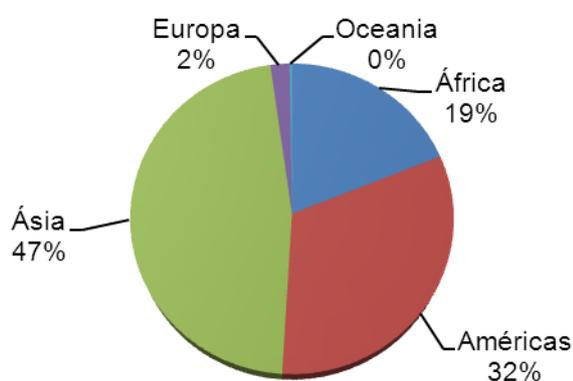
#### **2.4. Feijão: importância da cultura e relevância no agronegócio brasileiro**

O feijão é a leguminosa de maior importância para consumo humano direto no mundo (BLAIR et al., 2013; SOUZA et al., 2013), principalmente em alguns países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais, com destaque para a América Latina, África e Ásia (EMBRAPA, 2005). É um alimento considerado fonte de proteínas, contendo também outros componentes relevantes do ponto de vista nutricional, como carboidratos complexos, ferro e fibras. No Brasil, constitui a base da dieta da população, juntamente com o arroz (BORÉM; CARNEIRO, 2011; SOUZA et al., 2013), sendo também uma cultura de grande importância econômica e social (EMBRAPA, 2003). Segundo o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 2014), o feijão é um componente central da dieta diária de mais de 400 milhões de pessoas nos trópicos.

De acordo com dados da FAO (2012), o feijão seco é produzido em 124 países ao redor do mundo. Considerando o período de 2008 a 2012, a Ásia foi responsável por 47 % de toda a produção, as Américas 32 % e demais regiões 21 %, conforme ilustrado na Figura 1. Com uma área plantada de 2,7 milhões de hectares, o Brasil ocupou a posição de terceiro maior produtor de feijão em 2012. Colheu 2,8 milhões de toneladas, o que representa 12 % da produção mundial (cerca de 23,6 milhões de toneladas), ficando atrás de Mianmar e Índia. Na

Tabela 1, é possível visualizar a produção ao longo dos anos para os principais países produtores. Há uma ligeira estagnação na quantidade produzida, sem grandes variações nas posições ocupadas pelos grandes produtores. O Brasil situou-se na primeira posição entre 2008 e 2009, passando à terceira posição desde então.

Apesar da alta produção de feijão no país, o total produzido é basicamente destinado ao consumo interno, sendo necessária importação, de acordo com a demanda, para cobrir eventuais falhas no abastecimento ao longo do ano (BRASIL, 2013). Os picos de importação ocorrem entre junho e setembro, sendo determinados, entre outros fatores, pelo resultado das safras nacionais e pelo custo no mercado interno e no mercado internacional (BARBOSA; GONZAGA, 2012). Em 2011, o país importou cerca de 207 mil toneladas de feijão, e há dados de um pequeno volume em exportação, cerca de 20 mil toneladas, segundo a FAO (2011a). O principal exportador mundial de feijão seco é a China, seguida de Mianmar, Estados Unidos e Argentina. O Brasil importa principalmente da Argentina, China e Bolívia, e exporta uma pequena parcela da produção para Índia e Egito, majoritariamente, e também para outros países como Portugal, África do Sul, Angola, Estados Unidos e Japão. A Figura 2 mostra os países que exportaram feijão para o Brasil em 2011 (FAOSTAT, 2011b). O feijão preto figura como o tipo comercial mais importado pelo país (BARBOSA; GONZAGA, 2012), e o feijão de corda, caupi ou macassar, da espécie *Vigna unguiculata*, é o mais exportado (WANDER, 2012).



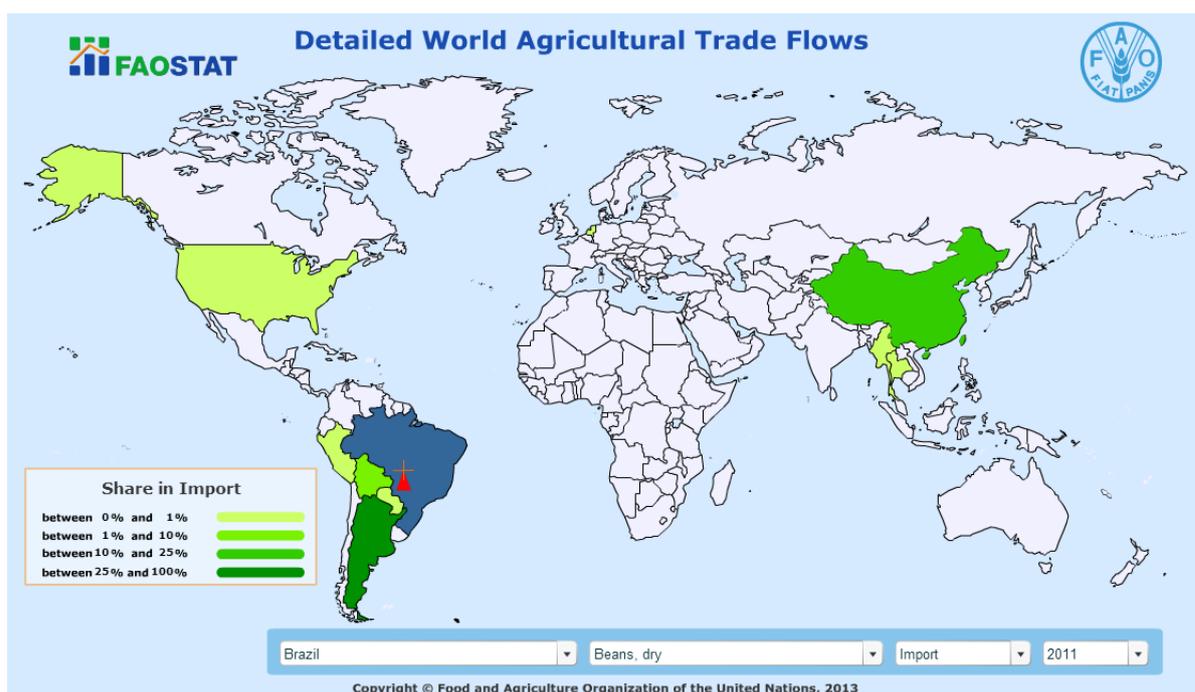
**Figura 1** - Produção média de feijão por continente (2008 a 2012)  
(Fonte: FAOSTAT, 2012b)

**Tabela 1** - Produção de feijão pelos principais países, dados em toneladas

País	2008	2009	2010	2011	2012
Mianmar	3.218.000	3.375.000	3.530.000	3.750.000	3.900.000
Índia	3.010.000	2.430.000	4.890.000	4.330.000	3.630.000
Brasil	3.461.194	3.486.763	3.158.905	3.435.366	2.794.854
China	1.707.885	1.489.135	1.338.693	1.583.498	1.460.698
China Continental	1.700.000	1.480.000	1.330.000	1.572.000	1.450.000
Estados Unidos	1.159.290	1.150.310	1.442.470	899.610	1.448.090
Tanzânia	570.750	773.720	867.530	675.948	1.199.267

(Fonte: FAOSTAT, 2012b)

Sobre o consumo de feijão, o Brasil mantém uma taxa média anual de 3,5 milhões de toneladas (BRASIL, 2013), com um consumo per capita de 17,5 kg/ano. As regiões que mais consomem o produto são Nordeste (consumo per capita de 20,6 kg/ano) e Sudeste (consumo per capita de 20 kg/ano) (CONAB, 2013).

**Figura 2** - Países que exportaram feijão para o Brasil em 2011 (Fonte: FAOSTAT, 2011b)

Segundo a CONAB (2014), o feijão é cultivado em todos os 26 estados brasileiros. Além do feijão comum da espécie *Phaseolus vulgaris* L., há cultivo do feijão de corda (ou feijão caupi) da espécie *Vigna unguiculata*, concentrado nas regiões Norte e Nordeste do país (SEAB, 2012). A metodologia de levantamento de

volume de produção da CONAB não separa as duas espécies de feijão. Na Tabela 2, é possível conferir os principais estados produtores, responsáveis por cerca de 78 % de toda produção nacional.

De 1990 a 2009, o Brasil reduziu sua área de plantio de feijão em torno de 12 %. Mesmo assim, a produção aumentou em 56 %, devido ao expressivo aumento da produtividade média (78 %). O cultivo de feijoeiro é bastante difundido em todo o território nacional, no sistema solteiro ou consorciado com outras culturas. Contudo, ainda é reconhecido como cultura de subsistência em pequenas propriedades (BARBOSA; GONZAGA, 2012; SEAB, 2012). Segundo Silva e Wander (2013), 70 % do feijão produzido no país resultam da agricultura familiar e de pequenos produtores. Esse fator dificulta a organização da cadeia produtiva e a obtenção de informações precisas, prejudicando a rastreabilidade do produto. Outro aspecto que restringe o desenvolvimento dessa cadeia é a grande variedade de tipos e classes de feijões cultivados e comercializados regionalmente, o que dificulta a padronização, a classificação do produto e a consequente formação de preços no mercado (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

**Tabela 2** - Principais estados produtores de feijão no Brasil entre 2008 e 2014, dados em mil toneladas

UF/Região	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14 (*)
Paraná	723	794	821	678	658	832
Minas Gerais	599	624	582	664	565	596
Mato Grosso	151	121	235	224	294	529
Bahia	336	390	263	118	189	267
Goiás	264	289	260	308	236	260
São Paulo	325	319	348	331	236	201
<b>Norte/Nordeste</b>	<b>1.042</b>	<b>780</b>	<b>1.103</b>	<b>413</b>	<b>530</b>	<b>799</b>
<b>Centro/Sul/Sudeste</b>	<b>2.448</b>	<b>2.542</b>	<b>2.630</b>	<b>2.505</b>	<b>2.276</b>	<b>2.732</b>
<b>Total do Brasil</b>	<b>3.490</b>	<b>3.322</b>	<b>3.733</b>	<b>2.918</b>	<b>2.806</b>	<b>3.531</b>

Fonte: CONAB, 2014

(\*): Estimativa em julho de 2014

Devido à preferência do consumidor apresentar característica regional, observa-se grande variabilidade de tipos de feijão comercializados em todo o país (BORÉM; CARNEIRO, 2011). A principal característica na escolha para consumo de um determinado tipo de feijão é a cor e o tamanho dos grãos. Há diversos tipos comerciais de feijão comum disponíveis, sendo o mais popular o feijão do tipo

carioca (BARRUETO-GONZÁLEZ, 2007). Outros tipos comerciais de feijão comum encontrados são o preto, branco, vermelho, rosinha, roxo, manteiga, etc. Dados da Embrapa (2013) informam que 70 % do feijão consumido no país eram do tipo carioca, 20 % do tipo preto e 10 % dos demais tipos. O feijão caupi é basicamente comercializado como tipo fradinho. Nos últimos anos, os programas de melhoramento obtiveram inúmeros cultivares com o tipo de grão carioca, a maioria deles com vantagens em termos de produtividade e resistência às doenças em relação ao cultivar carioca original (BARRUETO-GONZÁLEZ, 2007).

Conforme já mencionado, a legislação brasileira prevê o Regulamento Técnico do Feijão, que foi instituído pela Instrução Normativa nº 12, de 28/03/2008. Esse documento classifica o feijão comum como Grupo I e o feijão caupi como Grupo II. Os feijões do Grupo I e do Grupo II ainda são divididos em classes, segundo sua coloração, sendo elas: branca, preta, cores (que apresentam contraste de cores) e misturado (BRASIL, 2008). Segundo dados do censo agropecuário de 2006 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2006), 65 % do volume total de feijão comum produzido correspondiam ao feijão da classe cores, e 35 % ao feijão da classe preto. É provável que nos dados do censo não tenham sido discriminados o feijão da classe branca e o da classe misturada.

O feijão preto é consumido principalmente nos Estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. No restante do país, esse tipo de grão tem pouco ou quase nenhum valor comercial ou aceitação. Os feijões de grão tipo carioca são aceitos em praticamente todo o Brasil. O feijão mulatinho é mais aceito na Região Nordeste e os tipos roxo e rosinha são mais populares nos Estados de Minas Gerais e Goiás. Alguns tipos comerciais são restritos a determinadas regiões bem específicas, como é o caso do feijão vermelho na Zona da Mata de Minas, e do jalo na região de Paracatu, MG (EMBRAPA, 2003; BORÉM; CARNEIRO, 2011).

Dentre os tipos comerciais, existem as cultivares recomendadas de acordo com a região de cultivo, em que se levam em consideração a produtividade, preferência de consumo, doenças e pragas da região, clima, custos de produção, entre outros aspectos importantes. Algumas entidades como IAC, Embrapa, Du Pont e EPAMIG trabalham com melhoramento genético do feijão, buscando maior produtividade e características mais adequadas às diversas regiões e mercados. A Embrapa Arroz e Feijão organiza o programa nacional de melhoramento genético do feijoeiro, gerando populações e linhagens com características de interesse

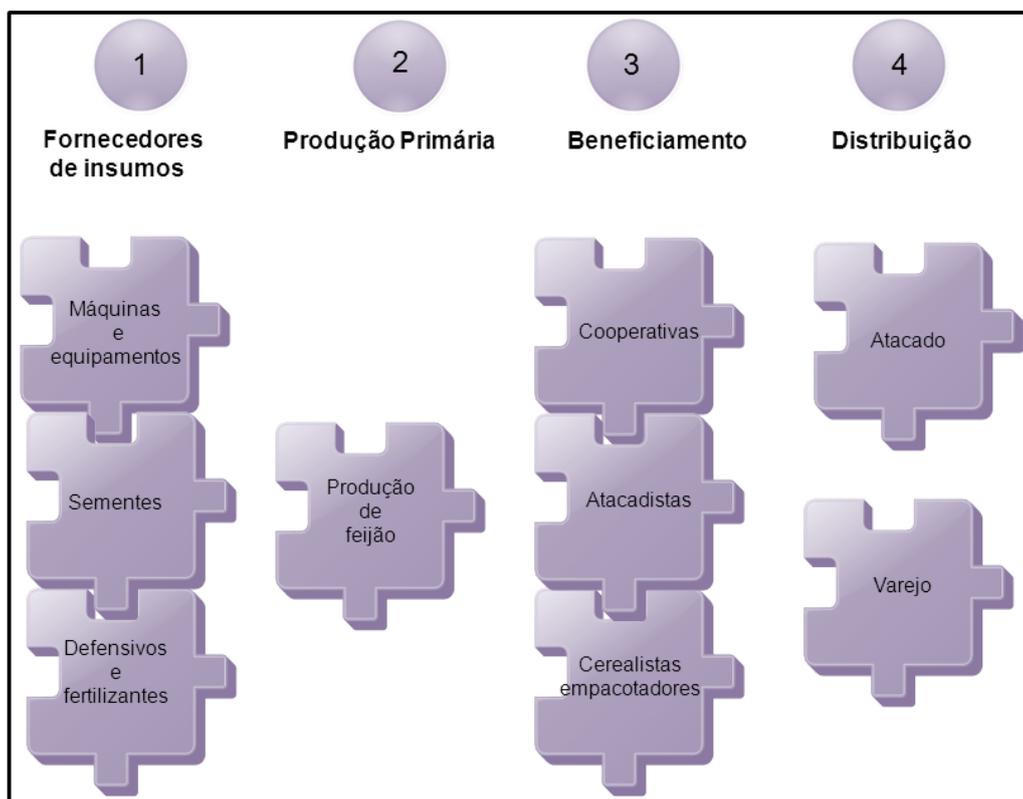
agronômico, como produtividade, arquitetura de planta, precocidade, tolerância a estresses bióticos e abióticos e qualidade nutricional e funcional do grão (MORAES, 2008). Além desses fatores, avaliações sobre a qualidade física, química e sensorial dos grãos são requeridas pelos produtores para efetiva adoção de uma cultivar (OLIVEIRA et al, 2012). O MAPA publica periodicamente as listas das cultivares inscritas no Registro Nacional de Cultivares e no Zoneamento Agrícola de cada Unidade da Federação, concedendo caráter legal a essa tecnologia (BARBOSA; GONZAGA, 2012). Desse modo, para o tipo comercial carioca, existem diversas cultivares disponíveis. Por exemplo, a Pérola é a mais tradicional, e amplamente conhecida no mercado pela sua adaptabilidade, alto potencial produtivo, alto valor comercial dos grãos e resistência a doenças (EMBRAPA, 2013).

## **2.5. Cadeia produtiva do feijão no Brasil**

O feijão, cultivado em todo o território brasileiro, é considerado uma cultura atípica, por se conseguir três safras anuais no país. Na primeira safra, ou safra das “águas”, o plantio nas regiões Centro-Sul é realizado de agosto a novembro, e a colheita nos meses de novembro a fevereiro. Já na região Norte e Nordeste, o plantio é em novembro e dezembro, e colheita de janeiro a março. Na segunda safra, ou safra da “seca”, o plantio é realizado de dezembro a março e abrange todos os Estados brasileiros, com colheita de março a julho. Já a terceira safra, também designada como safra irrigada ou de inverno, acontece com o feijão comum cultivado entre os meses de abril a julho e colhido de julho a outubro, com concentração de plantio no Centro-Sul do Brasil (SEAB, 2012; SILVIA; WANDER, 2013). Dessa forma, nota-se que sempre há produção de feijão em algum ponto do país ao longo do ano, contribuindo para o abastecimento interno (EMBRAPA, 2003).

Há uma certa dificuldade em organizar todos os pontos da cadeia produtiva do feijão, para obtenção da rastreabilidade ao longo da mesma. Diversos fatores concorrem para tal, como enorme variabilidade de produtos ofertados, o fato de a produção ser majoritariamente realizada por pequenos agricultores, a falta de informação e a existência de muitas safras ao longo do ano. Ozon (2002) estudou a organização da cadeia produtiva do feijão no Paraná, mais especificadamente na região de União da Vitória, descobrindo alguns elos da cadeia e a interação entre eles. De acordo com o autor, pode-se organizar a cadeia nos seguintes elos:

1) produção de insumos, máquinas e equipamentos; 2) produção primária; 3) agroindústria de beneficiamento e 4) setor de distribuição e varejo. A Figura 3 ilustra os elos da cadeia em sua forma organizada. É provável que esse estudo retrate bem o funcionamento do processo produtivo de feijão em nível nacional.



**Figura 3** – Elos do processo produtivo do feijão  
(Adaptado de Ozon, 2002)

O elo de empacotadores e cerealistas é o principal da cadeia do feijão, pois faz a ligação entre o produtor e a distribuição, agregando valor ao produto. Desse modo, as empresas de beneficiamento adquirem o feijão do produtor em sacas de 60 kg, já secos, e realizam os processos de limpeza, beneficiamento, armazenamento e embalagem do produto. Após o processamento, revende aos canais de distribuição, normalmente em embalagens com sua marca. É um segmento bastante fragmentado com muitas empresas atuando no mercado.

A compra do feijão do produtor é conduzida de diversas formas. Algumas empresas beneficiadoras realizam uma análise da qualidade antes de adquirir o produto, medindo teor de umidade, impurezas e classificação da cor. O principal problema para o empacotador é a aquisição de produto úmido (OZON, 2002). O teor máximo de umidade permitido no feijão após colheita e secagem gira em torno

de 13 % (BARBOSA; GONZAGA, 2012). De maneira geral, não há planejamento de compra do produto, pois suas vendas oscilam muito de cliente para cliente. Contratos de longo prazo são inexistentes (OZON, 2002). No caso de haver assimetria de informação sobre a quantidade e a qualidade do produto que será ofertado pelas regiões produtoras, podem surgir oportunidades ou ações que beneficiem certos segmentos mais bem informados da cadeia produtiva (EMBRAPA, 2003).

De acordo com estudo realizado pela Embrapa (2003), há vários fluxos de abastecimento de feijão da cidade de São Paulo durante o ano. Constatou-se que, nos meses de janeiro e fevereiro, esse mercado é abastecido com o produto da colheita de dezembro, do próprio Estado de São Paulo, alguma produção colhida no mês e complementada com produto dos estados do sul e da produção de Minas Gerais, Goiás, Bahia e Mato Grosso do Sul. Em abril, inicia-se a colheita da segunda safra, que vai até junho. Nesse período, entra produto do próprio Estado novamente, de Goiás, Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. Entre julho e agosto, esporadicamente, o mercado pode receber produto importado. Em setembro, encerram-se as colheitas do Paraná e das lavouras irrigadas de São Paulo, Goiás, Bahia, Mato Grosso e Minas Gerais. Em novembro, a oferta é baixa e se restringe às safras precoces de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul. Em dezembro, intensificam-se as colheitas nesses estados, completando o ciclo anual.

## **2.6. Propriedades nutricionais do feijão**

O feijão é uma leguminosa interessante do ponto de vista nutricional, por ser um alimento de alto conteúdo protéico. Além dessa propriedade, possui boa quantidade de fibras, vitaminas, em especial as do complexo B, ferro e outros minerais como cálcio, cobre, magnésio, potássio e zinco, compostos fenólicos e carboidratos complexos. Por outro lado, assim como outras leguminosas, apresenta alguns problemas nutricionais, identificados como a baixa digestibilidade de suas proteínas, o conteúdo reduzido em aminoácidos sulfurados, a presença de fatores antinutricionais e de substâncias causadoras de flatulência, além da baixa disponibilidade de minerais. Tem-se observado a realização de diversos estudos nessa linha de pesquisa, a fim de otimizar o valor nutricional, amenizar a presença

desses fatores negativos e promover o consumo de feijão (ARAÚJO et al., 1996; GUZMÁN-MALDONADO; ACOSTA-GALLEGOS; PAREDES-LÓPEZ, 2000; SILVA; ROCHA; CANNIATTI BRAZACA, 2009).

Estudos também buscam dados para o desenvolvimento de cultivares que apresentem alta produtividade com características culinárias e nutricionais desejáveis, como facilidade de cocção, boa palatabilidade, textura macia do tegumento, maior teor de proteínas e minerais, e menor teor de fatores antinutricionais (MESQUITA et al., 2007). A seguir, são detalhadas as propriedades nutricionais e antinutricionais do feijão, a fim de ressaltar as que apresentam maior interesse para certificação.

