

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

KARLA DE ALELUIA BATISTA

**EXTRUSÃO DE FARINHA DE FEIJÃO *HARD-TO-COOK*:
CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E PROPRIEDADES
FUNCIONAIS**

Goiânia
2010

KARLA DE ALELUIA BATISTA

**EXTRUSÃO DE FARINHA DE FEIJÃO *HARD-TO-COOK*:
CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E PROPRIEDADES
FUNCIONAIS**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dr^a Kátia Flávia Fernandes

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Sandra Helena Prudêncio

Goiânia
2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

KARLA DE ALELUIA BATISTA

**EXTRUSÃO DE FARINHA DE FEIJÃO HARD-TO-
COOK: CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS E
PROPRIEDADES FUNCIONAIS**

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 26 de fevereiro de 2010,
pela Banca Examinadora constituída pelos membros:

Prof. Dr. Flavio Marques Lopes
UEG

Profª Drª Raquel de Andrade Cardoso Santiago
FANUT/UFG

Profª Drª Sandra Helena Prudêncio
Co-orientador – UEL

Profª Drª Kátia Flávia Fernandes Silva
Orientador – ICB/UFG

Aos meus pais, irmão e família do LQP
À minha cunhada e meu pititico
Aos companheiros de luta
Aos amores e amigos...

É fácil pensar em quem não agradecer, mas é difícil lembrar-me de todos que merecem agradecimento....

Primeiramente, agradeço aos anjos que me permitiram viver, me ensinaram a caminhar e me deram asas pra voar...

Agradeço ao meu querido Gustavo, irmão/amigo que me chama sempre à realidade...

Agradeço àqueles que me fizeram rir e chorar...

Agradeço principalmente àqueles que riram com minhas alegrias e derramaram lágrimas com minhas decepções, frustrações, crises ou mesmo TPM...

Obrigada às pessoas que me acompanharam durante o tempo de Londrina...

As companheiras de casa e baladas, Marina e Mariana...

Um enorme agradecimento à Sandra Helena, pelo apoio e socorro durante todo o tempo de UEL.

Um OBRIGADO especial ao universo, que colocou em meu caminho essa ORIENTADORA-MÃE que eu amo tanto, e que é a principal 'culpada' pelo que sou hoje...

Agradeço a todos que me causaram algum tipo de emoção, que me conquistaram ou que simplesmente me decepcionaram... Sinto pelos que não conseguiram deixar nenhuma marca...

Preciso mesmo agradecer especificamente a alguns... Não que sejam os únicos merecedores, mas, sim, são os que pra mim, mais importam nesse mundo de LQP...

Profs, Prô, Kátia... Só há uma coisa a dizer:

EU QUERO SER COMO VOCÊ QUANDO EU CRESCER!

Flavio Marques, Flavio Marx, Flavio... Com você aprendi o quanto sou apaixonada pela ciência! Aprendi que, por mais que me implique, você é um amigo daqueles que vou levar pra sempre comigo.

Lu, Luiza, Cabeça... O LQP era muito triste sem você... Você ilumina por onde passa... Dani, Daniela, "pessoa humana"... Nem tenho palavras... Só posso dizer que "companheiro é companheiro", pra todas as horas, todos os experimentos e crises existenciais...

Artur, Ivan... Meus queridos, companheiros de café, sempre... Ensinaram muito mais do que como fazer um experimento... Ensinaram-me a ser gente grande...

OBRIGADA...

... aos que secaram minhas lágrimas
... aos que riram e choraram de mim e comigo
... àqueles que aturaram meu estresse
E, obrigada principalmente àqueles
que dividiram os chocolates e cafés

AGRADEÇO...

... a atenção, o carinho, o desprendimento
... os ensinamentos de vida
... a doação...
... a AMIZADE

*Saindo do casulo, um novo ser observa
tudo em sua volta, tudo parece novo...*

RESUMO

Os feijões são uma fonte importante de proteínas, amido, vitaminas e minerais. Entretanto, a presença de fatores antinutricionais e o desenvolvimento de endurecimento do grão (*hard-to-cook*) em função de armazenamento com umidade (>75%) e temperatura elevadas (30-40 °C), reduzem o valor nutricional e a aceitação desses grãos, causando importantes perdas. Uma alternativa para o aproveitamento de feijões endurecidos é a utilização da extrusão. O calor, umidade e alta pressão durante o processo de extrusão causam alterações químicas e físicas que permitem a utilização de grãos endurecidos. Nesse sentido, foram investigadas as alterações causadas pela extrusão nas propriedades bioquímicas e funcionais de farinhas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) das variedades carioca e preto, e feijão caupi (*Vigna unguiculata*) endurecidos. Os feijões foram triturados e extrusados em extrusor monorroscas, com taxa de compressão 3:1, velocidade do parafuso de 150 rpm e matriz com orifício de 5 mm. A temperatura central e a umidade foram fixadas em 150°C e 20% (base seca). As farinhas crua e extrusada foram avaliadas quanto à composição centesimal, fatores antinutricionais, propriedades funcionais e digestibilidade *in vitro* de proteína e de amido. Os resultados indicaram que a extrusão não afetou a composição centesimal das farinhas, à exceção do feijão caupi, que apresentou diferença significativa no teor de umidade. Entretanto, o processo provocou eliminação completa da atividade hemaglutinante e inibidores de α -amilase, diminuiu significativamente o conteúdo de ácido fítico e inibidores de tripsina. Em relação às propriedades funcionais analisadas, houve aumento da solubilidade e absorção de água e capacidade de formação de gel, redução da capacidade emulsificante e estabilidade da emulsão, além de eliminar a capacidade de formação de espuma de todos os extrusados. A digestibilidade protéica e de amido sofreu aumento significativo nos extrusados de feijão carioca e preto. Entretanto, apenas a digestibilidade protéica do feijão caupi foi melhorada pelo processo de extrusão. Estes resultados indicam que é possível produzir novos produtos extrusados com melhor valor nutricional e boas propriedades bioquímicas e funcionais a partir destas variedades de feijão.