### 2.6.1. Composição centesimal

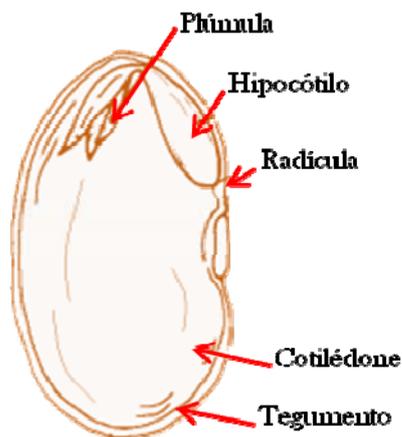
A composição centesimal do feijão compreendida pelo teor de proteínas, fibras, cinzas, umidade, carboidratos e gordura varia de acordo com o local de plantio, fatores ambientais, cultivar e grupo comercial, podendo também ser afetada durante o processamento (ARAÚJO et al., 1996; FERREIRA, 2010). A Tabela 3 apresenta dados da composição centesimal e fibra alimentar de feijões crus e cozidos de diversos tipos comerciais apresentados pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011). De acordo com a metodologia aplicada, no teor de carboidratos são contabilizados também os teores de fibra alimentar.

**Tabela 3** - Composição centesimal (%) de diversos tipos comerciais de feijão, grãos crus e cozidos (por 100 g de parte comestível)

Tipo comercial	Umidade	Cinzas	Proteínas	Lipídeos	Carboidratos	Fibra alimentar
Carioca, cru	14,0	3,5	20,0	1,3	61,2	18,4
Carioca, cozido	80,4	0,7	4,8	0,5	13,6	8,5
Preto, cru	14,9	3,8	21,3	1,2	58,8	21,8
Preto, cozido	80,2	0,8	4,5	0,5	14,0	8,4
Fradinho, cru	12,7	3,5	20,2	2,4	61,2	23,6
Fradinho, cozido	80,0	0,8	5,1	0,6	13,5	7,5
Jalo, cru	13,5	3,9	20,1	0,9	61,5	30,3
Jalo, cozido	75,8	1,0	6,1	0,5	16,5	13,9
Rajado, cru	15,0	3,7	17,3	1,2	62,9	24,0
Rajado, cozido	77,9	0,9	5,5	0,4	15,3	9,3
Rosinha, cru	12,0	3,6	20,9	1,3	62,2	20,6
Rosinha, cozido	82,6	0,6	4,5	0,5	11,8	4,8

Fonte: TACO, 2011

A proteína no grão de feijão situa-se principalmente nos cotilédones e no eixo embrionário das sementes. Pequenas quantidades estão também presentes no tegumento (VAN DER POEL, 1990). A Figura 4 ilustra as estruturas básicas do grão de feijão, conforme mostrado por Silva e Corrêa (2008).



**Figura 4** – Estruturas básicas do grão de feijão  
Extraído de Silva e Corrêa, 2008

O teor de proteína nos grãos pode mudar de acordo com a cultivar, ambiente em que é realizado o cultivo e a interação de genótipos com ambiente (BURATTO et al., 2009). Há vários estudos que trazem dados sobre a quantidade de proteína presente no feijão, em média apresentando valores entre 22 % e 26 % em grãos crus (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996). A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011) apresenta valores entre 17 % e 22 % em grãos crus, de diferentes tipos comerciais, e valores entre 4,5 % e 6 % nos mesmos grãos cozidos. Os valores expressos de proteína para os grãos cozidos são aproximadamente 4 vezes menores que os valores encontrados em grãos crus, devido ao fato de que os resultados são expressos em 100 gramas de parte comestível, e não em matéria seca.

Mesquita et al. (2007), ao avaliarem 21 linhagens de feijão comum disponíveis no Brasil, incluindo várias cultivares e tipos comerciais diferentes, encontraram valores entre 22 % e 36 % de proteína nos grãos crus. Já Ramírez-Cárdenez, Leonel e Costa (2008), que avaliaram os efeitos de processamentos normalmente empregados nos grãos de feijão, encontraram nas cinco variedades estudadas teores entre 22,5 % e 24,5 % de proteínas nos grãos crus. Os mesmos grãos, quando processados em cozimento e maceração, apresentaram aumento ou

diminuição desse teor, dependendo principalmente da cultivar e também do tratamento que receberam.

Em relação à relevância da proteína presente no feijão, em aminoácidos essenciais, têm-se a predominância de lisina, leucina, ácido aspártico e ácido glutâmico, e baixas concentrações de aminoácidos sulfurados, como metionina, cisteína, cistina e triptofano (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996; TOLEDO; CANNIATTI BRAZACA, 2008). Esse é um fator que compromete o valor biológico das proteínas do feijão, comparado com alimentos de origem animal. A dieta mista contendo feijão e cereais como o arroz representa uma ingestão mais equilibrada de aminoácidos essenciais, já que cereais contêm aminoácidos sulfurados (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996; BROUGHTON et al., 2003). Estudos de melhoramento das cultivares de feijão são voltados também para obtenção de linhagens com proteínas de maior valor biológico.

Outro fator importante concernente às proteínas do feijão é a digestibilidade, relativamente baixa quando comparada a fontes de proteínas animais. A digestibilidade é um parâmetro nutricional que avalia o aproveitamento de uma fonte protéica. No estudo de Mesquita et al. (2007), valores de digestibilidade in vitro em diversas linhagens de feijão comum cru variaram entre 18 % e 45 %. Cruz et al. (2005) avaliaram a digestibilidade protéica de diversas cultivares de feijão nacionais, in vivo e in vitro, realizando o processo de cocção das amostras. Nesse caso, a digestibilidade das proteínas em estudo in vivo variou de 77 % a 87 % e in vitro variou de 84 % a 91 %. Esses estudos mostram que o processamento das amostras aumentou a digestibilidade das proteínas do feijão. Os autores verificaram, ainda, que as variedades pigmentadas apresentaram menor digestibilidade protéica do que as não-pigmentadas.

De acordo com dados encontrados na literatura, evidencia-se que a digestibilidade das proteínas do feijão é influenciada por diversos fatores, centrados na natureza estrutural de sua porção protéica, somada à presença de taninos na casca (responsáveis pela coloração do tegumento), fitatos e inibidores de proteases. Os taninos, fitatos e inibidores de proteases são denominados fatores antinutricionais. O processamento do feijão, como a cocção e a maçeração, e o armazenamento causam mudanças estruturais que podem aumentar ou diminuir a ação dos fatores antinutricionais, sendo então agentes influenciadores na digestibilidade (VAN DER POEL, 1990; LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996).

Porém, foi constatado também que o processamento pode ocasionar a diminuição dos teores de alguns nutrientes, como vitaminas e minerais (REHMAN et al., 2001), além de afetar a quantidade da própria proteína (RAMÍREZ-CÁRDENEZ; LEONEL; COSTA, 2008).

As fibras alimentares são um conjunto de substâncias derivadas de vegetais que resistem às ações das enzimas digestivas humanas. Em relação ao teor de fibras, sabe-se que alimentos de origem vegetal contêm fibras solúveis e insolúveis em sua composição. As solúveis em água são representadas pela maior parte das pectinas, gomas e algumas hemiceluloses, sendo responsáveis pelo aumento da viscosidade do conteúdo intestinal e possuem propriedades benéficas à saúde, como efeito de redução do colesterol plasmático. As insolúveis em água são compostas pelas celulosas, algumas pectinas, lignina e grande parte das hemiceluloses, responsáveis pelo aumento do bolo fecal e sua eliminação mais fácil e rápida, com a redução do tempo de trânsito no intestino grosso. Estudos evidenciam alguns efeitos benéficos ocasionados pela ingestão das fibras alimentares, como redução no risco de câncer e melhora do controle de diabetes mellitus (MATTOS; MARTINS, 2000), além da proteção contra doenças cardiovasculares, obesidade e doenças diverticulares (PEREZ-HIDALGO et al., 1997). Porém, a capacidade da fibra alimentar para ligar íons de minerais polivalentes pode ter um efeito negativo na biodisponibilidade de alguns nutrientes, principalmente minerais (TORRE et al., 1991), e diminuição na utilização de proteínas (MARQUES MENDEZ et al., 1993).

O feijão contém boa quantidade de fibra solúvel e insolúvel, que se concentra basicamente no tegumento do grão (LONDERO; RIBEIRO; CARGNELUTTI FILHO, 2008). Na literatura, é possível encontrar vários estudos que determinam o teor de fibra alimentar total (FAT), fibra solúvel (FAS) e insolúvel (FAI) em grãos de feijão, observando-se que há bastante variação de acordo com o grupo comercial, cultivar, etc. Ramírez-Cárdenaz, Leonel e Costa (2007) encontraram valores de FAT em grãos de feijão crus entre 21 % e 26 %, que aumentaram de 8 % a 11 % quando os grãos foram submetidos ao cozimento e maceração. O mesmo estudo traz valores de FAS entre 3 % e 6 % em grãos crus, que diminuíram com o cozimento e maceração, e valores de FAI entre 16 % e 20 %, que aumentaram com o processamento dos grãos. Já Londero, Ribeiro e Cargnelutti Filho (2008) encontraram teores de FAS entre 8 % a 11 %, enquanto o teor de FAI variou de

24 % a 31 %, em grãos crus de feijão preto. Os autores ainda enfatizam a importância da metodologia aplicada na determinação das frações de fibra nos grãos. As metodologias utilizadas para determinação de fibra bruta não são eficientes, causando erro analítico. Finalmente, dados da TACO (2011) apresentam teores de FA em grãos crus variando de 18 % a 33 %, e nos grãos cozidos entre 4,8 % a 14 %.

Os carboidratos representam a maior fração da composição centesimal do feijão, girando em torno de 55 % a 65 % do grão cru, quando contabilizados os teores de fibra solúvel e insolúvel (TACO, 2011; HUBER, 2012). Além das fibras, são constituídos por amido (45 % a 60 % do teor de carboidratos), oligossacarídeos (rafinose, estaquiose, verbascose), gomas, entre outros (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996; HUBER, 2012).

Os oligossacarídeos presentes no feijão não são metabolizados pelas enzimas gastrointestinais e acabam estimulando o crescimento e atividade de bactérias, principalmente do gênero *Clostridium*, responsáveis por sua metabolização. A metabolização leva à produção de hidrogênio, gás carbônico e pequenas quantidades de gás metano, desencadeando flatulência. A maceração do feijão, com posterior descarte da água, parece ser um procedimento satisfatório na redução da flatulência, pois diminui o teor de oligossacarídeos, que se perdem na água (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996). Em relação ao amido, constatou-se que parte dele não é totalmente utilizável como fonte energética, e sua digestibilidade é menor quando comparada à de outros alimentos como os cereais, proporcionando reduzido índice glicêmico.

De acordo com dados da TACO (2011), o feijão carioca cru apresenta 61,2 % de carboidratos, enquanto o cozido 13,6 %. Já o feijão preto cru tem 58,8 % e o cozido 14 %. Verificou-se que a metodologia empregada no processamento de grãos de feijão consiste em maceração dos grãos, descarte da água de maceração e posterior cozimento. No estudo de Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008), encontraram-se teores de carboidratos entre 69 % e 72 %, dependendo da variedade do feijão, sendo que os processos de maceração e cozimento não ocasionaram mudanças significativas nessas quantidades.

A umidade é um fator importante em relação à qualidade do feijão. Após a colheita, a respiração e outros processos metabólicos dos grãos continuam ativos, ocasionando, na maioria das vezes, perdas significativas da qualidade. Esses

processos podem ser diminuídos ou retardados pela secagem dos grãos, que é a forma mais utilizada comercialmente para prolongamento do tempo de conservação. Porém, mesmo com a redução de umidade, os grãos perdem qualidade devido à perda de peso e consumo de energia pelo processo respiratório, pelo aumento de rachaduras e ocorrência de pragas e fungos. Além disso, um longo período de armazenamento ainda pode causar dificuldades no cozimento do feijão, diminuir a germinação e gerar escurecimento do tegumento de feijão claro, do tipo carioca, depreciando enormemente seu valor comercial (BRACKMANN et al., 2002; OZON, 2002). O percentual tecnicamente recomendável para fins de comercialização do feijão é de até 14 % de umidade, segundo o Regulamento Técnico do Feijão, estabelecido pela Instrução Normativa nº 12, de 28 de março de 2008 (BRASIL, 2008).

O conteúdo de lipídios é geralmente baixo no feijão comum em comparação com outros macronutrientes (SGARBIERI, 1989). O feijão cru apresenta conteúdo médio de 1,7 % de lipídeos (BRIGIDE; CANNITTI-BRAZACA, 2011). Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008) encontraram valores de 1,2 % a 1,9 % em grãos crus, que aumentaram com o cozimento e maceração em quatro das cinco variedades estudadas. No estudo de Brigide e Canniatti-Brazaca (2011), que avaliou a composição centesimal de feijão carioca, foram encontrados 1,2 % de lipídeos em grãos crus e 1,1 % em grãos cozidos.

O teor de cinzas (resíduo inorgânico) em grãos de feijão pode chegar a 4,5 % (BARAMPAMA; SIMARD, 1993), sendo dependente também de fatores como a variedade e condições de cultivo. Em relação aos efeitos do processamento, há perdas de minerais por difusão na água, tanto na maceração quanto no cozimento. No entanto, segundo Barampama e Simard (1995), essas perdas podem ser compensadas, já que o cozimento pode favorecer a liberação de minerais de alguns complexos presentes nos feijões, como o complexo ácido fítico-mineral.

### **2.6.2. Minerais e vitaminas**

O teor de minerais no grão de feijão está diretamente relacionado com ambiente de cultivo, condições de desenvolvimento em que a planta foi submetida, correções do solo e aplicação de fertilizantes, cultivar ou variedade do feijão, e interação entre cultivar e ambiente (BURATTO, 2012). O feijoeiro é exigente em

termos de nutrição mineral, requerendo disponibilidade dos macronutrientes cálcio, enxofre, fósforo, magnésio, nitrogênio e potássio, e também dos micronutrientes boro, cloro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco, provenientes do solo e dos fertilizantes, para obter alta produtividade (OLIVEIRA; ARAÚJO, DUTRA, 1996). Todos esses fatores apresentam influência direta no teor de minerais que serão fornecidos pela ingestão dos grãos.

Em relação à nutrição humana, sabe-se que alguns minerais são essenciais e muito importantes, sendo fornecidos pela dieta. Alguns deles são exigidos em quantidades maiores, como o cálcio, enxofre, fósforo e magnésio, enquanto o cobalto, cobre, cromo, estanho, ferro, flúor, iodo, manganês, molibdênio, níquel, selênio, silício, vanádio e zinco são micronutrientes, exigidos em menores quantidades. Há, ainda, os eletrólitos (sais) cloro, potássio e sódio, também essenciais (GIUGLIANO, 1999). Dessa forma, é interessante do ponto de vista nutricional que os alimentos possuam esses nutrientes disponíveis em sua composição, em quantidades úteis.

O feijão é considerado boa fonte de ferro, fósforo, magnésio, manganês e, em menor grau, fornece cálcio, cobre, potássio e zinco (BROUGHTON, 2003). A Tabela 4 apresenta a concentração dos principais minerais que o feijão contém em sua composição, informados pela TACO (2011), em diversos tipos comerciais. Beebe, Gonzales e Reginfo (2000), em estudo com mais de 1000 cultivares de feijão do Banco de Germoplasma do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), encontraram teores médios de alguns minerais apresentados na Tabela 5. Segundo Sathe et al. (1984), uma porção de 170 g de feijão cozido pode suprir cerca de 10 % das necessidades diárias de cálcio e zinco, 20 % das de potássio e cobre, 20 % a 25 % das de fósforo, magnésio e manganês, e 29 % a 55 % das de ferro para mulheres e homens, respectivamente.

**Tabela 4** - Composição mineral (mg em 100 g de parte comestível) de diversos tipos comerciais de feijão, grãos crus e cozidos

<b>Tipo comercial</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>Fe</b>	<b>Na</b>	<b>K</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>
Carioca, cozido	27	42	0,28	87	1,3	2	255	0,19	0,7
Carioca, cru	123	210	1,02	385	8,0	Tr	1352	0,79	2,9
Fradinho, cozido	17	38	0,53	85	1,1	1	253	0,10	1,1
Fradinho, cru	78	178	1,43	355	5,1	10	1083	0,70	3,9
Jalo, cozido	29	44	0,32	121	1,9	1	348	0,24	1,0
Jalo, cru	98	170	0,99	427	7,0	25	1276	0,95	3,0
Preto, cozido	29	40	0,37	88	1,5	2	256	0,20	0,7
Preto, cru	111	188	1,32	471	6,5	Tr	1416	0,83	2,9
Rajado, cozido	29	42	0,29	113	1,4	1	315	0,23	0,9
Rajado, cru	111	170	1,17	335	18,6	14	1135	0,84	2,6
Rosinha, cozido	19	43	0,46	90	1,2	2	241	0,09	1,3
Rosinha, cru	68	184	1,08	394	5,3	24	1109	0,60	4,0

Fonte: TACO, 2011

\*Tr: quantidade traço

**Tabela 5** - Concentrações médias (n=1031)  $\pm$  desvio padrão de alguns minerais em feijão comum (mg/kg)

<b>Minerais</b>	<b>B</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>Zn</b>
Feijão comum (n=1031)	<b>10</b> $\pm 1,8$	<b>1466</b> $\pm 412$	<b>9</b> $\pm 1,8$	<b>55</b> $\pm 8,3$	<b>15</b> $\pm 4,4$	<b>3684</b> $\pm 696$	<b>35</b> $\pm 5$

Fonte: Beebe, Gonzales e Reginfo (2000)

Apesar da boa quantidade de minerais na composição do feijão, deve-se considerar que a biodisponibilidade em vegetais é menor quando comparada com alimentos de origem animal. A biodisponibilidade é definida como a proporção do nutriente na dieta ou no alimento que pode ser utilizada pelo organismo (FAIRWHEATER-TAIT, 1992). Os fatores que influenciam a biodisponibilidade são a digestibilidade do alimento, a forma química do mineral, a presença de quelantes e as condições do processamento (tratamento térmico, moagem, fermentação, ação enzimática), podendo, dessa forma, alterar a quantidade, a forma química ou a associação do mineral com outros componentes presentes (SATHE et al., 1984; BARRUETO-GONZÁLEZ, 2007).

As leguminosas em geral contêm substâncias que podem interferir na absorção dos minerais, como a presença das frações fibra alimentar, oligossacarídeos e alguns antinutricionais inibidores, como ácido fítico e polifenóis

(LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996). Por outro lado, alguns fatores dietéticos são facilitadores de absorção de nutrientes, como a vitamina C, frutose, ácido cítrico e lactose. As proteínas podem atuar como facilitadores ou inibidores da absorção de minerais (BARRUETO-GONZÁLEZ, 2007). Estudos e pesquisas são direcionados à avaliação da biodisponibilidade dos principais minerais presentes no feijão, principalmente Ca, Fe e Zn, bem como na elucidação dos mecanismos envolvidos na ação dos efeitos inibidores de absorção, principalmente os efeitos provocados pelos fatores antinutricionais que o feijão contém. Os estudos também têm avaliado o efeito do processamento comumente aplicado no feijão para consumo humano no teor dos nutrientes. Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008) constataram que o processamento do feijão, como cozimento e maceração, influenciaram o teor dos minerais Ca, Cu, Fe, Mn e Zn de diferentes formas, dependendo da cultivar analisada.

Dentre os minerais contidos no feijão, o ferro torna-se importante, já que sua deficiência é considerada a carência nutricional mais prevalente em todo o mundo (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006). A biodisponibilidade de ferro em alimentos é muito variável porque ele é encontrado sob duas diferentes formas nos alimentos, identificadas de acordo com seu mecanismo de absorção: ferro heme e ferro não-heme.

O ferro heme é encontrado nos alimentos de origem animal, sob a forma de hemoglobina e mioglobina (CARPENTER; MAHONEY, 1992). Essa forma de ferro é, geralmente, muito bem absorvida pelo organismo e fracamente influenciada por outros fatores da dieta, como a presença de facilitadores e/ou inibidores, pelo estado nutricional do indivíduo (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006). O ferro não-heme é a forma inorgânica  $Fe^{3+}$ , encontra-se presente em hortaliças, cereais e leguminosas (SANT'ANA et al., 2006) e não é absorvido totalmente pelo organismo, somente cerca de 10 % é aproveitado (ACCIOLY; LACERDA; ENGSTROM, 2009). A absorção desse ferro é fortemente influenciada pela solubilidade e interação com outros componentes da refeição que podem promover ou inibir a absorção (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006). Considera-se que a maior parte do aporte de ferro da dieta humana advém da forma não-heme, encontrada nos alimentos de origem vegetal, mas também no leite e derivados, nos ovos e nas carnes em geral (cerca de 60 % do ferro total), especialmente sob a forma de sais de ferro ou ligado a proteínas (ACCIOLY; LACERDA; ENGSTROM, 2009). Os alimentos de origem

vegetal contribuem com 90 % do total de ferro ingerido nos países desenvolvidos e até 100 % nos países em desenvolvimento (BIANCHI; SILVA; OLIVEIRA, 1992).

Vários estudos foram realizados acerca da biodisponibilidade do ferro em feijão comum, averiguando a influência de fatores antinutricionais como o fitato e taninos na sua absorção. Moura e Canniatti-Brazaca (2006) avaliaram a biodisponibilidade de Fe *in vitro* em grãos de feijão cozidos do tipo carioca, obtendo um valor de aproximadamente 17 % de Fe dialisável.

Em relação às vitaminas, sabe-se que o feijão possui boa quantidade de vitaminas hidrossolúveis, principalmente tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3) e folacina, não apresentando um conteúdo significativo de vitamina A. Porém, pouco se sabe sobre a biodisponibilidade dessas vitaminas, o efeito do cozimento sobre elas e a interação com outros constituintes do feijão (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996).

## **2.7. Fatores antinutricionais**

O termo fator antinutricional tem sido amplamente utilizado para denominar alguns compostos ou classes de compostos presentes em alimentos "*in natura*" que afetam o seu valor nutritivo. Esses fatores podem interferir na digestibilidade de proteínas, biodisponibilidade de minerais, causar irritações e lesões da mucosa gastrintestinal se ingeridos em grandes quantidades, entre outros efeitos (SGARBIERI, 1979; SILVA; SILVA, 2000; BENEVIDES et al., 2011).

Sabe-se que as leguminosas, sobretudo o feijão, possuem esses fatores em sua composição, como, por exemplo, os inibidores de proteases, ácido fítico e polifenóis e taninos (BONETT, 2007). Muitos estudos têm sido desenvolvidos para identificação desses compostos e elucidação de seus mecanismos de ação, a fim de amenizar seu efeito nos alimentos. A seguir, serão descritos alguns desses principais compostos presentes no feijão.

### **2.7.1 Inibidores de proteases**

Inibidores de proteases são substâncias de natureza protéica que atuam inibindo a atividade de algumas enzimas digestivas humanas, em especial as proteases tripsina e quimiotripsina, interferindo na digestibilidade e assimilação de

proteínas pelo organismo (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996; CRUZ et al., 2004; BONETT, 2007).

Os mecanismos de ação dos inibidores são ainda pouco conclusivos. Sabe-se que existem entre oito e dez famílias de inibidores presentes em vegetais, que atuam de forma específica de acordo com a natureza das enzimas proteolíticas (DUARTE et al., 2010). Segundo Lajolo, Genovese e Menezes (1996), os inibidores de proteases atuantes no feijão são do tipo Bowman-Birk. O processamento térmico parece inativar sua ação, embora existam estudos que relatam atividades residuais desses componentes após cozimento.

### 2.7.2. Ácido fítico

O ácido fítico ou ácido inositol 1,2,3,4,5,6-hexafosfato (RIBEIRO; IDA; OLIVEIRA, 1999) consiste na principal forma de reserva de fósforo em sementes de leguminosas e grãos, representando aproximadamente 80 % do fósforo total (QUIRRENBACH, 2007). Sua estrutura química possui forte potencial quelante, podendo complexar-se com minerais como cálcio, ferro, magnésio e zinco no pH do intestino, comprometendo a biodisponibilidade desses elementos (BONETT, 2007; HELBIG et al., 2008). Pode também se complexar com proteínas em meio ácido, através da interação com grupos básicos, comprometendo sua digestibilidade pela ação da pepsina (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996). Sua quantidade é influenciada por vários fatores ambientais tais como condições climáticas, localização, irrigação, fertilização, tipo de solo entre outros (TOLEDO; CANNIATTI-BRAZACA, 2008).

O potencial quelante do ácido fítico se dá pela carga negativa de sua molécula. Em pH ácido, o ácido fítico precipita  $Fe^{3+}$ ; em pH intermediário e alcalino, forma complexos insolúveis com vários cátions divalentes. Em pH 7,4, o ácido fítico forma complexos com  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Ca^{2+}$ , seguindo, preferencialmente, esta ordem (SILVA; SILVA, 1999). Por outro lado, a propriedade quelante do ácido fítico pode facilitar a eliminação de metais tóxicos no organismo, bem como auxiliar na prevenção do câncer (QUIRRENBACH, 2007). Estudos também têm demonstrado o efeito benéfico do ácido fítico como antioxidante e coadjuvante no tratamento de diabetes (OLIVEIRA et al., 2003).

Outros estudos comprovam que alguns métodos, como cozimento, fermentação e maceração, são capazes de reduzir significativamente o conteúdo de ácido fítico, através da ativação da enzima fitase, que degrada o fitato (SANT'ANA et al., 2000). Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008) avaliaram o efeito do processamento doméstico sobre os fatores antinutricionais em cinco cultivares de feijão. Em todas as cultivares, houve redução no teor de fitatos após o processamento, principalmente naquelas que foram cozidas sem a água de maceração. A maceração dos grãos contribuiu para a redução no conteúdo de fitatos, podendo ser explicada pela lixiviação dos íons fitatos na água sob a influência de um gradiente de concentração.

### **2.7.3. Taninos**

Taninos são flavonóides pertencentes ao grupo de compostos fenólicos presentes naturalmente em vegetais (MIZUBUTI; IDA, 1999). São classificados em taninos hidrolisáveis e condensados. Os condensados são os mais encontrados em feijão comum. Encontram-se principalmente presentes no tegumento dos grãos de feijão e determinam a sua cor e tonalidade (BONETT, 2007; MARQUEZI, 2013). Desta forma, sua quantidade varia com a coloração do grão (LAJOLO; GENOVESE; MENEZES, 1996).

As propriedades antinutricionais dos taninos se dão pela sua capacidade de complexar e precipitar proteínas em solução aquosa (SILVA; SILVA, 2000). Também podem formar complexos com íons metálicos por meio de seus grupos hidroxifenólicos (MARQUEZI, 2013). São mencionados com frequência como maiores limitantes do valor nutritivo de leguminosas, por comprometer a digestibilidade de suas proteínas. Entretanto, Bressani et al. (1982) relataram que o efeito de polifenóis de leguminosas na digestibilidade das proteínas é relativamente pequeno, pois somente influenciam 7 % da digestibilidade verdadeira de proteínas, enquanto outros fatores, como inibidor de tripsina, podem influenciar 25 % da digestibilidade das proteínas.

Toledo e Canniatti-Brazaca (2008) avaliaram o teor de taninos em feijão carioca submetidos a diferentes procedimentos de cocção, utilizando método espectrofotométrico descrito por Price et al (1980). O feijão macerado, cozido sem água de maceração, apresentou teores de taninos menores do que do feijão cozido

na mesma água de maceração. Em outro estudo com 5 cultivares diferentes de feijão, o teor de taninos diminuiu cerca de 70 % com o processamento (RAMÍREZ-CÁRDENAS; LEONEL; COSTA, 2008).

## **2.8. Produção de material de referência certificado de feijão**

Sabe-se que os CRM's estão se tornando cada vez mais necessários em procedimentos analíticos e de medição. É fundamental que o Brasil se torne independente na obtenção desses materiais para atender à demanda dos setores e evoluir em metrologia, rastreabilidade e garantia da qualidade.

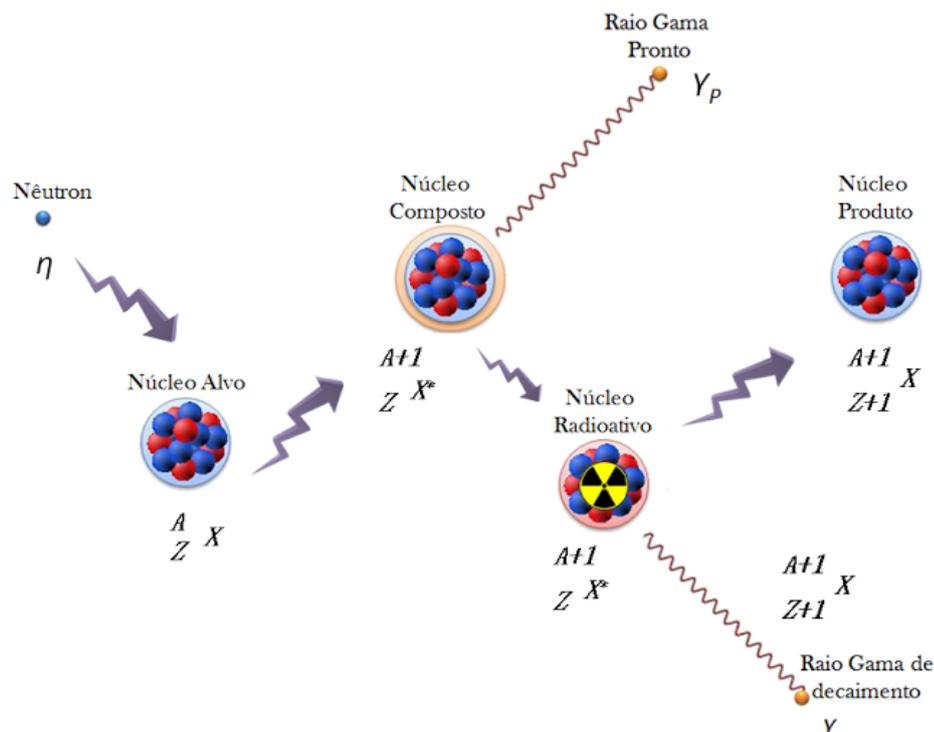
Um estudo amplo do feijão demonstrou sua importância para o país, sendo a base da dieta da população. Algum avanço está sendo alcançado no sentido de exportar o produto, embora ainda não seja um movimento expressivo. Há também um relevante investimento em melhoramento genético e muitas instituições promovem o desenvolvimento e aperfeiçoamento da cultura. Inúmeras pesquisas em relação às propriedades nutricionais do feijão comum e também do feijão de corda ou macassar vêm sendo realizadas periodicamente no país.

A base internacional COMAR, que lista os materiais de referência disponíveis, identifica dois materiais de feijão produzidos pelo *Institute for Reference Materials and Measurements* (IRMM), situado em Geel, na Bélgica. Um deles é o BCR-383 *Haricot Verts (Beans)* produzido em 1992, de feijão vagem branco, com valores certificados para teor de proteínas, fibra dietética, cinzas e macronutrientes Ca, K e Na. O outro é o ERM-BC514 *Dried Haricot Beans* produzido em 2004, de feijão branco seco, que certifica a fração de massa para determinação de fibra dietética.

Identificaram-se no presente estudo alguns parâmetros de interesse para certificação no feijão, como teor de nutrientes e minerais, e fatores antinutricionais. Também evidenciaram-se a amplitude dessa matriz e a existência de uma enorme variabilidade de tipos e cultivares no país. Desta forma, este trabalho envolveu a primeira etapa para elaboração de um material de referência, um estudo abrangente para definição e caracterização das propriedades para certificação, e escolha de um material compatível com a finalidade do projeto, que é atender às demandas metrológicas desta matriz.

## 2.9. Análise por ativação neutrônica

A análise por ativação neutrônica (NAA) é uma técnica analítica isotópica específica para determinação de elementos químicos. Baseia-se na irradiação de uma amostra com nêutrons e posterior medição da radioatividade induzida. A Figura 5 mostra os processos físicos tipicamente envolvidos, representando a grande maioria das reações nucleares utilizadas em NAA. Ao ocorrer interação entre o nêutron incidente e o núcleo alvo, forma-se um núcleo composto bastante instável, que dura apenas frações de segundo. Esse núcleo instável transforma-se em um núcleo radioativo, liberando energia na forma de raios gama prontos, finalizando a reação nuclear de captura neutrônica. Por meio de decaimento radioativo, conforme a meia-vida característica, o radionuclídeo formado emite partículas beta e raios gama e se transforma em um núcleo produto, normalmente estável. A radiação gama emitida no decaimento radioativo é detectada, permitindo a quantificação dos elementos químicos presentes na amostra (EHMANN; VANCE, 1991; ALFASSI, 1994).



**Figura 5** - Processos físicos envolvidos na análise por ativação neutrônica, ilustrando uma reação nuclear típica e o posterior processo de decaimento radioativo

A NAA apresenta diversas modalidades, sendo a análise por ativação neutrônica instrumental - INAA a mais aplicada, em que não se faz necessário

submeter a amostra a qualquer tratamento químico. Por não depender de processamento químico, essa modalidade é especialmente útil para validação de técnicas analíticas que dependem de solubilização de amostras, sendo também muito importante em processos de certificação de materiais de referência. Tem como característica apresentar poucas fontes de erro quando comparada com a maioria das outras técnicas analíticas e permite determinar a qualidade dos resultados pelo cruzamento de informações e avaliações internas (GREENBERG, 2008). O preparo das amostras para INAA restringe-se, geralmente, à obtenção de um material seco, fino e homogêneo (TAGLIAFERRO, 2003). O método possibilita a determinação simultânea de vários elementos químicos em uma única análise com elevada precisão (BACCHI; FERNANDES; OLIVEIRA, 2000; BODE; FERNANDES; GREENBERG, 2000). Entretanto, a quantidade de elementos determinados varia conforme a matriz da amostra, condições de preparo, irradiação e detecção (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 1990).

Os radionuclídeos produzidos no processo de irradiação com nêutrons têm meias-vidas variando desde frações de segundos até vários anos, sendo a radioatividade induzida medida por espectrometria de radiação gama, geralmente utilizando detectores semicondutores de germânio. Cada radionuclídeo emite raios gama com energias características, possibilitando a sua identificação. Os espectros produzidos são analisados por um software que localiza, identifica e calcula a área de cada pico (BACCHI; FERNANDES, 2003). A quantidade de eventos acumulados em um fotopico do radionuclídeo de interesse é utilizada para obter a concentração do elemento na amostra.

Existem diversas formas de padronização, sendo mais comum o uso de método comparativo, em que se irradia um padrão para cada elemento a ser determinado. Uma opção também bastante empregada é o método  $k_0$ , que permite determinações multielementares pela irradiação de padrão para um único elemento. Esse método necessita de caracterização do fluxo de nêutrons e de calibração da eficiência de detecção. Apresenta como principais vantagens reduzido custo da análise e diminuição de operações laboratoriais (DE CORTE, 2001).

Pelas características de elevado rigor metrológico, a NAA foi inicialmente considerada como potencial método primário de medição por Bode, Fernandes, Greenberg (2000). De acordo com o *Consultative Committee for Amount of Substance: Metrology in Chemistry* (CCQM), um método primário é definido como

um método de medição que possui a mais alta qualidade metrológica, cuja operação pode ser totalmente descrita e compreendida, em que a incerteza de medição pode ser apresentada em termos do Sistema Internacional de Unidades (SI), e os resultados são aceitos sem estarem referenciados a um padrão da grandeza medida. A NAA foi reconhecida oficialmente como método primário de medição na Reunião Anual do CCQM (BIPM, 2007). Este fato foi amplamente discutido em duas publicações recentes que trazem a fundamentação teórica e a demonstração do desempenho da NAA como procedimento primário de medição (BODE GREENBERG; FERNANDES, 2009; GREENBERG; BODE; FERNANDES, 2011).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Amostragem

Foram adquiridas, diretamente do mercado consumidor da cidade de Piracicaba/SP, 55 amostras de feijão de diversos tipos e marcas comerciais, conforme mostra a Tabela 6. A amostragem foi realizada entre os meses de junho e julho de 2012. Em visitas a 5 estabelecimentos varejistas, procurou-se coletar o maior número possível de amostras que representassem a variabilidade de tipos comerciais e marcas disponibilizadas ao consumidor final, bem como obter, no mínimo, três marcas distintas de cada tipo. Observa-se que feijões do tipo carioca e preto se apresentaram abundantes em número de marcas comerciais disponíveis no mercado explorado.

**Tabela 6** - Amostras de feijão coletadas no varejo da cidade de Piracicaba – SP, sinalizando o tipo comercial, classe comercial, quantidade de marcas encontradas de cada tipo e estado de origem das beneficiadoras do produto

<b>Espécie</b>	<b>Tipo comercial</b>	<b>Classe comercial</b>	<b>Quantidade de marcas</b>	<b>Localização das beneficiadoras</b>
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	carioca	cores	16	MG, SP
	preto	preto	12	MG, PR, SP
	vermelho	cores	3	SP
	branco	branco	5	PE, PR, RS
	bolinha	cores	4	SP
	jalo	cores	3	SP
	rajado	cores	3	SP
	rosinha	cores	2	SP
	cavalo	cores	3	SP
<i>Vigna unguiculata</i>	fradinho	branco	4	SP

Nas embalagens dos produtos adquiridos, foi possível conferir a localização da empresa beneficiadora e distribuidora, cidade e estado. Entretanto, essas informações não indicam o local de procedência do feijão, apenas o local de beneficiamento. Constatou-se que, no mercado explorado, existe grande número de marcas comerciais, porém poucas empresas que embalam e distribuem o feijão para o mercado varejista. Em alguns casos, uma única distribuidora comercializa um

mesmo tipo comercial com marcas diferentes. Esse fato denuncia uma estratégia das empresas para não prejudicar a sua boa reputação, associada basicamente à qualidade do produto que oferecem. Quando o feijão adquirido junto ao produtor é de pior qualidade, ele vai ao mercado com uma determinada marca. Quando o produto comprado é de melhor qualidade, a mesma empresa empacota o feijão com a marca considerada top de linha (OZON, 2002).

Ainda observando a embalagem dos produtos, não é possível identificar o local de cultivo e procedência do feijão, bem como a sua cultivar. Conforme citado anteriormente, a cadeia produtiva de feijão é constituída por quatro fases distintas, em que as empresas beneficiadoras adquirem o feijão de produtores por diversos tipos de transações e mecanismos de compra e venda. Na maioria das vezes, torna-se praticamente impossível obter a rastreabilidade em toda a cadeia de produção do feijão, principalmente nas transações efetuadas entre os dois segmentos, de produção e beneficiamento.

### **3.2. Tratamento das amostras**

O tratamento das amostras foi realizado no Laboratório de Radioisótopos, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP). De cada amostra adquirida, retirou-se metade (500 g das amostras com embalagem de 1 kg e 250 g das amostras com embalagem de 500 g) para secagem em estufa, e armazenou-se o restante como contra-amostra, em condições controladas de umidade e temperatura, para eventuais repetições futuras das análises. Sempre se tomou o cuidado de misturar previamente o conteúdo de cada embalagem antes do fracionamento da amostra.

A secagem foi realizada em estufa com circulação mecânica de ar (marca Fanem, modelo 320E) a 50 °C por um período de 24 h. Após esse procedimento, cada amostra foi processada em moinho de facas Retsch modelo GM200 (Figura 6), para redução do tamanho de partículas, por aproximadamente 2 min. Foi utilizada faca de titânio no moinho, para evitar possíveis contaminações com ferro e outros elementos químicos de interesse encontrados no aço inoxidável. Após o processo de moagem, as amostras foram envasadas em frascos de vidro âmbar com tampa de rosca previamente lavados com solução de ácido nítrico 1:1, devidamente identificadas e armazenadas.



**Figura 6** - Moinho de facas Retsch modelo GM200, com detalhes do recipiente de polietileno e da faca de titânio utilizados para moagem das amostras de feijão

### 3.3. Análise por ativação neutrônica para caracterização química

#### 3.3.1. Preparo e irradiação com nêutrons

A caracterização química elementar das amostras de feijão conduzida por INAA foi efetuada no Laboratório de Radioisótopos (LRi), CENA/USP. Porções analíticas de aproximadamente 400 mg das amostras previamente secas e moídas foram transferidas para cápsulas de polietileno tipo W de alta densidade e pureza, com 12 mm de altura e 8 mm de diâmetro, específicas para irradiação com nêutrons, fabricadas pela empresa *Posthumus Plastics*, localizada em *Beverwijk*, Holanda. Após serem lacradas com bastão de quartzo incandescente, as amostras encapsuladas foram divididas em lotes identificados como RX, RY, RZ, SI e SJ no sistema da qualidade implementado no LRi.

Para o controle da qualidade analítica, em cada lote de amostras foram adicionados os materiais de referência certificados SRM 1515 *Apple Leaves* e SRM 1575 *Pine Needles*, ambos produzidos pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST), Estados Unidos, e INCT-OBTL-5 *Oriental Basma Tobacco Leaves*, produzido pelo *Institute of Nuclear Chemistry and Technology*, Polônia. Cápsulas vazias (branco analítico) também foram irradiadas para a detecção de

possíveis elementos químicos contaminantes na matriz do polietileno, de modo a permitir a realização de correção, caso necessária. Para cada cápsula com amostra, foram intercalados dois fragmentos de aproximadamente 10 mg de fio de liga de Ni Cr com composição química conhecida e homogeneidade comprovada (FRANÇA et al., 2003) para monitoração do fluxo de nêutrons. A Figura 7 mostra as cápsulas e os monitores de fluxo utilizados.



**Figura 7** – Cápsulas de polietileno de alta pureza utilizadas para acondicionamento das amostras de feijão para irradiação com nêutrons, mostrando também ligas de Ni-Cr como monitores de fluxo de nêutrons

Os lotes contendo as amostras encapsuladas foram enviados ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Comissão Nacional de Energia Nuclear (IPEN/CNEN), na cidade de São Paulo, SP, para serem irradiados durante 4 h, sob fluxo de nêutrons térmicos da ordem de  $5,9 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , no reator nuclear de pesquisas IEA-R1.

### 3.3.2. Detecção da radioatividade e cálculos

A radioatividade induzida foi medida por espectrometria gama de alta resolução no Laboratório de Radioisótopos, CENA/USP (Figura 8), empregando detectores de germânio hiperpuro fabricados pela ORTEC, GEM45190,

GEM50P4-83 e GMX50220 com eficiências relativas de 45 %, 50 % e 50 % no fotopico de 1332 keV do  $^{60}\text{Co}$ , respectivamente.



**Figura 8** - Sala de espectrometria gama do Laboratório de Radioisótopos (CENA/USP), Piracicaba – SP, onde foram realizadas as medições da radioatividade induzida nas amostras

Para permitir a detecção de radionuclídeos com diferentes meias-vidas, foram realizadas quatro medições para cada amostra, com tempos de decaimento aproximados de 3, 6, 12 e 30 dias, segundo o protocolo estabelecido no LRI. A informação sobre as condições de realização das detecções para os lotes RX, RY, RZ, SI e SJ encontra-se na Tabela 7.

Após deconvolução dos espectros de radiação gama, as concentrações dos elementos foram calculadas pelo método paramétrico  $k_0$  conforme procedimento descrito em Bacchi et al. (2000). A avaliação dos espectros e todos os cálculos das concentrações foram realizados pelo programa de computador Quantu (BACCHI; FERNANDES, 2003). O protocolo para a estimativa das incertezas analíticas, contido no programa Quantu, envolve a combinação das incertezas individuais de cada etapa do procedimento analítico, ou seja, pesagem, fluxo de nêutrons, estatística de contagem, eficiência de detecção, correção de auto-atenuação de radiação gama e padronização por constantes. Também é determinada a umidade

das amostras para correção da massa e apresentação dos resultados em matéria seca.

**Tabela 7** - Condições em que foram realizadas as detecções da radioatividade induzida nas amostras e materiais de referência dos cinco lotes irradiados com nêutrons

Lote	Deteção	Detector	Distância (cm)	Tempo de deteção (segundos)	Tempo de decaimento (dias)
RX	1	GEM 45190	4,32	900	3
	2	GMX 50220	2,84	1800	6
	3	GEM 50P4-83	0,54	3600	14
	4	GEM 45190	0,58	7200	27
RY	1	GEM 50P4-83	6,67	900	4
	2	GEM 45190	1,45	1800	7
	3	GMX 50220	3,79	3600	14
	4	GEM 45190	0,48	7200	29
RZ	1	GEM 45190	14,05	900	3
	2	GMX 50220	3,82	1800	7
	3	GEM 50P4-83	0,53	3600	15
	4	GEM 50P4-83	0,54	7200	37
SI	1	GMX 50220	2,81	900	4
	2	GEM 50P4-83	0,53	1800	7
	3	GMX 50220	0,81	3600	17
	4	GEM 50P4-83	0,34	7200	37
SJ	1	GEM 50P4-83	2,27	900	3
	2	GMX 50220	2,84	1800	7
	3	GEM 50P4-83	0,80	3600	15
	4	GMX 50220	0,81	7200	37

### 3.4. Composição centesimal

Os teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos foram obtidos de acordo com a metodologia indicada pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2006).

### **3.4.1. Determinação de umidade**

O método utilizado foi o gravimétrico, baseado na evaporação da água presente na amostra, pela ação do calor. Para obter-se a quantidade de água, foi pesado aproximadamente 1 g de amostra, já moída e homogeneizada, em bandejas de alumínio previamente taradas. Essas bandejas foram colocadas em estufa por aproximadamente 24 h, a 105 °C, até peso constante. Em seguida, foi pesada a bandeja contendo a amostra seca e o resultado foi obtido por diferença entre massa inicial e massa final, antes e depois da secagem. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

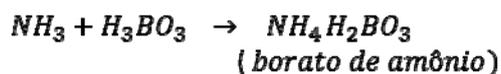
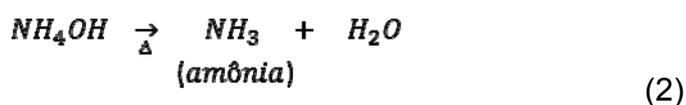
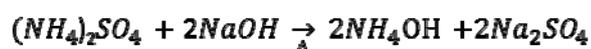
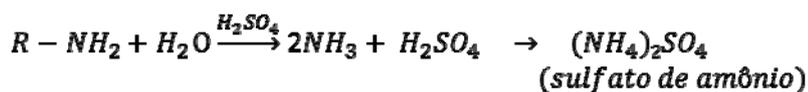
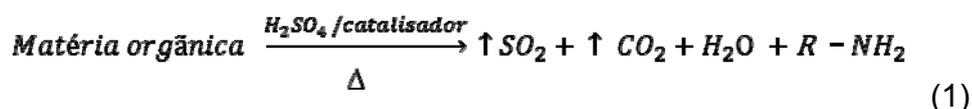
### **3.4.2. Determinação de cinzas**

O teor de resíduo mineral físico foi obtido por gravimetria, no qual a amostra foi calcinada em forno do tipo mufla, marca EDGCON modelo 3P, para eliminar a matéria orgânica. Pesou-se 1 g de amostra em um cadinho previamente seco e tarado. Esse cadinho foi colocado no interior da mufla, onde a temperatura foi aumentada gradativamente até 550 °C e mantida por 4 h. Em seguida, o cadinho foi transferido para dessecador e, após atingir temperatura ambiente, pesado, sendo então obtido o teor de cinzas por diferença (resultado transformado em %). Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

### **3.4.3. Determinação de proteínas**

Para a determinação da proteína contida na amostra, foi utilizado o método de micro-Kjeldahl, em função da quantidade de amostra que é empregada nas determinações. A medição do nitrogênio total proposta por Kjeldahl, em 1883, ainda é muito utilizada, sem grandes modificações, por se tratar de um método confiável e bem estabelecido para determinar nitrogênio. Baseia-se na decomposição da matéria orgânica da amostra pelo ácido sulfúrico, em presença de catalisador, a aproximadamente 350 °C. O nitrogênio presente na solução ácida resultante é determinado após destilação por arraste a vapor, seguida de titulação com ácido sulfúrico diluído.

Porção analítica de 0,1 g de amostra foi digerida com ácido sulfúrico e mistura catalisadora contendo selenito de sódio, sulfato de cobre e sulfato de sódio, em bloco digestor por 4 h. Durante a digestão, todo o carbono e o hidrogênio contidos na amostra foram oxidados a gás carbônico e água e o nitrogênio foi reduzido e transformado em sulfato de amônio, conforme mostra a equação 1. Após a etapa da digestão, foi realizada a destilação, em meio básico, por meio da adição de hidróxido de sódio (NaOH) 11 N, para a liberação da amônia, que foi recolhida em solução de ácido bórico, formando borato de amônio (equação 2). Este borato formado foi quantificado por titulação com ácido sulfúrico 0,1 mol L<sup>-1</sup>.



Para a quantificação de proteína bruta, multiplica-se o valor do nitrogênio total encontrado com o método Kjeldahl por um fator que converte o nitrogênio em proteína. Convencionalmente, em amostras de alimentos, a proteína bruta é expressa pelo fator 6,25, considerando que a maioria das proteínas contém nas suas moléculas aproximadamente 16 % de nitrogênio.

#### 3.4.4. Determinação de extrato etéreo (lipídeos)

A quantidade de gordura, ou extrato etéreo, foi determinada utilizando o extrator de Soxhlet. Para a extração, foi utilizado 1 g de amostra, colocada em papel filtro e deixada em refluxo contínuo por 4 h, empregando hexano como solvente, à

temperatura de 45 - 50 °C. Após recuperação do solvente, os tubos foram retirados e colocados em estufa por 12 h a 100 °C, deixando-os esfriar em dessecador e pesados. Obteve-se a quantidade de lipídeos por gravimetria, determinando-se a massa do extrato etéreo depositado nos tubos, tarados previamente.

Conforme já citado anteriormente, o feijão em geral possui baixo teor de lipídeos (SGARBIERI, 1989; RAMÍREZ-CARDENAS; LEONEL; COSTA, 2008; BRIGIDE; CANNIATI-BRAZACA, 2011; TACO, 2011). Assim sendo, para esta análise em específico, optou-se por selecionar uma amostra de cada tipo comercial, de forma aleatória, totalizando dez amostras que foram analisadas em triplicata.

### **3.4.5. Cálculo de carboidratos**

A quantidade de carboidratos presentes nas amostras foi calculada de acordo com a equação 3, por diferença:

$$\% \text{carboidratos} = 100 - (\% \text{umidade} + \% \text{cinzas} + \% \text{proteínas} + \% \text{gordura}) \quad (3)$$

O cálculo de carboidratos é baseado no princípio de que o alimento é composto por água, minerais, proteínas, gorduras, fibras e carboidratos e, somando todos esses componentes, o valor deve completar 100 %. As fibras são carboidratos não digeríveis, sendo contabilizadas no teor de carboidratos totais.

## **3.5. Determinação de fatores antinutricionais**

### **3.5.1. Ácido fítico**

A quantidade de ácido fítico nas amostras de feijão foi determinada segundo o método descrito por Grynspan e Cheryan (1989).

As amostras foram adicionadas de 10 mL de solução de HCl 0,65 mol L<sup>-1</sup>, e agitadas manualmente com agitador de vidro de 10 em 10 min por um período de 1 h. Posteriormente, centrifugaram-se as amostras a 3000 rpm por mais 10 min. Na sequência, foram coletados 2 mL do sobrenadante que foi diluído em água destilada em balão volumétrico de 25 mL.

Um volume de 10 mL da solução do balão foi transferido para bureta preparada com resina de troca aniônica Amberlite IRA 410 marca Vetec, onde a solução eluiu através da resina a uma velocidade de 1 gota por segundo, descartando-se posteriormente o eluído. Em seguida, 15 mL de solução de NaCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> foram adicionados à coluna, sendo o eluído descartado também. Essa eluição foi realizada para remoção de impurezas. Posteriormente, foram então adicionados à coluna 15 mL de solução de NaCl 0,7 mol L<sup>-1</sup> para eluir o ácido fítico da resina, e recolheu-se o eluído em béquer. Para todas as eluições, a velocidade foi de 1 gota por segundo. Desse béquer, 5 mL foram transferidos para tubo de ensaio e adicionado 1 mL de reagente de Wade de cor roxa escura (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O a uma concentração de 3 g L<sup>-1</sup> e ácido sulfosalicílico a uma concentração de 0,3 g L<sup>-1</sup>) com agitação vigorosa. Na presença do ácido fítico, o ferro é removido e a coloração do reagente de Wade diminui de intensidade.

Após 15 min, foi realizada a leitura da absorbância a 500 nm em espectrofotômetro Femto modelo 700 Plus. A concentração de ácido fítico foi obtida a partir da construção de curva padrão, com solução de ácido fítico padrão 80180 Fluka Sigma-Aldrich 40 %, na faixa de concentração de 0 a 60 mg L<sup>-1</sup>, sendo os resultados expressos em mg de ácido fítico/g de amostra.

### **3.6. Análise estatística**

Para a análise estatística de todos os resultados, foram calculados a média das triplicatas e o respectivo desvio padrão. A comparação entre os valores obtidos para as diferentes amostras foi feita pelos testes ANOVA e Duncan em nível de 95 % de confiança (MONTGOMERY, 1991), gráfico de controle de Shewhart (MONTGOMERY, 2008), MANOVA e *Cluster Analysis* (CA) (JOHNSON; WICHERN, 2007). Para todas as análises, foi utilizado o pacote estatístico *Statistical Analysis System* (SAS, 1996).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análise por ativação neutrônica

#### 4.1.1. Qualidade da determinação analítica

A Tabela 8 mostra os resultados da concentração dos elementos químicos determinados nos materiais de referência certificados.

**Tabela 8** - Concentrações e respectivas incertezas expandidas ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) obtidas e certificadas dos elementos químicos nos materiais de referência certificados

	<i>NIST SRM-1515</i> ( <i>Apple Leaves</i> )		<i>NIST SRM-1575</i> ( <i>Pinne Needles</i> )		<i>INCT-OBTL-5</i> ( <i>Tobacco Leaves</i> )					
	Valor obtido	Valor certificado	Valor obtido	Valor certificado	Valor obtido	Valor certificado				
	Média	Inc.	Média	Inc.	Média	Inc.	Média	Inc.	Média	Inc.
<b>Br</b>	1,89 ± 0,19		1,8**		7,60 ± 0,40		9,0**		93,5 ± 8,1	87,4 ± 5,4
<b>Ca*</b>	15,5 ± 1,9		15,3 ± 1,0		0,40 ± 0,40		4,1 ± 0,02		38,1 ± 2,2	39,9 ± 1,4
<b>Co</b>	0,09 ± 0,01		0,09**		0,12 ± 0,01		0,10**		0,98 ± 0,03	0,98 ± 0,07
<b>Cs</b>	0,01 ± 0,01		Nd		0,12 ± 0,02		nd		0,3 ± 0,04	0,29 ± 0,02
<b>Fe</b>	75,1 ± 6,2		83,0 ± 5,0		199 ± 13		200 ± 10		1,6 ± 1,1	Nd
<b>K*</b>	15,8 ± 2,1		16,1 ± 1,2		3,78 ± 0,23		3,7 ± 0,02		23 ± 0,8	22,7 ± 0,7
<b>Mo</b>	- ± -		0,09 ± 0,01		0,21 ± 0,14		nd		- ± -	0,41 ± 0,06
<b>Na</b>	36,9 ± 4,9		24,4 ± 1,2		45 ± 6,5		nd		404 ± 54	Nd
<b>Rb</b>	10,0 ± 1,0		10,2 ± 1,5		12,35 ± 0,97		11,7 ± 1,2		19,6 ± 1,1	19,1 ± 1,0
<b>Sc</b>	0,029 ± 0,001		0,03**		0,044 ± 0,001		0,03**		0,63 ± 0,02	0,64 ± 0,03
<b>Zn</b>	10,1 ± 5,7		12,5 ± 0,3		65,5 ± 4,9		nd		52,4 ± 2,4	52,4 ± 1,8

\*Valores em  $\text{g kg}^{-1}$

\*\*Valores de referência não certificados

nd: valor não disponível no certificado

Para avaliação mais robusta da qualidade dos resultados do procedimento analítico, foram calculados os scores ( $E_n$ ) conforme a Equação 4:

$$E_n = \frac{x - X}{\sqrt{U_x^2 + U_X^2}} \quad (4)$$

$x$  = valor de concentração do elemento obtido na análise

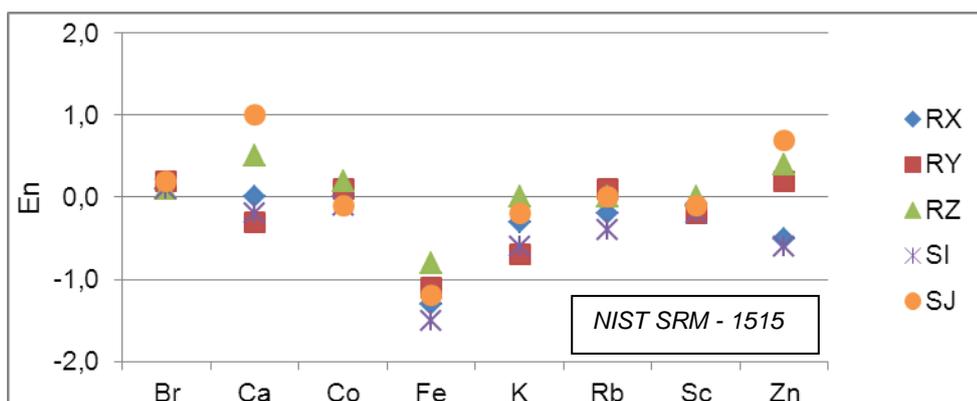
$X$  = valor de concentração do elemento no material de referência certificado

$U_x^2$  = incerteza expandida em nível de 95 % de confiança da análise

$U_X^2$  = incerteza expandida em nível de 95 % de confiança do material de referência certificado

Os valores do score (En) permitem demonstrar a qualidade analítica das determinações químicas, uma vez que são aplicados para a comparação dos resultados de concentrações químicas obtidos com aqueles constantes nos certificados de análise dos materiais de referência, levando em consideração as respectivas incertezas (ISO Guide 13528:2005). São considerados admissíveis os valores entre -1 e 1.

Na Figura 9, pode-se observar que os resultados obtidos no material de referência certificado NIST SRM-1515 corroboram a qualidade do procedimento analítico adotado para a determinação dos elementos químicos nas amostras de feijão. Embora alguns resultados de Fe estejam abaixo de -1, para os outros CRM's irradiados (NIST SRM-1575 e INCT OBTL-5), os resultados deste elemento estiveram dentro dos valores admissíveis.



**Figura 9** - En-scores obtidos a partir das concentrações do material de referência certificado NIST SRM-1515 Apple Leaves analisados em cinco diferentes lotes de amostras (RX, RY, RZ, SI e SJ)

#### 4.1.2. Elementos químicos

A INAA permitiu a determinação de Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, Mo, Na, Rb, Sc e Zn. Os resultados médios ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) para cada tipo comercial de feijão avaliado podem ser observados na Tabela 9, bem como a média ( $n=55$ ) e o desvio padrão relativo (%RSD). Os resultados gerais para todas as amostras de feijão analisadas ( $n=55$ ) estão sumarizados na Tabela 10, que contém o menor e o maior valor encontrado para cada elemento, média e mediana.

**Tabela 9** - Concentração média  $\pm$  desvio padrão de elementos químicos em feijões de diferentes tipos comerciais, resultados em  $\text{mg kg}^{-1}$  de matéria seca

Tipo	Br	Ca	Co	Cs*	Fe	K	Mo	Na	Rb	Sc*	Zn
<b>Carioca (n=16)</b>	0,27 $\pm$ 0,18	1300 $\pm$ 206	0,18 $\pm$ 0,14	37,5 $\pm$ 31,7	64,5 $\pm$ 7,3	15120 $\pm$ 780	1,66 $\pm$ 0,83	0,61 $\pm$ 0,15	17,3 $\pm$ 16,5	4,2 $\pm$ 1,8	29,1 $\pm$ 2,6
<b>Preto (n=12)</b>	1,2 $\pm$ 1,7	1470 $\pm$ 150	0,27 $\pm$ 0,13	25,2 $\pm$ 15,8	75,0 $\pm$ 5,9	15910 $\pm$ 840	2,3 $\pm$ 1,5	2,09 $\pm$ 0,90	15,5 $\pm$ 8,5	3,08 $\pm$ 0,90	28,3 $\pm$ 1,7
<b>Vermelho (n=3)</b>	0,99 $\pm$ 0,26	1110 $\pm$ 280	0,14 $\pm$ 0,09	15,0 $\pm$ 9,7	66,0 $\pm$ 10,3	15370 $\pm$ 790	1,75 $\pm$ 0,58	1,14 $\pm$ 0,89	18,2 $\pm$ 11,0	2,9 $\pm$ 2,6	28,3 $\pm$ 4,4
<b>Bolinha (n=4)</b>	0,23 $\pm$ 0,10	912 $\pm$ 123	0,10 $\pm$ 0,05	23,4 $\pm$ 25,5	56,8 $\pm$ 2,4	13030 $\pm$ 880	1,30 $\pm$ 0,71	0,91 $\pm$ 0,20	9,3 $\pm$ 1,6	2,1 $\pm$ 1,2	26,33 $\pm$ 0,30
<b>Rajado (n=3)</b>	0,63 $\pm$ 0,08	971 $\pm$ 47	0,16 $\pm$ 0,11	34,4 $\pm$ 15,7	62,1 $\pm$ 9,1	13999 $\pm$ 600	1,42 $\pm$ 0,53	0,99 $\pm$ 0,17	11,9 $\pm$ 2,5	2,7 $\pm$ 1,8	29,3 $\pm$ 2,5
<b>Fradinho (n=4)</b>	0,75 $\pm$ 0,71	608 $\pm$ 82	0,02 $\pm$ 0,02	59,8 $\pm$ 13,0	61,7 $\pm$ 9,7	12100 $\pm$ 540	2,7 $\pm$ 1,3	10,2 $\pm$ 5,2	16,9 $\pm$ 4,1	2,5 $\pm$ 1,3	35,0 $\pm$ 2,0
<b>Branco (n=5)</b>	0,70 $\pm$ 0,25	1260 $\pm$ 43	0,16 $\pm$ 0,04	61,4 $\pm$ 21,9	57,9 $\pm$ 6,0	15430 $\pm$ 680	4,6 $\pm$ 1,6	1,38 $\pm$ 0,50	2,66 $\pm$ 0,43	1,34 $\pm$ 0,50	27,9 $\pm$ 2,7
<b>Jalo (n=3)</b>	0,32 $\pm$ 0,25	939 $\pm$ 134	0,15 $\pm$ 0,09	17,7 $\pm$ 6,9	70,7 $\pm$ 21,5	14780 $\pm$ 1330	0,94 $\pm$ 0,48	1,03 $\pm$ 0,49	14,2 $\pm$ 7,5	3,8 $\pm$ 3,5	34,4 $\pm$ 3,3
<b>Rosinha (n=2)</b>	1,1 $\pm$ 1,3	1290 $\pm$ 37	0,25 $\pm$ 0,18	38,9 $\pm$ 34,7	66,8 $\pm$ 6,0	15280 $\pm$ 74	0,94 $\pm$ 0,53	0,60 $\pm$ 0,17	15,4 $\pm$ 2,4	1,46 $\pm$ 0,23	32,6 $\pm$ 4,1
<b>Cavalo (n=3)</b>	0,40 $\pm$ 0,28	1310 $\pm$ 152	0,11 $\pm$ 0,07	6,1 $\pm$ 3,86	62,9 $\pm$ 8,4	16130 $\pm$ 806	5,37 $\pm$ 2,55	1,53 $\pm$ 0,59	2,6 $\pm$ 1,05	1,12 $\pm$ 0,62	36,3 $\pm$ 3,2
<b>Média (n=55)</b>	0,64	1214	0,18	28,7	65,9	14950	2,1	1,7	14,1	3,1	29,5
<b>%RSD (n=55)</b>	144	14	65	80	13	5,4	53	74,5	81	54	8,6

\* Resultados expressos em  $\mu\text{g kg}^{-1}$

**Tabela 10** – Valores máximo e mínimo, média e mediana (n=55) da composição química de feijão, resultados em mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca

	Br	Ca	Co	Cs	Fe	K	Mo	Na	Rb	Sc	Zn
Menor valor	0,01	513	0,01	0,004	49,5	11790	0,45	0,45	1,9	0,001	23,2
Maior valor	6,4	1750	0,65	0,13	94,2	17100	7,1	15,9	78,0	0,008	38,6
Média	0,66	1212	0,19	0,03	66,9	14930	2,6	3,7	14,7	0,003	29,8
Mediana	0,46	1262	0,16	0,02	65,6	15230	1,7	0,92	12,1	0,003	29,0

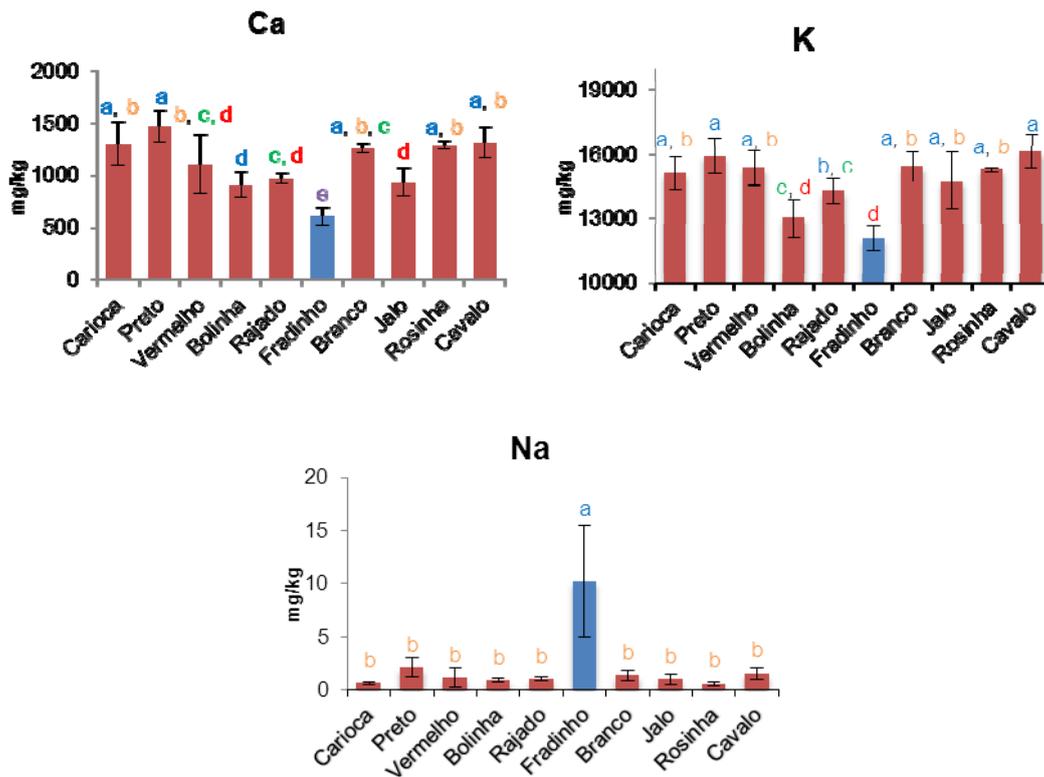
Em relação aos macronutrientes, as maiores concentrações médias de Ca foram apresentadas pelos tipos comerciais preto ( $1470 \pm 150$  mg kg<sup>-1</sup>), cavalo ( $1310 \pm 152$  mg kg<sup>-1</sup>) e carioca ( $1300 \pm 206$  mg kg<sup>-1</sup>), respectivamente, e a menor concentração média pelo tipo fradinho ( $608 \pm 82$  mg kg<sup>-1</sup>), conforme a Tabela 10. Esses valores foram inferiores aos reportados por Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008), que encontraram para o feijão preto cultivar Diamante Negro uma concentração de  $1632$  mg kg<sup>-1</sup> de Ca, e para os feijões tipo carioca cultivares Pérola e Talismã uma concentração de  $1711$  mg kg<sup>-1</sup> e  $1786$  mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. No estudo de Beebe, Gonzales e Reginfo (2000), encontrou-se uma concentração média (n=1031) de  $1466 \pm 412$  mg kg<sup>-1</sup> de Ca. Neste trabalho, a concentração média de Ca (n=55) obtida para todos os tipos comerciais avaliados foi de  $1214$  mg kg<sup>-1</sup>. Considerando-se os valores médios por tipo comercial, nota-se que os feijões branco, rosinha, carioca e vermelho apresentaram, nessa ordem, as concentrações de Ca mais próximas da média geral.

Para K, as maiores concentrações foram apresentadas pelo feijão tipo cavalo ( $16130 \pm 806$  mg kg<sup>-1</sup>) e preto ( $15910 \pm 840$  mg kg<sup>-1</sup>), e a menor concentração pelo feijão tipo fradinho ( $12100 \pm 540$  mg kg<sup>-1</sup>). A concentração média para todos os tipos comerciais avaliados (n=55) foi de  $14950$  mg kg<sup>-1</sup>, com desvio padrão relativo de 5,4 %. O tipo comercial com a concentração mais próxima da média geral (n=55) foi o carioca ( $15120 \pm 780$  mg kg<sup>-1</sup>).

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) apresentou baixas concentrações de Na, entre  $0,60 \pm 0,17$  mg kg<sup>-1</sup> e  $2,09 \pm 0,9$  mg kg<sup>-1</sup>. Já o feijão fradinho (*Vigna unguiculata*) apresentou uma concentração bem superior, de  $10,2 \pm 5,2$  mg kg<sup>-1</sup>, diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) de todos os demais tipos.

A Figura 10 apresenta as concentrações médias dos macronutrientes Ca, K e Na em todos os tipos comerciais de feijão analisados. O teste estatístico de Duncan foi aplicado para comparar as médias assumindo o nível de confiança de 95 %,

representado pelas letras nas colunas. Por convenção, admite-se que colunas com alguma letra em comum não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). Deste modo, verifica-se que houve diferença estatística para Ca, em que o feijão fradinho diferiu dos demais tipos ( $p < 0,05$ ), apresentando concentração bem menor do elemento. Para K, também houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ), e novamente o feijão fradinho apresentou a menor concentração diferindo dos demais tipos, exceto do feijão bolinha.

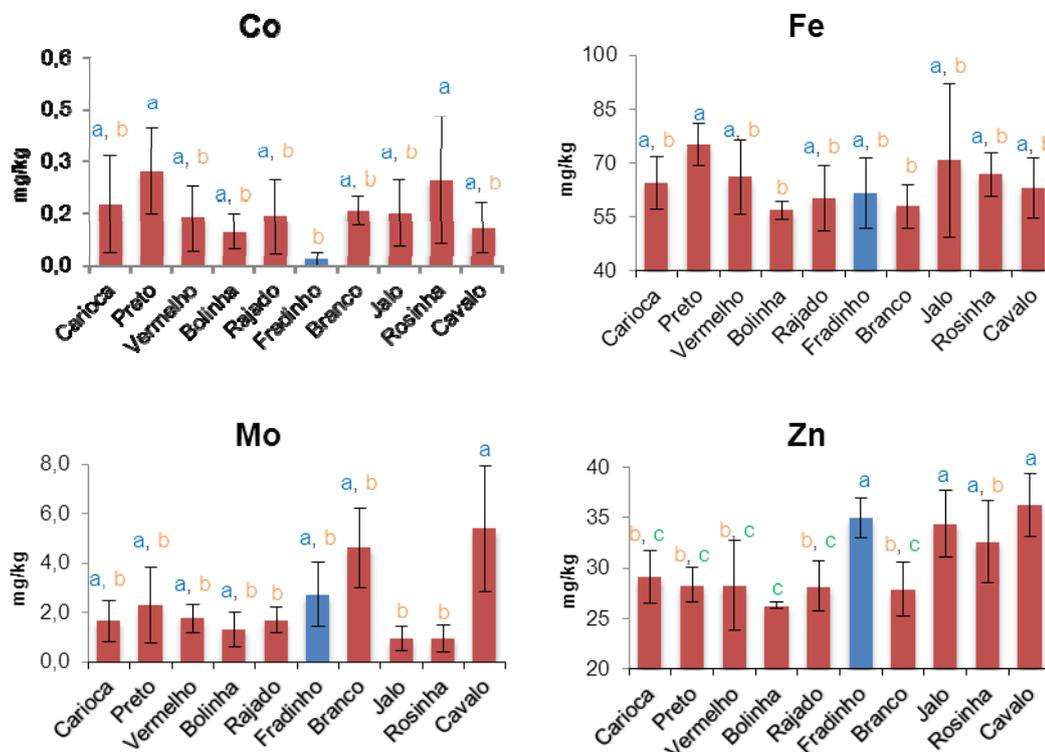


**Figura 10** - Concentração média e desvio padrão dos macronutrientes Ca, K e Na nos diferentes tipos comerciais de feijão. Colunas com alguma letra em comum não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $p < 0,05$ )

Para os micronutrientes Co, Fe, Mo e Zn, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tipos comerciais, conforme mostra a Figura 11. O feijão preto apresentou a maior concentração de Co ( $0,27 \pm 0,13 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e o Fradinho uma concentração muito menor que os demais tipos ( $0,02 \pm 0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ ), diferindo estatisticamente tanto do preto quanto do feijão rosinha ( $p < 0,05$ ). A variabilidade da concentração de Co para um mesmo tipo comercial foi elevada, apresentando altos coeficientes de variação, conforme ilustra a Figura 12, que mostra dados de variação para os elementos Ca, Co, Fe, K, Mo, Na e Zn. Essa informação indica que houve grande diferença entre as amostras de um mesmo tipo comercial. A concentração

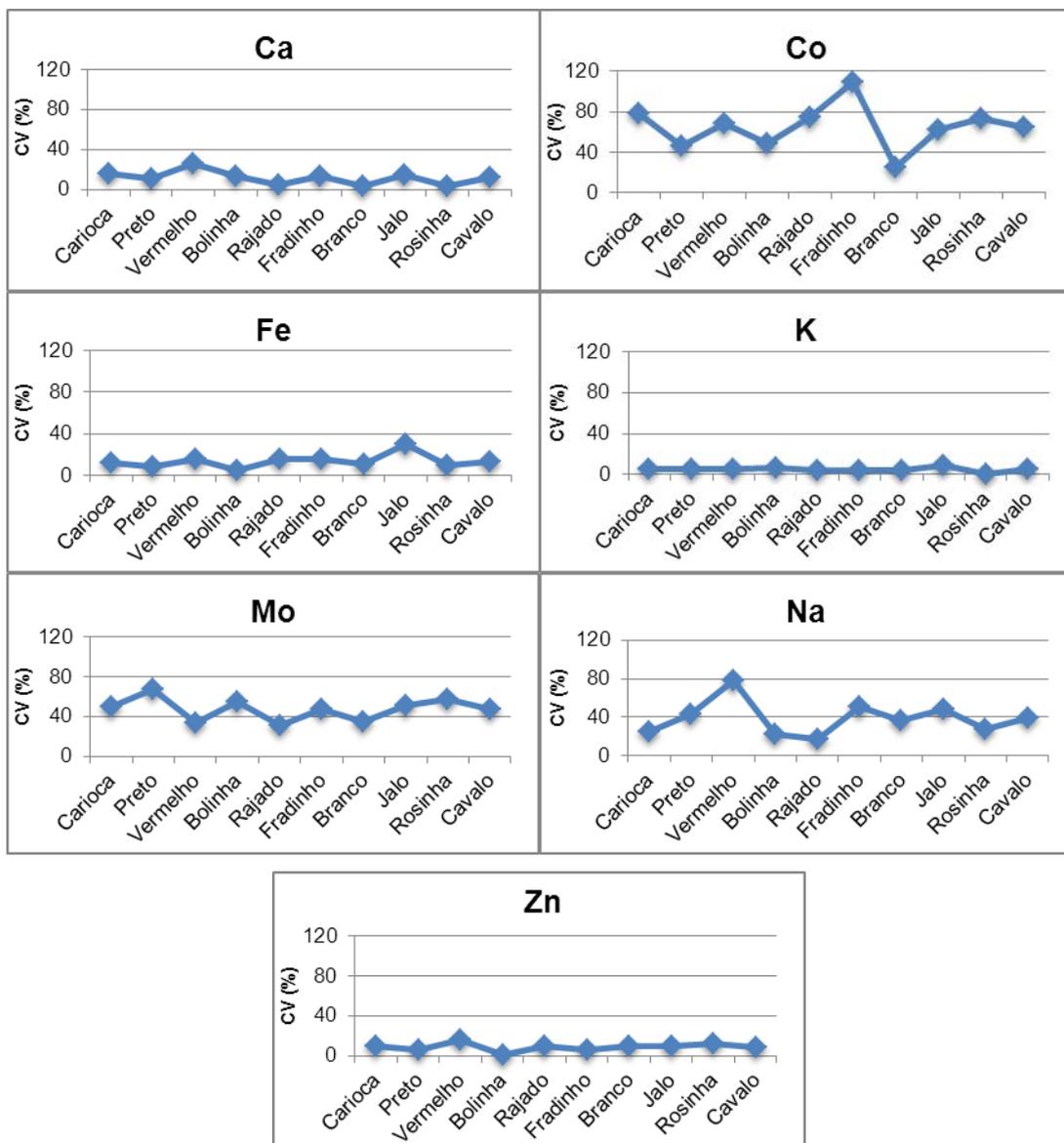
média de Co (n=55) incluindo todos os tipos comerciais foi de  $0,18 \text{ mg kg}^{-1}$ , com um desvio padrão relativo de 65 %.

As concentrações médias de Fe variaram de  $56,8 \pm 2,4 \text{ mg kg}^{-1}$  no feijão bolinha a  $75,0 \pm 5,9 \text{ mg kg}^{-1}$  no feijão preto. O feijão preto diferiu estatisticamente dos tipos bolinha e branco ( $p < 0,05$ ) para este elemento. A concentração média para todas as amostras (n=55) foi de  $65,9 \text{ mg kg}^{-1}$  com desvio padrão relativo de 13 %. Os valores encontrados neste trabalho foram próximos aos de Beebe, Gonzales e Reginfo (2000), que encontraram um valor médio (n=1031) de  $55 \pm 8,3 \text{ mg kg}^{-1}$  de Fe em feijão comum, com um valor máximo de  $89 \text{ mg kg}^{-1}$ . Na avaliação de Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008), o feijão preto (cultivar Diamante Negro) apresentou uma concentração mais elevada de Fe, com  $91,6 \text{ mg kg}^{-1}$ , e também o carioca, com  $73,5 \text{ mg kg}^{-1}$  (cultivar Diamante) e  $78,2 \text{ mg kg}^{-1}$  (cultivar Talismã). Neste estudo, os tipos que tiveram concentrações médias mais próximas da média geral (n=55) foram o vermelho ( $65,0 \pm 10,3 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e o carioca ( $64,5 \pm 7,3 \text{ mg kg}^{-1}$ ). A Figura 13 mostra a concentração de Fe para todas as 55 amostras, em um gráfico de controle de Shewart.



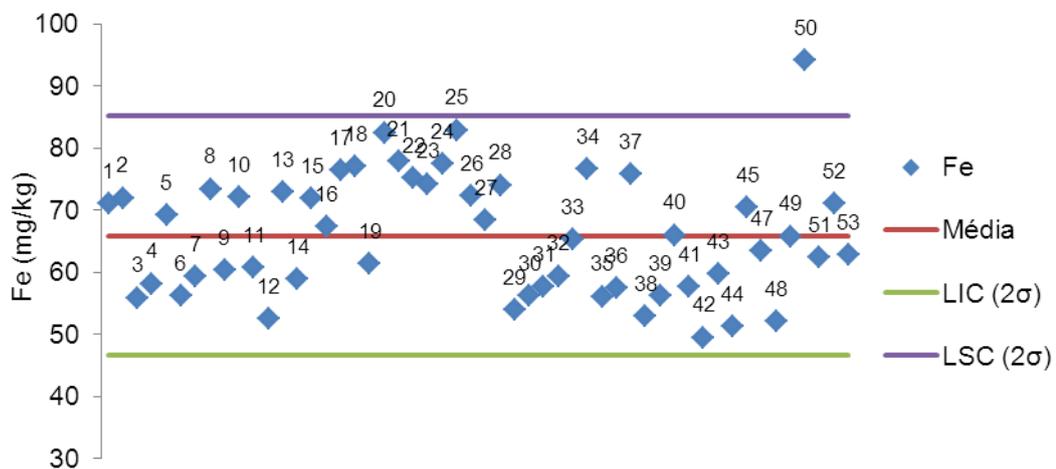
**Figura 11** - Concentração média e desvio padrão dos micronutrientes Co, K, Mo e Zn em diferentes tipos comerciais de feijão. Colunas com alguma letra em comum não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $p < 0,05$ )

As maiores concentrações médias de Mo foram apresentadas pelos feijões do tipo cavalo ( $5,37 \pm 2,55 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e branco ( $4,6 \pm 1,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ). O feijão cavalo diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) de todos os outros feijões, exceto do branco. As menores concentrações foram apresentadas pelos tipos jalo ( $0,94 \pm 0,48 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e rosinha ( $0,94 \pm 0,53 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Considerando todos os tipos de feijão analisados, a concentração média de Mo ( $n=55$ ) foi de  $2,1 \text{ mg kg}^{-1}$ , com um desvio padrão relativo de 53 %, indicando uma alta variabilidade nos resultados. A Figura 12 mostra que a elevada variabilidade ocorreu também dentro de cada tipo comercial e não apenas entre os diferentes tipos. O feijão preto apresentou concentração de Mo mais próxima do valor da média ( $2,28 \pm 1,53 \text{ mg kg}^{-1}$ ).



**Figura 12** - Coeficiente de variação (%) de Ca, Co, Fe, K, Mo, Na e Zn dentro de cada tipo comercial de feijão

As concentrações médias de Zn variaram de  $26,3 \pm 0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ , no feijão bolinha, a  $36,3 \pm 3,2 \text{ mg kg}^{-1}$ , no feijão cavalo, com uma concentração média para todas as 55 amostras de  $29,5 \text{ mg kg}^{-1}$ , com desvio padrão relativo de 8,6 %. Beebe, Gonzales e Reginfo (2000) encontraram  $35 \pm 5 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn em feijão comum. Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008) encontraram Zn variando entre  $25,1 \text{ mg kg}^{-1}$  a  $35,6 \text{ mg kg}^{-1}$  em cinco variedades de feijão. Os feijões tipo cavalo, fradinho, rosinha e jalo diferiram significativamente dos demais tipos ( $p < 0,05$ ), apresentando as maiores concentrações desse elemento. Com uma concentração média ( $n=16$ ) de  $29,1 \pm 2,6 \text{ mg kg}^{-1}$ , o feijão tipo carioca foi o que mais se aproximou da concentração média geral para todas as amostras.



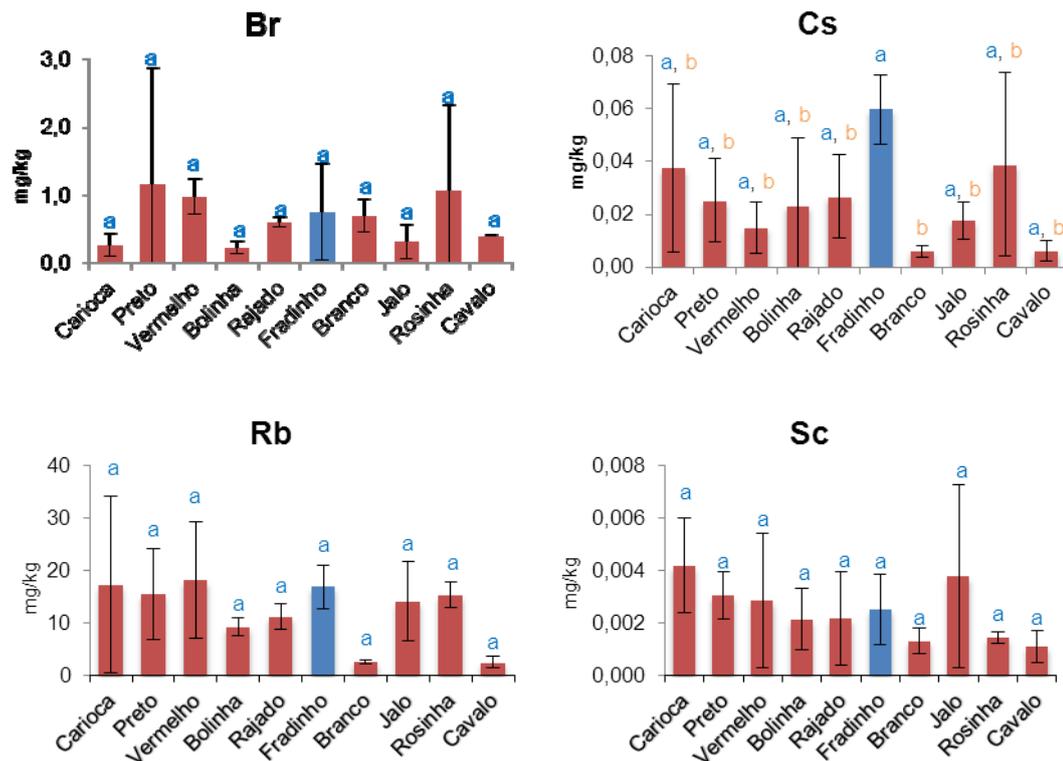
#### LEGENDA

1 a 16: Carioca    29 a 32: Bolinha    36 a 38: Rajado    44 a 47: Fradinho    51 e 52: Rosinha  
 17 a 28: Preto    33 a 35: Vermelho    39 a 43: Branco    48 a 50: Jalo    53 a 55: Cavalo

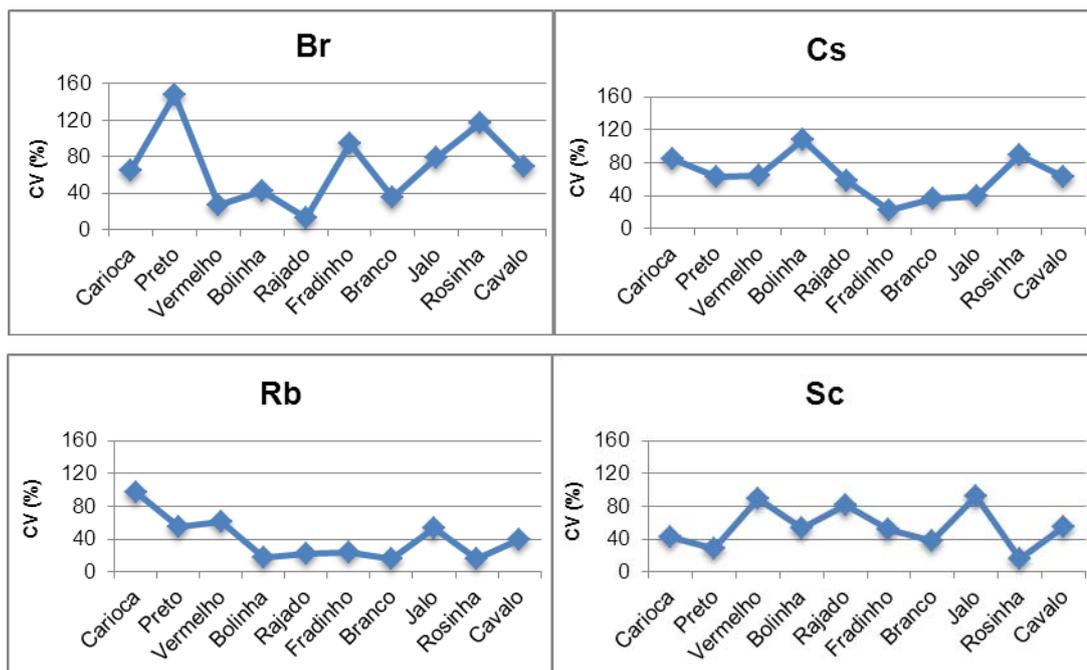
**Figura 13** – Gráfico de controle indicando a concentração de Fe em todas as 55 amostras de feijão (resultados em  $\text{mg kg}^{-1}$  de matéria seca)

Não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações médias de Br, Rb e Sc nos diferentes tipos comerciais de feijão, como pode ser visto na Figura 14. Porém, para os três elementos, os coeficientes de variação foram altos, mostrando novamente grande variabilidade de resultados dentro de um mesmo tipo comercial. Os coeficientes de variação para os elementos Br, Cs, Rb e Sc estão representados na Figura 15. Para Br, os coeficientes de variação foram altos principalmente para os feijões tipo preto, fradinho e rosinha. A concentração média ( $n=55$ ) para todas as amostras foi de  $0,64 \text{ mg kg}^{-1}$ , com desvio padrão relativo de 144 %. O feijão preto apresentou a maior concentração média ( $n=12$ ) de

1,16 mg kg<sup>-1</sup> e desvio padrão de 1,71 mg kg<sup>-1</sup>. As maiores concentrações de Rb foram encontradas nos feijões tipo carioca, vermelho e fradinho, e as menores nos feijões branco e cavalo. Os coeficientes de variação foram altos para os feijões preto, vermelho e principalmente para o carioca. A concentração média de Rb (n=55) foi de 14,1 mg kg<sup>-1</sup>, com um desvio padrão relativo de 81 %.



**Figura 14** - Concentração média e desvio padrão dos elementos químicos Br, Cs, Rb e Sc em diferentes tipos comerciais de feijão. Colunas com alguma letra em comum não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $p < 0,05$ )

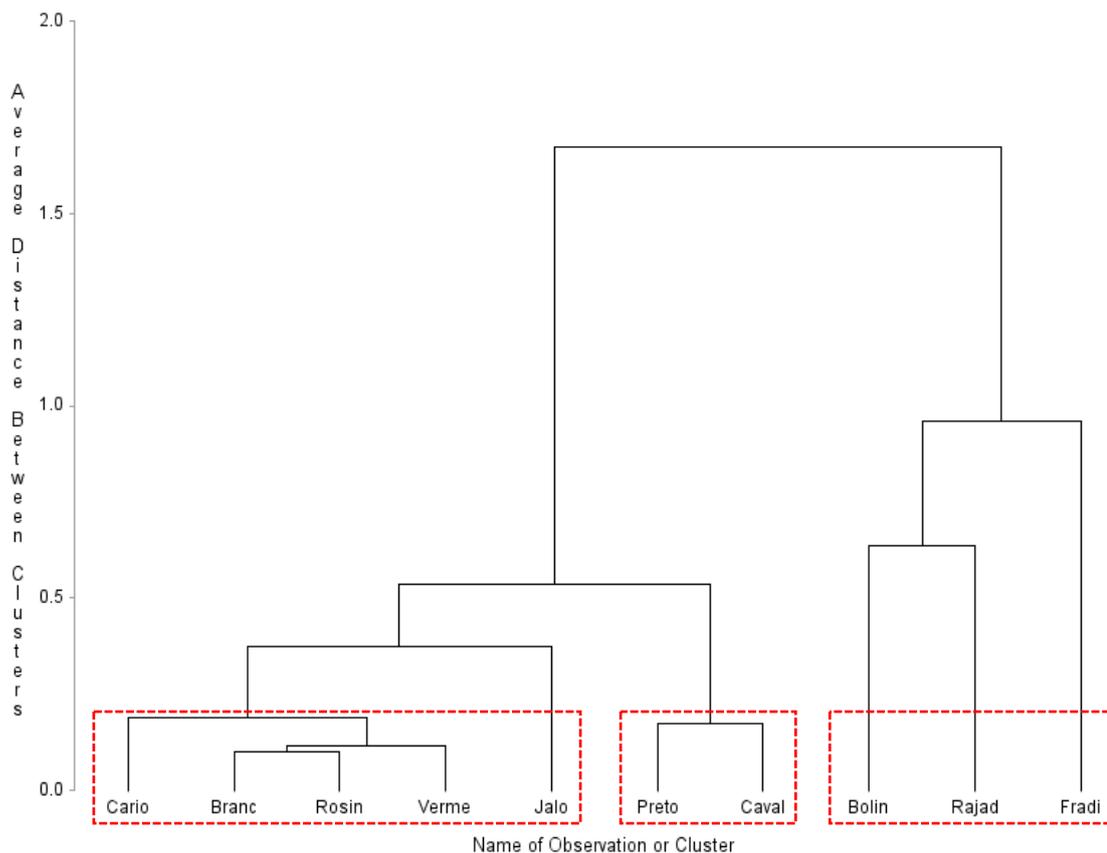


**Figura 15** - Coeficiente de variação (%) dentro de cada tipo comercial de feijão para os elementos Br, Cs, Rb e Sc

O feijão fradinho apresentou a maior concentração de Cs ( $0,060 \pm 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ ), diferindo estatisticamente dos feijões vermelho, branco e cavalo, que tiveram as menores concentrações. Os coeficientes de variação altos também indicam a presença de grande variabilidade nas concentrações do elemento dentro de um mesmo tipo comercial. Santos et al. (2006) avaliaram diversas cultivares de feijão, plantadas em dois locais diferentes do estado de São Paulo, observando que uma mesma cultivar apresentou concentração diversa para alguns elementos químicos, dependendo do local de cultivo. Esse fato foi constatado principalmente para Br, Cs e Rb. Também verificaram que, em um dos locais, as concentrações de Co e K eram relativamente maiores. Nesse estudo, nota-se claramente que o ambiente de cultivo, além da cultivar, interfere nas concentrações de alguns minerais, em especial nos elementos-traço.

Calculando-se o coeficiente de correlação residual, por meio da MANOVA, para os onze elementos químicos determinados, observa-se forte correlação positiva entre Cs e Rb, Fe e Zn, e Fe e Sc ( $p < 0,0001$ ). No estudo de Beebe, Gonzales e Reginfo (2000), também verificou-se correlação positiva entre Fe e Zn em amostras variadas de feijão.

A análise de agrupamento (*Cluster Analysis*), uma técnica estatística multivariada, foi aplicada às amostras de feijão objetivando uma avaliação global das diferenças. O resultado foi expresso graficamente na Figura 16. Observou-se formação de três grandes grupos multivariados para todos os elementos determinados (Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, Mo, Na, Rb, Sc e Zn, 100 % de informação), sendo que a separação pode ser explicada pelas diferenças na análise de variância ANOVA (Teste de Duncan).



**Figura 16** – Dendrograma obtido para todos os tipos comerciais de feijão, considerando as variáveis Br, Ca, Co, Cs, Fe, K, Mo, Na, Rb, Sc e Zn. Cario=carioca, Branc=branco, Rosin=rosinha, Verme=vermelho, Caval=cavalo, Bolin=bolinha, Rajad=rajado, Fradi=fradinho

Houve agrupamento dos feijões carioca, branco, rosinha, vermelho e jalo, diferenciando-se dos demais tipos. Um segundo grupo é formado pelos feijões preto e cavalo, e um terceiro grupo pelos feijões bolinha, rajado e fradinho. Os 3 grupos apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ) testadas através de contrastes multivariados em MANOVA.

#### 4.2. Composição centesimal

O teor médio de umidade, proteínas, cinzas, lipídeos e carboidratos para os tipos comerciais de feijão avaliados são apresentados na Tabela 11. Dados sobre os valores máximo e mínimo, média, mediana e desvio padrão relativo (RSD %) da composição centesimal para as 55 amostras de feijão podem ser observados na Tabela 12.

**Tabela 11** – Composição centesimal  $\pm$  desvio padrão dos tipos comerciais de feijão, resultados em porcentagem da massa total para feijão cru

<b>Tipo</b>	<b>Umidade</b>	<b>Proteína</b>	<b>Cinzas</b>	<b>Lipídeos*</b>	<b>Carboidratos**</b>
<b>Carioca (n=16)</b>	7,60 $\pm$ 0,58	22,31 $\pm$ 1,09	4,10 $\pm$ 0,16	2,89 $\pm$ 0,89	63,09 $\pm$ 1,39
<b>Preto (n=12)</b>	8,11 $\pm$ 0,20	23,72 $\pm$ 1,89	4,47 $\pm$ 0,37	1,79 $\pm$ 0,04	61,90 $\pm$ 2,04
<b>Bolinha (n=4)</b>	6,99 $\pm$ 0,37	22,55 $\pm$ 1,10	3,66 $\pm$ 0,20	2,88 $\pm$ 0,46	63,92 $\pm$ 0,94
<b>Vermelho (n=3)</b>	8,21 $\pm$ 0,55	22,71 $\pm$ 0,86	3,82 $\pm$ 0,11	2,89 $\pm$ 0,41	62,38 $\pm$ 1,39
<b>Rajado (n=3)</b>	7,66 $\pm$ 0,16	21,61 $\pm$ 1,15	3,62 $\pm$ 0,23	1,25 $\pm$ 0,16	65,85 $\pm$ 1,37
<b>Branco (n=5)</b>	8,98 $\pm$ 0,78	21,96 $\pm$ 2,00	4,13 $\pm$ 0,16	1,47 $\pm$ 0,14	63,45 $\pm$ 1,60
<b>Fradinho (n=4)</b>	7,91 $\pm$ 2,00	21,78 $\pm$ 1,42	3,37 $\pm$ 0,27	1,54 $\pm$ 0,31	65,40 $\pm$ 1,31
<b>Jalo (n=3)</b>	7,99 $\pm$ 0,48	21,41 $\pm$ 0,37	3,85 $\pm$ 0,35	1,29 $\pm$ 0,24	65,47 $\pm$ 0,24
<b>Rosinha (n=2)</b>	7,41 $\pm$ 0,06	20,77 $\pm$ 0,49	4,05 $\pm$ 0,09	1,47 $\pm$ 0,54	66,30 $\pm$ 0,65
<b>Cavalo (n=3)</b>	7,50 $\pm$ 0,54	22,37 $\pm$ 1,16	4,31 $\pm$ 0,24	1,34 $\pm$ 0,08	64,48 $\pm$ 1,23
<b>Média</b>	<b>7,87</b>	<b>22,50</b>	<b>4,05</b>	<b>1,88</b>	<b>63,49</b>
<b>%RSD</b>	<b>6,1</b>	<b>6,3</b>	<b>6,1</b>	<b>22</b>	<b>2,3</b>

\* Os resultados de lipídeos são médias de análise em triplicata de uma amostra selecionada aleatoriamente do conjunto de amostras de cada um dos tipos comerciais de feijão. Assim, n=1 para este componente

\*\* Valores obtidos por diferença (100 - umidade - proteína - cinzas - lipídeos)

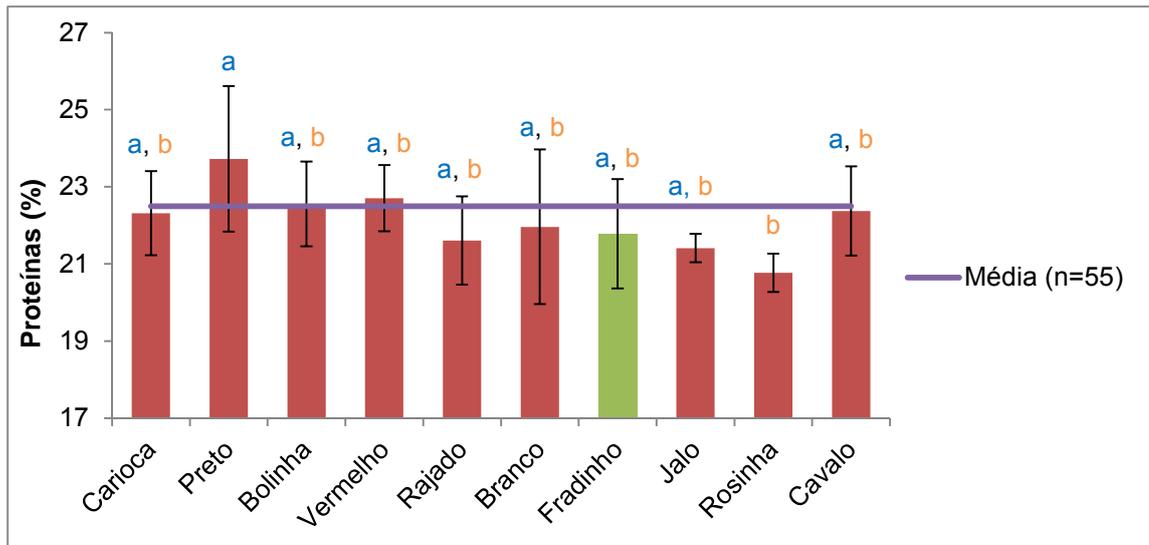
**Tabela 12** – Valores máximos e mínimos, média, mediana (n=55) e desvio padrão relativo (RSD %) da composição centesimal de feijão, resultados em porcentagem da massa total para feijão cru

	<b>Umidade</b>	<b>Proteína</b>	<b>Cinzas</b>	<b>Lipídeos*</b>	<b>Carboidratos</b>
Menor valor	6,33	19,47	3,06	1,07	58,51
Maior valor	9,05	26,56	5,09	3,87	66,76
Média	7,73	22,45	4,04	1,88	64,23
Mediana	7,90	22,43	4,01	1,51	64,20
<b>%RSD</b>	<b>8,2</b>	<b>6,8</b>	<b>9,9</b>	<b>37</b>	<b>2,3</b>

\*Para este componente, n=30

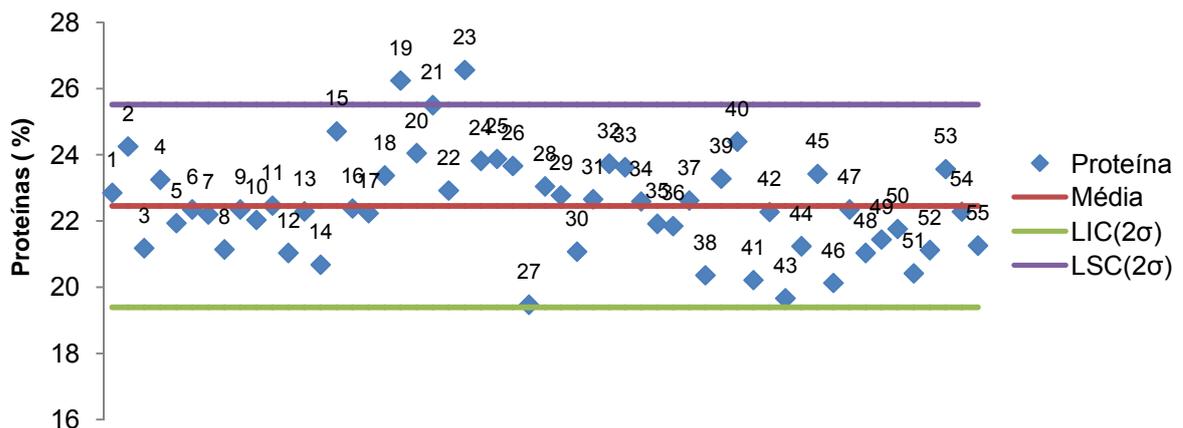
#### 4.2.1 Proteínas

O teor médio de proteínas variou de 20,77 % no feijão rosinha a 23,72 % no feijão preto, que diferiram significativamente entre si ( $p < 0,05$ ) conforme pode ser visto na Figura 17. A média para todas as amostras analisadas (n=55) foi 22,5 %, sendo os feijões cavalo, bolinha e carioca os tipos que apresentaram os teores mais próximos deste valor. Os valores obtidos no presente estudo estão próximos aos de Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008), que encontraram nas diversas variedades estudadas teores de proteína entre 22,57 % e 24,42 %. Já Brigide e Canniatti-Brazaca (2011) obtiveram um teor de 27,4 % de proteínas em feijão carioca cru adquirido no varejo da cidade de Piracicaba, SP. A literatura aponta que o teor de proteínas em feijão varia de 20 % a 30 %, dependendo da cultivar e espécie (YIN et al., 2010).



**Figura 17** – Teor médio de proteínas (% em base seca) para todos os tipos comerciais de feijão. Colunas com alguma letra em comum não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $p < 0,05$ )

O feijão Fradinho da espécie *Vigna unguiculata*, com um teor protéico de 21,78 %, não apresentou diferença significativa quando comparado com feijões comuns da espécie *Phaseolus vulgaris* L. Pinheiro et al. (2013), ao avaliarem a composição centesimal do feijão-caupi, encontraram um teor de proteínas de 27,76 %. O gráfico de controle de Shewart mostra os teores de proteína para todas as amostras de feijão avaliadas neste estudo (Figura 18).

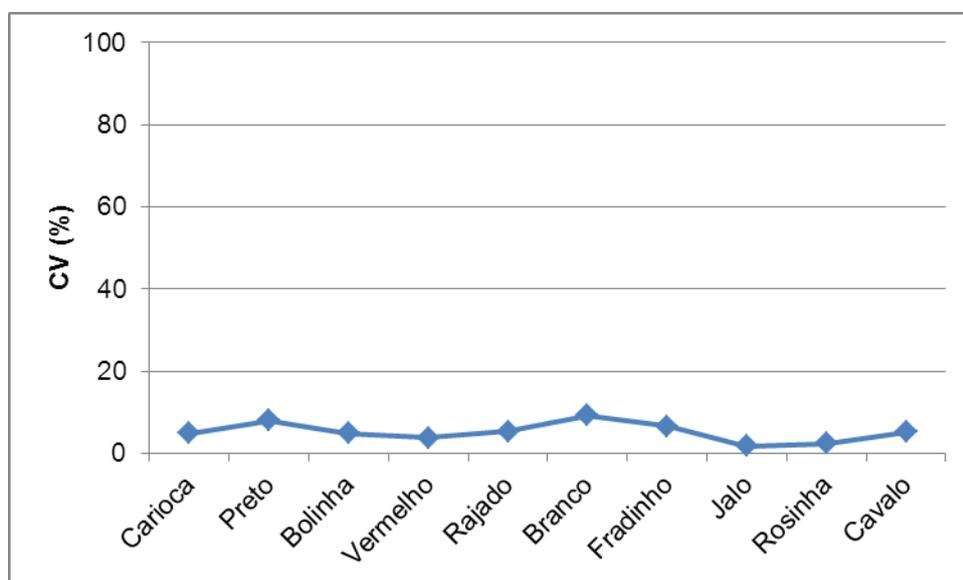


**Figura 18** – Gráfico de controle (n=3) indicando o teor de proteínas nas 55 amostras de feijão (% da massa total) analisadas

#### LEGENDA

1 a 16: Carioca	29 a 32: Bolinha	36 a 38: Rajado	44 a 47: Fradinho	51 e 52: Rosinha
17 a 28: Preto	33 a 35: Vermelho	39 a 43: Branco	48 a 50: Jalo	53 a 55: Cavalo

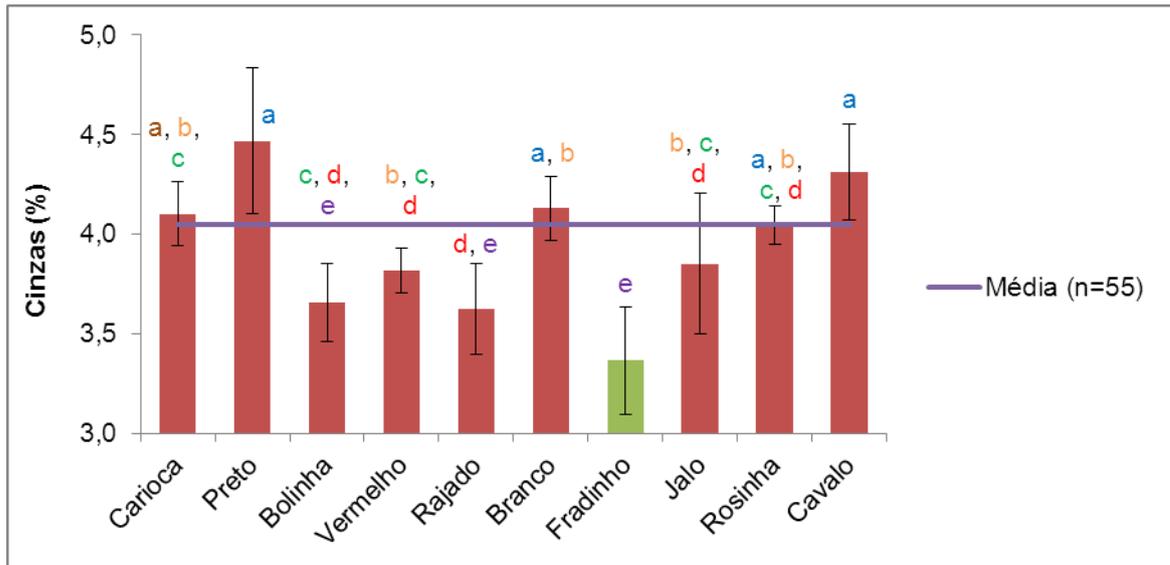
A Figura 19 mostra os coeficientes de variação (%) dos resultados de proteína para os diferentes tipos comerciais de feijão, que foram baixos, mostrando pouca variabilidade dentro de um mesmo tipo comercial.



**Figura 19** - Coeficiente de variação (%) dentro de cada tipo comercial de feijão do teor de proteínas nas amostras

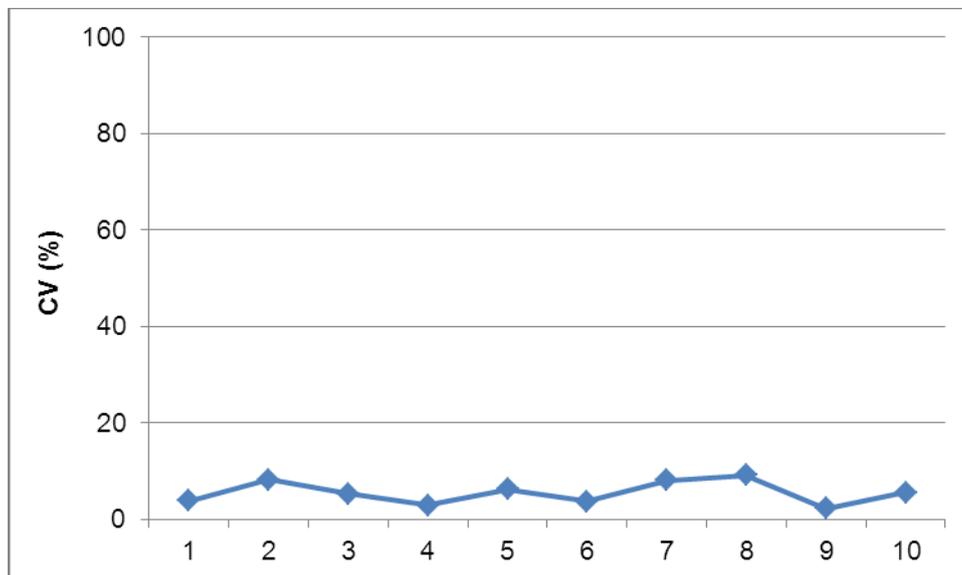
#### 4.2.2. Cinzas

O teor de cinzas representa a fração mineral contida nas amostras. O feijão fradinho apresentou o menor teor de cinzas, com uma média de 3,37 %. Já o feijão preto obteve o maior valor, com 4,47 %. Houve diferença significativa entre os diversos tipos de feijão avaliados, conforme mostra a Figura 21. O teor médio de cinzas para todas as amostras foi de 4,1 %. Colunas com alguma letra em comum não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). Os tipos comerciais que apresentaram teores médios mais próximos desse valor foram rosinha (4,05 %) e carioca (4,10 %). Os resultados foram similares aos reportados na literatura. Brigide e Canniatti-Brazaca (2011) encontraram 4,4 % de cinzas em feijão carioca. No estudo de Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008), obteve-se uma variação de 3,36 % a 4,22 % no teor de cinzas em diversas cultivares de feijão comum. Pinheiro et al. (2013) encontraram 3,56 % de cinzas em feijão da espécie *Vigna unguiculata*.



**Figura 21** – Teor médio de cinzas (% da massa total) para todos os tipos comerciais de feijão. Colunas com alguma letra em comum não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $p < 0,05$ )

A Figura 22 mostra os coeficientes de variação (%) do teor de cinzas para os tipos comerciais de feijão, que ficaram todos abaixo de 20 %, indicando pouca variabilidade dentro de um mesmo tipo comercial.

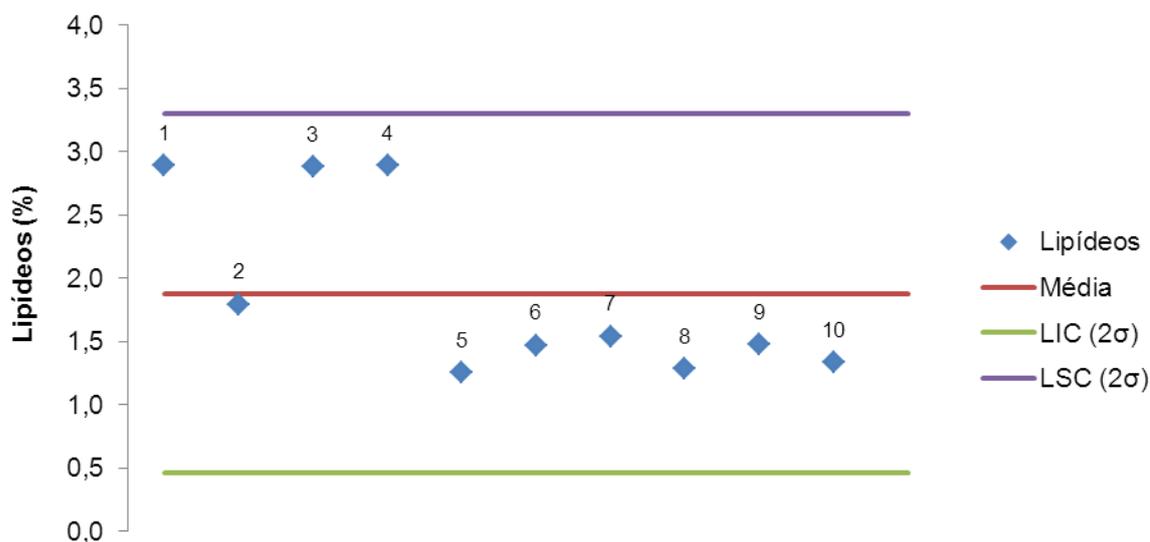


**Figura 22** - Coeficiente de variação (%) dentro de cada tipo comercial de feijão para o teor de cinzas nas amostras

#### 4.2.3. Lipídeos

Os resultados do teor de lipídeos obtidos nas dez amostras selecionadas dentre os tipos de feijão são mostrados na Figura 23. Os feijões carioca, vermelho e

bolinha apresentaram teores maiores de lipídeos, sendo 2,89 % para os dois primeiros e 2,88 % para este último. Os demais tipos apresentaram teores entre 1,25 % e 1,79 %. A média (n=10) foi de 1,88 %.



#### LEGENDA

1. Carioca	3: Bolinha	5: Rajado	7: Fradinho	9: Rosinha
2. Preto	4: Vermelho	6: Branco	8: Jalo	10: Cavalo

**Figura 23** – Gráfico de controle (n=3) indicando a concentração de lipídeos em dez amostras de feijão de tipos comerciais diversos (% em base seca)

O estudo de Brigide e Canniatti-Brazaca (2011) mostrou um teor menor de lipídeos de 1,2 % em grãos crus de feijão carioca. Ramírez-Cárdenas, Leonel e Costa (2008) obtiveram teor de lipídeos variando de 1,27 % a 1,94 % em feijão comum de diversas cultivares. Neste trabalho, o feijão fradinho teve um teor de lipídeos de 1,54 %, inferior ao valor de 2,52 % obtido por Pinheiro et al. (2013) para feijão caupi da espécie *Vigna unguiculata*.

### 4.3. Ácido fítico

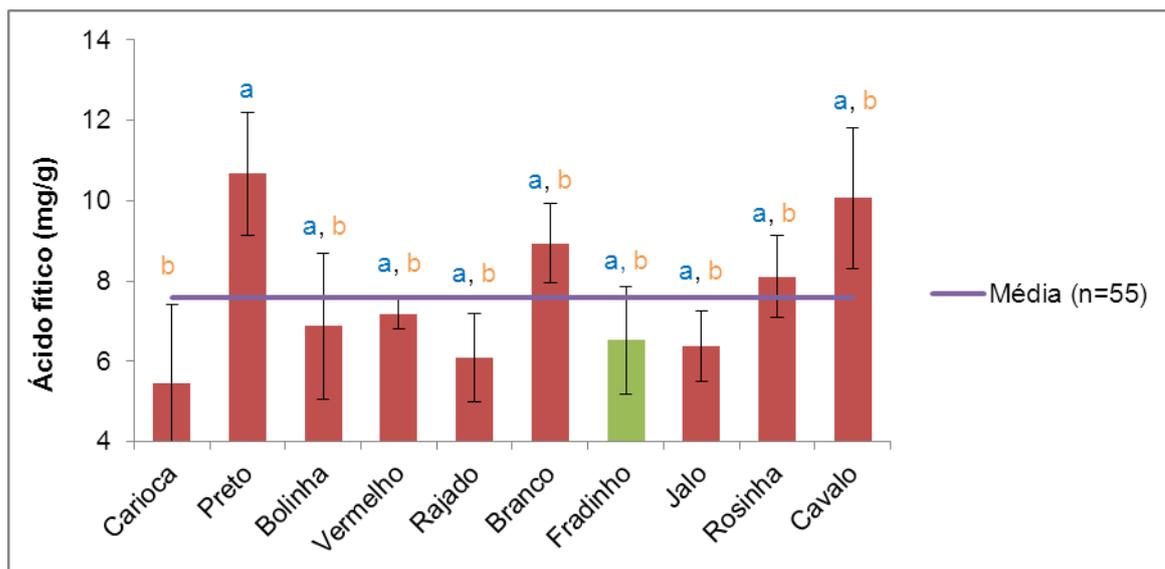
As concentrações médias de ácido fítico ( $\text{mg g}^{-1}$ ) são apresentadas na Tabela 13. Dentre os tipos comerciais de feijão analisados, os que apresentaram as maiores concentrações médias foram o feijão preto, cavalo e branco. As menores concentrações médias foram apresentadas pelos feijões carioca, rajado, jalo e fradinho. Médias seguidas da mesma letra em comum na coluna não diferem entre si

pelo Teste de Duncan ( $p < 0,05$ ). O feijão carioca diferiu estatisticamente do feijão preto (Figura 24).

**Tabela 13** – Valores médios  $\pm$  desvio padrão de ácido fítico e coeficiente de variação (CV %) em feijões de diversos tipos comerciais, resultados em  $\text{mg g}^{-1}$  de matéria seca

<b>Tipos Comerciais</b>	<b>Média</b>		<b>CV (%)</b>
Carioca	5,5	$\pm$ 2,0	36
Preto	10,7	$\pm$ 1,5	14
Bolinha	6,9	$\pm$ 1,8	26
Vermelho	7,18	$\pm$ 0,38	5,2
Rajado	6,08	$\pm$ 1,10	18
Branco	8,94	$\pm$ 0,98	11
Fradinho	6,5	$\pm$ 1,3	20
Jalo	6,39	$\pm$ 0,87	14
Rosinha	8,11	$\pm$ 1,01	12
Cavalo	10,07	$\pm$ 0,35	3,4
<b>Média</b>	<b>7,6</b>		
<b>RSD(%)</b>	<b>23</b>		

O teor médio de ácido fítico encontrado nas amostras de feijão foi de  $7,6 \text{ mg g}^{-1}$ , com um desvio padrão relativo de 23 %. Os feijões com concentrações mais próximas desse valor são o vermelho e o rosinha. Os coeficientes de variação relativamente altos, principalmente para o feijão carioca, indicam elevada variabilidade de resultados dentro de um mesmo tipo comercial.



**Figura 24** – Teor médio de ácido fólico ( $\text{mg g}^{-1}$  em base seca) para todos os tipos comerciais de feijão. Colunas com alguma letra em comum não diferem entre si pelo Teste de Duncan ( $p < 0,05$ )

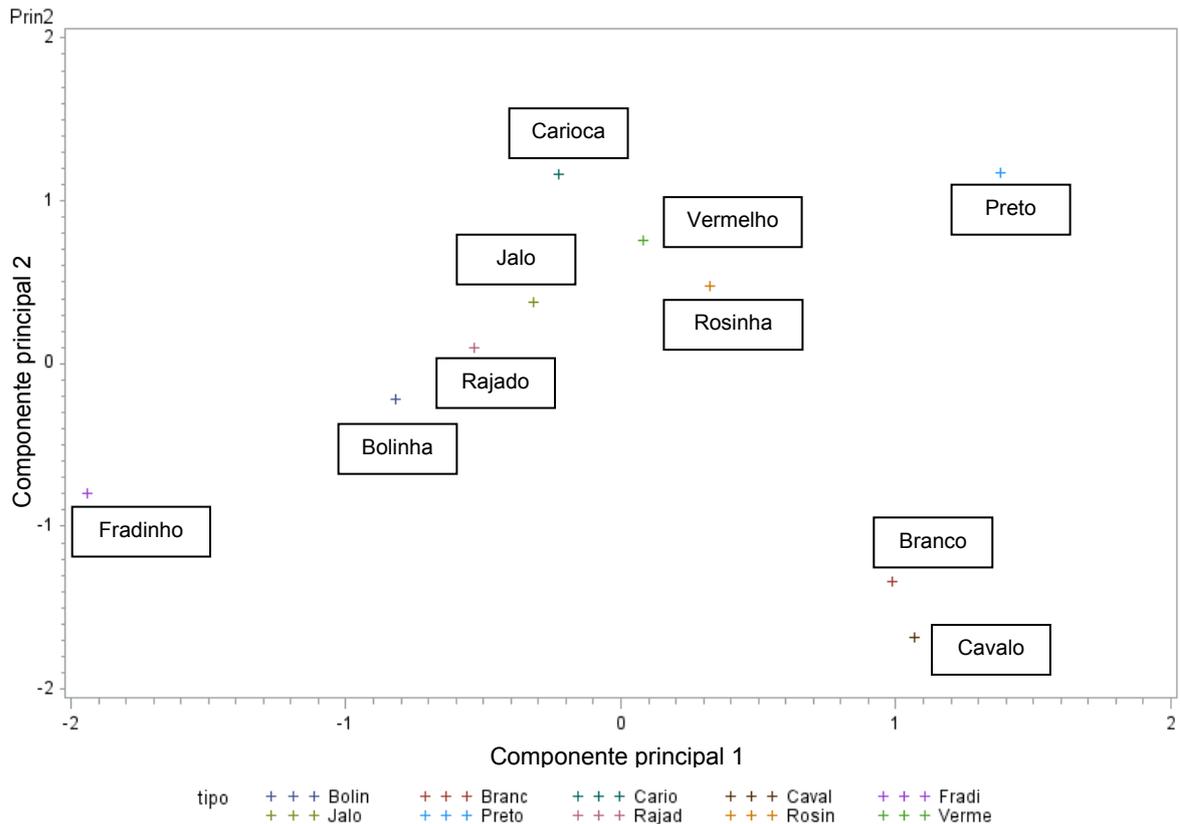
Marquezi (2013) avaliou a composição de cultivares de feijão comum e seu comportamento em dois locais de cultivo diferentes, obtendo teores de ácido fólico em feijão carioca de  $7,17 \text{ mg g}^{-1}$  e  $7,41 \text{ mg g}^{-1}$ , respectivamente, para cultivar Pérola e cultivar BRS Estilo. Esses teores foram, respectivamente, aumentados para  $9,42 \text{ mg g}^{-1}$  e  $9,43 \text{ mg g}^{-1}$ , quando as cultivares foram provenientes de outro local, indicando, conforme conclusão do autor, uma possível influência do ambiente nos teores de fitato. O mesmo tipo de resposta ocorreu para as outras cultivares avaliadas. No feijão preto cultivar Esplendor, o teor de ácido fólico foi de  $8,20 \text{ mg g}^{-1}$ , quando proveniente do primeiro local de cultivo estudado, e de  $10,41 \text{ mg g}^{-1}$ , quando proveniente da outra localidade. Mechi, Caniatti-Brazaca e Arthur (2005) obtiveram um teor de  $8,02 \text{ mg g}^{-1}$  em feijão preto cru, cultivar Diamante Negro.

#### 4.4. Seleção do material de referência candidato

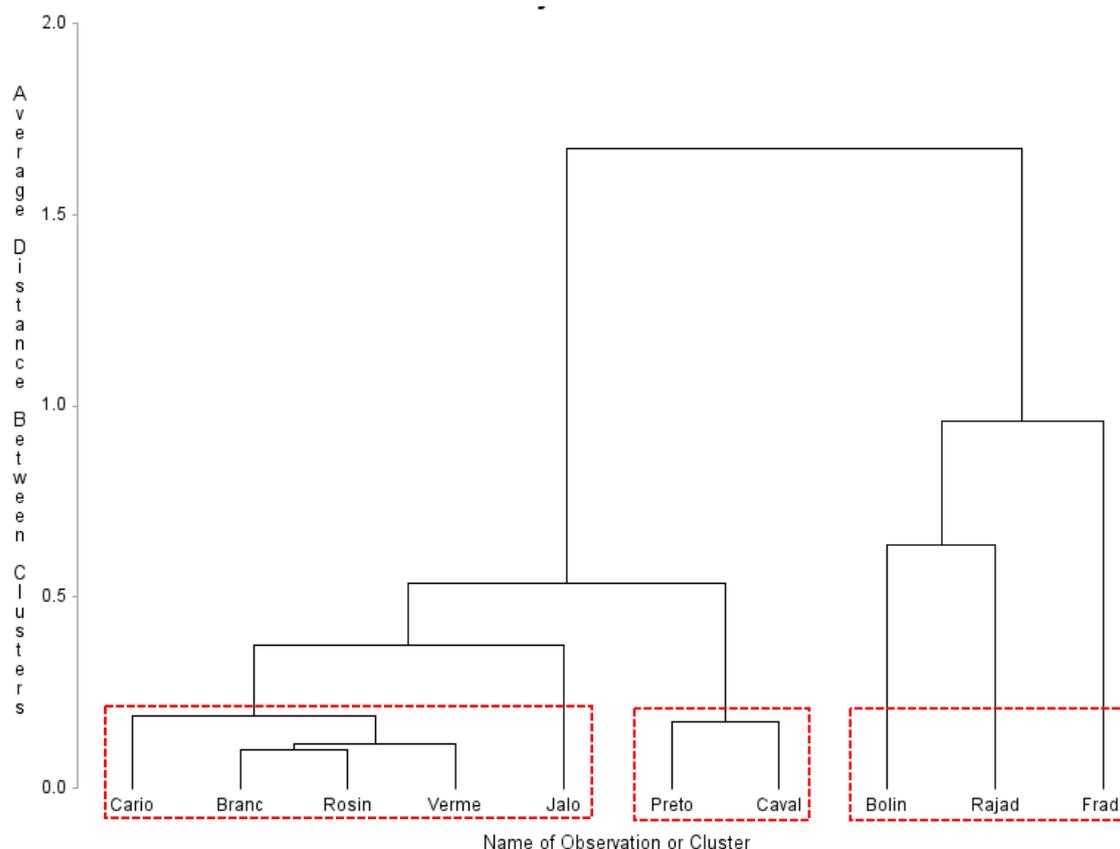
Baseando-se nos dados levantados e nas análises efetuadas, foram aplicados quatro critérios de seleção, descritos a seguir, para escolha do candidato a material de referência.

### Critério 1. Semelhança na composição

Como ferramenta para avaliar melhor se houve diferença na composição entre os tipos comerciais de feijão, foi aplicada a análise de PCA (*Principal Component Analysis*) e novamente a análise multivariada de agrupamentos, utilizando todas as variáveis estudadas (composição química, composição centesimal e fatores antinutricionais), como mostram as Figuras 25 e 26.



**Figura 25** – Gráfico de dispersão com os componentes principais 1 e 2 (55,5 % de informação total) para os tipos comerciais de feijão, utilizando todas as variáveis determinadas



**Figura 26** – Dendrograma obtido para os tipos comerciais de feijão, utilizando todas as variáveis determinadas. Cario=carioca, Branc=branco, Rosin=rosinha, Verme=vermelho, Caval=cavalo, Bolin=bolinha, Rajad=rajado, Fradi=fradinho

A Figura 25 apresenta um gráfico de dispersão com os dois primeiros componentes principais respondendo, respectivamente, por 34,1 % e 21,4 % da variação total. Observa-se que houve separação do feijão fradinho e também do feijão preto em relação aos demais tipos comerciais. Houve um pequeno agrupamento dos feijões carioca, vermelho, jalo, rajado, rosinha e bolinha, e outro agrupamento dos feijões branco e cavalo, com 55,5 % da informação. Apesar dessas observações, a análise de PCA não foi efetiva para demonstrar as semelhanças e diferenças entre os tipos comerciais de feijão.

Já na Figura 26, que traz o dendrograma com 100 % da informação, observa-se a formação de três grupos: o primeiro com os feijões carioca, branco, rosinha, vermelho e jalo; o segundo com os feijões preto e cavalo, e o terceiro grupo com os feijões bolinha, rajado e fradinho. Os três grupos diferem entre si com 99 % de confiança por contrastes de MANOVA.

Identifica-se, por MANOVA, que as variáveis que mais influenciaram a separação dos grupos foram em ordem decrescente de importância, concentração

de Na, K, Mo, ácido fítico (com 99 % de confiança), Zn e Fe (com 95 % de confiança). Todas essas variáveis são relevantes para a caracterização química de feijão.

De acordo com essas informações, propõe-se a seleção de três tipos de feijão como candidatos a materiais de referência certificados, um representando cada grupo formado na análise de agrupamento, a fim de obter melhor representatividade da matriz.

#### *Critério 2. Relevância em relação ao consumo, produção e pesquisa*

Conforme já averiguado anteriormente, os feijões mais consumidos no Brasil são o carioca (cerca de 70 %) e o preto (cerca de 20 %). Os demais feijões ficam com 10 % do consumo total. Porém, sabe-se que o feijão caupi, da espécie *Vigna unguiculata*, é o mais popular nas regiões norte e nordeste do país. Dados da literatura apontam uma produção de 482 mil toneladas por ano no Brasil (GOÉS; CAVALCANTE, 2013). A região nordeste é a que mais consome feijão no país, com um consumo per capita de 20,6 kg/ano (EMBRAPA, 2013). Segundo dados da FAO (2012), o Brasil exporta uma pequena quantidade de feijão e importa também, principalmente, o feijão preto. O feijão mais exportado é o caupi, segundo Barbosa e Gonzaga (2012).

Acessando-se o Registro Nacional de Cultivares (RNC) disponibilizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), verifica-se que há 305 cultivares registradas de feijão comum da espécie *Phaseolus vulgaris* L. desenvolvidas no país. De acordo com seu site oficial, a Embrapa possui 21 cultivares desenvolvidas, sendo nove delas do tipo comercial carioca, quatro do tipo comercial preto e oito de tipos denominados especiais, incluindo o feijão rajado, jalo, roxo, mulatinho, rosinha, entre outros (EMBRAPA, 2013). O Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) detém 24 cultivares registradas de feijão carioca e preto. O IAPAR possui sete cultivares comercializadas do tipo carioca e duas do tipo preto. Para a espécie *Vigna unguiculata*, verificou-se a existência de 44 cultivares registradas, a maioria delas desenvolvidas pela Embrapa.

Assim, sob o critério de importância econômica, de consumo e de relevância na pesquisa e desenvolvimento, seriam selecionados o feijão carioca, o preto e o fradinho (*Vigna unguiculata*), como representantes de cada grupo, para candidatos a material de referência certificado.

### *Critério 3. Proximidade dos valores em relação à média geral*

Um material de referência certificado deve apresentar quantidades representativas das propriedades de interesse específicas para a matriz, como teores adequados de minerais e de fatores nutricionais. De acordo com os estudos e determinações efetuadas, verificou-se que:

- O feijão carioca apresentou concentrações próximas à média global (n=55) para todos os elementos químicos e para os teores de umidade, cinzas, proteínas e carboidratos
- O feijão preto apresentou concentrações próximas à média global (n=55) para Mo e Sc, e para os teores de umidade e gordura
- O feijão fradinho apresentou concentrações diferentes da média global (n=55) para todas as variáveis, igualando-se apenas para umidade

### *Critério 4. Comutatividade do material de referência*

Conforme já citado anteriormente, a comutatividade de um material de referência é uma propriedade importante, principalmente em materiais de referência de matriz. A não-comutatividade de um material de referência é comumente atribuída às diferenças existentes entre a matriz do MR e a matriz das amostras de análise. Portanto, a presença de efeitos da matriz tem sido frequentemente associada à não-comutatividade de um material (VESPER; MILLER; MYERS, 2007).

Comparando-se estatisticamente os três tipos comerciais selecionados pelos critérios anteriores (carioca, preto e fradinho), detecta-se diferença significativa entre eles para Ca, K, Na, Zn, cinzas e ácido fítico ( $p < 0,05$ ). Porém, para todos esses analitos, a razão matemática entre as concentrações apresentadas pelos três diferentes tipos comerciais não ultrapassa o valor de 2,4, exceto para o elemento Na, em que o feijão fradinho apresenta uma concentração 17 vezes superior à do feijão carioca, e cinco vezes superior à do feijão preto. Deste modo, não há evidências de que, para todas as variáveis estudadas no presente trabalho, os três tipos comerciais selecionados apresentem algum fator que possa interferir na comutatividade entre eles.

Tendo em vista o critério de comutatividade e os analitos avaliados neste trabalho, se qualquer dos três tipos comerciais selecionados (carioca, preto e fradinho) for utilizado para a produção de um material de referência certificado de feijão, ele poderá efetivamente ser empregado para validação ou controle da qualidade em uma análise de outro tipo comercial de feijão daqueles apresentados neste estudo.

## 5. CONCLUSÕES

- ✓ A análise por ativação neutrônica permitiu a determinação dos elementos químicos essenciais Ca, Co, Fe, K, Mo, Na e Zn em feijão, além de Br, Cs, Rb e Sc.
- ✓ Houve diferença estatística entre os tipos comerciais de feijão avaliados para os elementos químicos determinados, exceto Br, Rb e Sc, e também para proteína, cinzas, umidade e ácido fítico ( $p < 0,05$ ).
- ✓ O feijão fradinho da espécie *Vigna unguiculata* apresentou diferenças significativas em relação ao feijão comum da espécie *Phaseolus vulgaris* L., para alguns dos parâmetros avaliados. Apresentou as maiores concentrações médias de Na e as menores concentrações médias de Ca, diferindo dos demais tipos ( $p < 0,05$ ). Apresentou também a menor concentração de K (diferindo de todos, exceto do bolinha), cinzas (diferindo de todos, exceto rajado e bolinha) e Co (não diferindo estatisticamente do preto e rosinha).
- ✓ Dentre os tipos de feijão comum, merecem destaque o feijão preto, com as maiores concentrações médias de Ca, Co, Fe, proteínas e ácido fítico, e o cavalo, com as maiores concentrações de K, Mo e Zn ( $p < 0,05$ ).
- ✓ O feijão carioca apresentou concentrações próximas à media global do conjunto de amostras deste trabalho ( $n=55$ ) para todos os elementos químicos e, também, para os parâmetros da composição centesimal. Em relação ao ácido fítico, apresentou a menor concentração média, diferindo estatisticamente do feijão preto ( $p < 0,05$ ), que mostrou a maior concentração desse antinutricional.
- ✓ Alta variabilidade dentro de um mesmo tipo comercial foi identificada para os elementos Br, Co, Cs, Mo, Na, Rb e Sc. Para K, Zn, cinzas e proteína, a variabilidade, representada pelo coeficiente de variação, foi menor que 20 %, enquanto para Ca, Fe, umidade e ácido fítico, menor que 40 %.

- ✓ O conjunto de dados levantados pelas análises químicas das 55 amostras de feijão mostra que os tipos comerciais carioca, preto e fradinho são os mais indicados para produção de material de referência certificado, selecionados pelos critérios de composição, representatividade e relevância. Considerando o critério de comutatividade, o feijão carioca pode ser utilizado para produzir um material de referência que represente todos os tipos comerciais estudados.
  
- ✓ A recomendação é que se elabore o material candidato a partir da seleção de uma única cultivar, devido à enorme quantidade de cultivares existentes e à falta de rastreabilidade dos produtos ofertados diretamente no varejo. Recomenda-se, também, que as amostras sejam fornecidas de apenas um local de cultivo, já que foi evidenciada a influência do ambiente (origem) na concentração de alguns parâmetros de interesse. Desse modo, espera-se obter um material mais homogêneo e adequado para a produção do material de referência certificado.

## REFERÊNCIAS

ACCIOLY, E; LACERDA, E.M.A.; ENGSTROM, E.M. Aspectos fisiopatológicos e epidemiológicos da deficiência de ferro. In: Ramalho, A. Fome oculta: diagnóstico, tratamento e prevenção. Editora Atheneu, 2009. Cap. 2.2, p. 33-43.

ALFASSI, Z.B. **Chemical analysis by nuclear methods**, New York: John Wiley & Sons, 1994. 556p.

ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMAN, M.J.O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Pub. Potafos, 786 p., 1996.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 18 ed. Washington DC USA, 2006.

BACCHI, M.A.; FERNANDES, E.A.N.; OLIVEIRA, H.A. Brazilian experience on  $k_0$  standardized neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v.245, n.1, p.217-222, 2000.

BACCHI, M.A.; FERNANDES, E.A.N. Quantu – design and development of a software package dedicated to  $k_0$ -standardized INAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v.257, n.3, p.577-582, 2003.

BARAMPAMA, Z.; SIMARD, R. E. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) grown in Burundi. **Food Chemistry**, London, v.47, n.1, p.159-167, Feb. 1993.

BARAMPAMA, Z.; SIMARD, R.E. Effects of soaking, cooking and fermentation on composition, in-vitro starch digestibility and nutritive value of common beans. **Plant Foods for Human Nutrition**, Germany, v. 48, n. 4, p. 349-365, 1995.

BARBOSA, F.R.; GONZAGA, A.C.O. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014. 1ª ed., 247 p., 2012. (Série Documentos Embrapa Arroz e Feijão).

BARRUETO-GONZALEZ, N.B. Biodisponibilidade de cálcio, magnésio, cobre e zinco na soja (*Glycine max*) e em novas variedades de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), obtidas por melhoramento genético clássico e sua relação com fatores antinutricionais não protéicos. 2007. 122 p. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

BARRUETO-GONZALEZ, N.B. Biodisponibilidade de minerais das fontes leguminosas. **Revista Simbio-Logias**, Botucatu, v.1, n.1, 2008.

BEEBE, S.; GONZALEZ, A.V.; REGINFO, J. Research on trace minerals in the common bean. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v.21, n.4, 2000.

BENEVIDES, et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança alimentar e nutricional**. Campinas, v.18, n.2, p. 67-69, 2011.

BIANCHI, M.L.P.; SILVA, H.C.; OLIVEIRA, J.E.D. Considerações sobre a disponibilidade de ferro dos alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Venezuela, v.42, n.2, p.94-100. 1992.

BLAIR, M.W. Mineral biofortification strategies for food staples: the example of common bean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 61, p.8287–8294, 2013.

BODE, P.; FERNANDES, E.A.N.; GREENBERG, R.R. Metrology for chemical measurements and the position of INAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v.245, n.1, p.109-114, 2000.

BODE, P.; GREENBERG, R.R.; FERNANDES, E.A.N. Neutron activation analysis: a primary (ratio) method to determine SI-traceable values of element content in complex samples. **Chimia**, Zurich, v.63, n.10, p.1-3, 2009.

BONETT, L.P.; BAUMGARTNER, M. S. T.; KLEIN, A. C.; SILVA, L.I. Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v.11, n.3, p. 235-246, 2007.

BORÉM, A.; CARNEIRO, J. E. S. A cultura. In: **Feijão**. Editora: UFV. 2011. Cap. 1, p. 13-18.

BRACKMANN, et al. Conservação de três genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo carioca em armazenamento refrigerado e em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.6, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 12 de 28 de março de 2008. Estabelece o Regulamento Técnico do Feijão, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem. Diário Oficial da União de 31/03/2008, Seção 1, Página 11.

BRASIL, 2014. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 42, de 31 de dezembro de 2014. Dispõe sobre o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem vegetal - PNCRC/Vegetal para o Ano Safra 2014-2015.

BRESSANI, R., ELÍAS, L.G., BRAHAM, J.E. Reduction of digestibility of legume proteins by tannins. **Journal of Plant Foods**, London, v.4, n.1, p.43-55, 1982.

BRIGIDE, P.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Avaliação dos efeitos da cocção e irradiação na composição do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alimentos e Nutrição**, Marília, v. 22, p. 97-102, 2011.

BROUGHTON, W.J.; et al. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. **Plant and Soil**, v.252, p. 55–128, 2003.

BURATTO, J.S.; et al. Variabilidade genética e efeito do ambiente para o teor de proteína em grãos de feijão. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.31, n.4, p.593-597, 2009.

BURATTO, J. S. Teores de minerais e proteínas em grãos de feijão e estimativas de parâmetros genéticos. 2012. 147 p. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

BUREAU INTERNATIONAL DES POIDS ET MEASURES – BIPM. Consultative Committee for Amount of Substance: Metrology in Chemistry – CCQM. In: MEETING OF THE COMMITTEE FOR WEIGHTS AND MEASURES, 13, 2007, Sèvres, p.7-9.

CARIONI, V. M. O.; et al. Feasibility study for the preparation of a tuna fish candidate reference material for total As determination. **Accreditation and Quality Assurance**, Berlin, v.16, n. 769, p. 453-458, 2011.

CARPENTER, C.E.; MAHONEY, A.W. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v.31, n.4, p.333-367, 1992.

CIAT. Centro Internacional de Agricultura Tropical. About bean research. Cali, 2014. Disponível em: <<http://ciat.cgiar.org/bean-research>>. Acesso em 12 jun 2014.

COMAR. International Database for Certified Reference Materials. Disponível em: <http://goo.gl/1jaxwr>. Acesso em 17 jul. 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Séries históricas - Feijão. Brasília, DF, 2014. Disponível em: <http://goo.gl/RKNXvJ>. Acesso em 02 jul. 2014.

CRUZ, G.A.D.R.; et al. Avaliação da digestibilidade protéica, inibidor de protease e fibras alimentares de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.7, n.2, p.103-109, 2004.

CRUZ, G.A.D.R.; et al. Comparação entre a digestibilidade protéica *in vitro* e *in vivo* de diferentes cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenados por 30 dias. **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v.16, n.3, p.265-271, 2005.

DE BIÈVRE, P.; DYBKAER, R.; FAJGELJ, A.; HIBBERT, D.B. Metrological traceability of measurement results in chemistry: Concepts and implementation (IUPAC TECHNICAL REPORT). **Pure and Applied Chemistry**, v.83, n.10, p.1873-1935, 2011.

DE CORTE, F. The standardization of standardless NAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v.248, n.1, p.13-20, 2001.

DUARTE, M. S. L.; et al. Determinação da atividade *in vitro* de inibidores de tripsina em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) preto, albumina e globulina. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.21, n.3, p.373-376, 2010.

DYBCZYŃSKI, R. Preparation and use of reference materials for quality assurance in inorganic trace analysis. **Food Additives and Contaminants**, Varsóvia, v.19, n.10, 928-938, 2002.

EHMANN, W.D.; VANCE, D.E. **Radiochemistry and nuclear methods of analysis**, Amsterdam: John Wiley & Sons, 1991. 531p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Cultivo do feijoeiro comum. 2003. Disponível em: <http://goo.gl/e4KGUc>. Acesso em 05 jul. 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Cultivo do feijão da primeira e segunda safras na região Sul de Minas Gerais. Sistemas de produção nº 6. Dezembro de 2005. Disponível em: <http://goo.gl/9j3Nn6> . Acesso em 15 jun. 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Cultivares de feijão comum da Embrapa e parceiros disponíveis para 2013. Comunicado técnico 211. 2013. Disponível em: [http://www.cnpaf.embrapa.br/transferencia/informacoestecnicas/publicacoesonline/comunicomunicadot\\_211.pdf](http://www.cnpaf.embrapa.br/transferencia/informacoestecnicas/publicacoesonline/comunicomunicadot_211.pdf)>. Acesso em 15 de jun. 2014.

FAIRWEATHER-TAIT, S.J. Bioavailability of trace elements. **Food Chemistry**, Oxford, v.43, p.213-217, 1992.

FAO. FAOSTAT. Brazil – Beans, dry: detailed trade matrix 2011. Rome, 2011a. Disponível em: < <http://faostat.fao.org/site/537/DesktopDefault.aspx?PageID=537>>. Acesso em 15 jun. 2014.

FAO. FAOSTAT. Brazil – Beans, dry: detailed trade flows 2011. Rome, 2011b. Disponível em: <http://faostat.fao.org/DesktopModules/Faostat/WATFDetailed2/watf.aspx?PageID=536>>. Acesso em 16 jun. 2014.

FAO. FAOSTAT. Database: Cow peas, dry. Top Production in 2012. Rome, 2012a. Disponível em: < <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em 9 jun 2014.

FAO. FAOSTAT. Database: Beans, dry. Production in 2012. Rome, 2012b. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em 11 jun. 2014.

FAO. FAOSTAT. Beans, dry. Production in 2013. Rome, 2013. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>>. Acesso em 11 jun. 2014.

FERNANDES, S. B. Identificação de populações de feijoeiro com grãos tipo carioca e alto teor de cálcio. 2012. 59 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

FERREIRA, A. C. P. Feijão pré-cozido irradiado com raios gama do Cobalto-60: uma alternativa de consumo. 2010. 62 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

FRANÇA, E.J.; FERNANDES, E.A.N.; BACCHI, M.A. Ni-Cr alloy as neutron flux monitor: composition and homogeneity assessment by NAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v.257, n.1, p.113-115, 2003.

GIUGLIANO, R. **Fundamentos de Nutrição**. 1ed. Brasília: Universa, 1999, v1, 73p.

GOES, A. C. P.; CAVALCANTE, E. da S. O Feijão-caupi em números. Macapá: Embrapa Amapá, 2013. Folder. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/95056/1/CPAF-AP-2013-Folder-O-FEIJAO-CAUPI-EM-NUMEROS-PARA-PUBLICACAO.pdf>>. Acesso em 11 jun. 2014.

GREENBERG, R. R. Pushing the limits of NAA: Accuracy, uncertainty and detection limits. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v. 278, n. 2, 231-240, 2008.

GREENBERG, R.B.; BODE, P.; FERNANDES, E.A.N. Neutron activation analysis: a primary method of measurement. **Spectrochimica Acta Part B**, Oxford, v. 66, p. 193–241, 2011.

GRYNSPAN F.; CHERYAN, M. Phytate-calcium interactions with soy protein. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, New York, v. 66, n. 1, p. 93-97, 1989.

GUZMÁN-MALDONADO, S.H.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; PAREDES-LÓPEZ, O. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, n.13, p. 1874–1881, 2000.

HELBIG, E.; BUCHWEITZ, M.R.D.; GIGANTE, D.P. Análise dos teores de ácidos cianídrico e fítico em suplemento alimentar: multimistura. **Revista de Nutrição**, Campinas. v.21, n.3, p.323-328. 2008.

HUBER, K. Evidências da interação entre proteínas e taninos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e seus efeitos na digestibilidade protéica. 2012. 107p. Dissertação (mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Censo Agropecuário 2006. Disponível em: <http://goo.gl/FXI47T>. Acesso em: 9/07/2014.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY – IAEA. **Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory**. Vienna: IAEA, 1990. 251p. (IAEA – TECDOC, 564).

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY – IAEA. **Development and use of reference materials and quality control materials**. Vienna: IAEA, 2003. 113p. (IAEA – TECDOC, 1350).

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO. ISO Guide 32:1997. Calibration in analytical chemistry and use of certified reference materials. Geneva, 1997, 8 p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO. ISO Guide 33:2000. Uses of certified reference materials. Geneva, 2000. 23 p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO. ISO Guide 13528:2005. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons, Geneva, 2005, 107 p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO. ISO Guide 35:2006. Reference materials -- General and statistical principles for certification. Geneva, 2006. 64 p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO. ISO Guide 34:2009. General requirements for the competence of reference material producers. Geneva, 2009. 34 p.

INTERNATIONAL LABORATORY ACCREDITATION ILAC. Guideline for a selection and use of reference materials. Sidney, 2005. ILAC G-9:2005. Disponível em: <<http://ilac.org/publications-and-resources/ilac-documents/guidance-series/>>. Acesso em 11 jun. 2014.

JOHNSON, R.A.; WICHERN, D.W.. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. 6th ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 2007. 773 p.

LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I.; MENEZES, E.W. Qualidade nutricional. In: Araújo, A. et al. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Publicado por: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato – Potafos, 1996. Seção I, p. 23-45.

LISINGER, T.P.J.; PAUWELS, J.; VAN DER VEEN, A.; SCHIMMEL, H. LAMBERTY, A. Homogeneity and stability of reference materials. **Accreditation and Quality Assurance**, Berlin, v.6, p.20-25, 2001.

LONDERO, P.M.G.; RIBEIRO, N.D.; CARGNELUTTI FILHO, A. Teores de fibra e rendimento de grãos em populações de feijão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.1, p.167-173, jan./fev. 2008.

MARQUES MÉNDEZ, M.H. et al. Insoluble dietary fiber of grain food legumes and protein digestibility. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Venezuela, v. 43, n.1, p. 66-72, 1993.

MARQUEZI, M. Características físico-químicas e avaliação das propriedades tecnológicas do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). 2013. 115 p. Dissertação

(mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 2013.

MATTOS, L.L.; MARTINS, I.S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v.34, n.1, p.50-55, 2000.

MECHI, R.; CANIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado<sup>1</sup>. **Ciência e Tecnologia**, Campinas, v.25, n.1, p. 109-114, 2005

MESQUITA, F.V.; et. al. Linhagens de feijão: *Phaseolus vulgaris* L.: composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1114-1121, 2007.

MITCHELL, D. C.; et al. Consumption of dry beans, peas, and lentils could improve diet quality in the US population. **Journal of the American Dietetic Association**, 2009 v.109, n.5, p. 909-913, 2009.

MIZUBUTI, I.Y.; IDA, E.I. Constituintes antinutricionais e seus efeitos indesejáveis na alimentação. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.20, n.1, p. 107-112, 1999.

MONTGOMERY, D.C. - **Design and analysis of experiments**, 3 edição. Nova York: John Wiley & Sons. Grupo Editorial Iberoamerica, 1991.

MONTGOMERY, D.C. **Introduction to Statistical Quality Control**. 6<sup>a</sup> ed. USA: John Wiley & Sons, 2008. 372p.

MORAES, R. M. A. Melhoria de feijão na Embrapa Trigo. 2008. Disponível em: <<http://www.seedquest.com/News/releases/2008/february/21786.htm>>. Acesso em 20 jun. 2014.

MOREIRA, E. G. Preparo e caracterização de um material de referência de mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758). 2010. 283 p. Tese (Doutorado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MOURA, N.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.2, p.270-276, 2006.

OLIVEIRA, I. P.; ARAUJO, R. S.; DUTRA, L. G. Nutrição Mineral e Fixação Biológica de Nitrogênio. In: ARAÚJO, R.S. et al. (Coord). **Cultura do Feijoeiro Comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996, p. 169-221.

OLIVEIRA, A. C.; et al. Adições crescentes de ácido fítico à dieta não interferiram na digestibilidade da caseína e no ganho de peso em ratos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.16, n.2, p. 211-217, 2003.

OLIVEIRA, D. P. et al. Qualidade tecnológica de grãos de cultivares de feijão-comum na safra das águas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1831-1838, 2012

OTTEN, J.J.; HELLWIG, J.P.; MEYERS, L.D. **Dietary Reference Intakes (DRI) – The essential guide to nutrient requirements**. Institute of Medicine of the National Academies. The National Academies Press. Washington. 2006. 543p.

OZON, R.T. Análise de cadeia produtiva do feijão na região de União da Vitória –PR. 2002. 124 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

PEREZ-HIDALGO, M.A.; GERRA-HERNANDEZ, E.; BARCÍA-VILLANOVA, B. Dietary fiber in three raw legumes and processing effect on Chick Peas by an enzymatic-gravimetric method. **Journal of Food Composition and Analysis**. Suíça, v. 10, n. 1, p. 66-72, 1997.

PINHEIRO, E.M. et. al. Composição centesimal e efeito do cozimento no genótipo de feijão-caupi Pingo de Ouro-1-2. III CONAC. Congresso Nacional de Feijão caupi. Recife, PE, 2013.

QUIRRENBACH, H. R. Determinação das constantes de estabilidade, síntese, e caracterização dos complexos de ácido fítico com os íons Fe(II) e Fe(III). 2007. 82 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2007.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.; LEONEL, A.J.; COSTA, N. M. B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p.200-213, 2008.

REHMAN, Z.; SALARIYA, A. M.; ZAFAR, S. I. Effect of processing on available carbohydrate content and starch digestibility of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*, L) **Food Chemistry**, United Kingdom, v. 73,n. 3, p. 351-355, 2001.

RIBEIRO, M.L.L.; IDA, E.I.; OLIVEIRA, M.C.N. Germinação de soja BR - 13 e Paraná: efeito sobre os constituintes minerais. **Archivos Latinoamericanos de Nutrition**, Venezuela, v.47, n.4, p.352-358, 1997.

RICHTER, W.; DUBE, G. Measurement standards and the general problem of reference points in chemical analysis. **Metrologia**, Bristol, v.34, p.13-18, 1997.

SANT'ANA, L.F.R.; COSTA, N.M.B; OLIVEIRA, M.G.A.; GOMES, M.R.A. Valor nutritivo e fatores antinutricionais de multimisturas utilizadas como alternativa alimentar. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.3, p.129-135, 2000.

SANT'ANA, L.F.R.; CRUZ, A.C.R.F.; FRANCESCHINI, S.C.C.; COSTA, N.M.B. Efeito de uma multimistura alimentar no estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n.4, p.445-454. 2006.

SANTOS, L. G. C., et al. Evaluation of conventional and organic beans by instrumental neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Budapest, v.270, n.1, p.249-252, 2006.

SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT Guide for personal computers. 6.ed. Cary: SAS Institute, 1996. 1028p

SATHE, S.K.; DESPHANDE, S.S., SALUNKHE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*. A review. Part 2. Chemical composition: Carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 21, p. 41-91, 1984.

SEAB. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Feijão – análise da conjuntura agropecuária. 2012. Disponível em: <[http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/feijao\\_2012\\_13.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/feijao_2012_13.pdf)>. Acesso em 13 jun. 2014.

SGARBIERI, V.C. Propriedades físico-químicas e nutricionais de proteínas de feijão (*Phaseolus vulgaris*,L.) var. Rosinha G2. 1979. 207p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1979.

SGARBIERI, V.C. **Alimentação e nutrição – fator de saúde e desenvolvimento**. Campinas: UNICAMP, 1987. 387p.

SGARBIERI, V. C. Composition and nutritive value of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **World Review of Nutrition and Dietetics**, Suíça, v. 60, p. 132-198, 1989.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.12 n.1, p. 5-19, 1999.

SILVA, J. S.; CORRÊA, P. C. Estrutura, composição e propriedades dos grãos. In: SILVA, J. S. Secagem e armazenagem de produtos agrícolas. Editora: Aprenda Fácil. Viçosa, MG, 2000, cap. 2, p. 23-37.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 131, n.1, p.3-9, 2000.

SILVA, A. G.; ROCHA, L. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Caracterização físico-química, digestibilidade protéica e atividade antioxidante de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.20, n.4, p.591-598, 2009.

SILVA, P. H. T. Avaliação de parâmetros e produção de materiais de referência de suplemento mineral para nutrientes e contaminantes inorgânicos. 2011. 111 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

SILVA, O. F.; WANDER, A. E. O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás, GO, 63p. 2013.

SOUZA, T. L. P. O.; et al. Comunicado Técnico 211. Cultivares de feijão comum da Embrapa e parceiros disponíveis para 2013. Santo Antonio de Goiás, GO, 2013.

SZCHUNKE, A. "Metrology in chemistry" – Analytica, Munique, Germany, 12 March 2000. **Accreditation and Quality Assurance**, Berlin, v.6, p.2, 2001.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO. Unicamp, Campinas, 2011. Disponível em: <[http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco\\_4\\_edicao\\_ampliada\\_e\\_revisada](http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada)>. Acesso em 17 jun. 2014.

TAGLIAFERRO, F.S. Metrologia em química: estudo da qualidade de cafés brasileiros. 2003. 151p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

TOLEDO, T. C. F.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação química e nutricional do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) cozido por diferentes métodos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.2, p.355-360, 2008.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A. R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Inglaterra, v. 1, n. 1, p. 1-22, 1991.

ULRICH, J. C. Preparação e caracterização de um material de referência de peixe. 2011. 114p. Tese (Doutorado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

VAN DER POEL, A. F. B. Effect of processing on antinutritional factors and protein nutritional value of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). A review. **Animal Feed Science and Technology**, v.29, n.3-4, p. 179-208, 1990.

VESPER, H. W.; MILLER, W. G.; MYERS, G. L. Reference materials and commutability. **The Clinical Biochemist Reviews**, Sydney, v. 28, n.4, p. 139-147, 2007.

VOCABULÁRIO INTERNACIONAL DE METROLOGIA – VIM. Conceitos fundamentais e gerais e termos associados - VIM 2012. Duque de Caxias, 2012. 94 p.

UNITED NATIONS INDUSTRIAL DEVELOPMENT ORGANIZATION – UNIDO. Role of standards: a guide of small and medium-sized enterprises. Working paper. Vienna, 2006. Disponível em: <[http://www.unido.org/fileadmin/media/documents/pdf/tcb\\_role\\_standards.pdf](http://www.unido.org/fileadmin/media/documents/pdf/tcb_role_standards.pdf)>. Acesso em 02 jul. 2014.

WANDER, A. E. Cenário, projeções e demandas prospectadas para a cultura do feijão. Embrapa Arroz e Feijão, 2012. 20ª Reunião Ordinária da Câmara Setorial da Cadeia Produtiva do Feijão. Brasília, DF, 2012.

YIN, S.W. et al. The relationships between physicochemical properties and conformational features of succinylated and acetylated kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolates. **Food Research International**, Essex, v.43, p. 730-738, 2010.