Palavras-chave: Extrusão. Fatores antinutricionais. Propriedades funcionais. Feijão endurecido. Digestibilidade.

ABSTRACT

Beans are an important source of protein, starch, vitamins and minerals. However, the presence of antinutritional factors and the development of the hard-to-cook effect by storage under high moisture (>75%) and temperature (30-40°C), decrease the nutritional value and acceptability these grains causing important economic losses. An alternative for the use of the hard-to-cook beans is the extrusion cooking. Heat, water and high pressure in the extrusion process causes chemical and physical changes that permit the use of hard-to-cook grains. In this sense, the changes occasioned by extrusion in biochemical and functional properties of hard-to-cook common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours of carioca and black varieties and cowpea (*Vigna unguiculata*) were investigated. Beans were milled and extruded in a single-screw extruder with compression ration of 3:1, screw speed of 150 rpm, and 5 mm die. The central temperature and moisture were fixed in 150 °C and 20% (dry basis). Raw and extruded flours were evaluated for chemical composition, antinutritional factors, functional properties and *in vitro* protein and starch digestibility. Results indicated that the extrusion did not affect the proximate composition of flours, except the cowpea that presented significant difference among the moisture content. However the process occasioned complete elimination of haemagglutination and α -amylase inhibitors activity and decreased significantly the phytic acid and trypsin inhibitor content. Regarding functional properties evaluated, there was increase of the water solubility and absorption and gelation capacity, reduction of the emulsifying capacity and stability and elimination of foaming formation in all extrudates. The protein and starch digestibility increased significantly in extrudates of the varieties carioca and black. However, only protein digestibility of cowpea was improved by extrusion process. These results indicate that is possible to produce new extruded products whit nutritional value improved and good functional and biochemical properties from these bean varieties.

Keywords: Extrusion. Antinutritional factors. Functional properties. Hard-to-cook bean. Digestibility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Representação esquemática de um extrusor	22
Figura 2.	Atividade de inibidor de tripsina (UI mg ⁻¹) presente nas farinhas antes e após o processo de extrusão. Todos os valores são apresentados como média de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença estatística significativa (p≤0,05)	44
Figura 3.	Conteúdo de ácido fítico das farinhas (mg g ⁻¹) antes e após a extrusão. Os valores são apresentados como média de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não são estatisticamente diferentes (p≤0,05)	46
Figura 4.	Digestibilidade protéica <i>in vitro</i> das farinhas e extrusados de feijão HTC. Os valores são apresentados como média de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença estatística significativa (p≤0,05)	49
Figura 5.	Digestibilidade <i>in vitro</i> de amido das farinhas e extrusados de feijão carioca, preto e caupi. Os valores são resultados médios de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença significativa (p≤0,05)	51
Figura 6.	Índice de absorção de água (g g ⁻¹) das farinhas antes e após extrusão. Valores apresentados como média (± desvio padrão) de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença significativa (p≤0,05)	53
Figura 7.	Solubilidade das farinhas de feijão crua e extrusada. Os valores estão apresentados como média (± desvio padrão) de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença estatística (p≤0,05)	54
Figura 8.	Capacidade de absorção de óleo (g g ⁻¹) das farinhas de feijão. Os valores apresentados são dados como média (± desvio padrão) de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença estatística significativa (p≤0,05)	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição centesimal das farinhas de feijão endurecido antes e após a extrusão.....	38
Tabela 2.	Índice de expansão dos extrusados de feijão HTC	40
Tabela 3.	Análise de cor das farinhas de <i>Phaseolus</i> e <i>Vigna</i> crua e extrusada	42
Tabela 4.	Valores de inibição de α -amilase nas farinhas e extrusados de feijão HTC.....	45
Tabela 5.	Capacidade espumante e estabilidade da espuma das farinhas cruas dos feijões endurecidos, em diferentes tempos de repouso.....	57
Tabela 6.	Atividade emulsificante e estabilidade da emulsão das farinhas e extrusados de feijão HTC	59
Tabela 7.	Capacidade de formação de gel das farinhas de feijão carioca, preto e caupi antes e após extrusão.....	60

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AE: atividade emulsificante

b.s.: base seca

CAO: capacidade de absorção de óleo

CE: capacidade espumante

DCO: diferença de cor

EE: estabilidade da emulsão

HTC: *hard-to-cook*

HTST: high temperature – short time (alta temperatura – curto tempo)

IAA: índice de absorção de água

UE: unidade de enzima

UI: unidade de inibição

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	O FEIJÃO	15
2.2	FATORES ANTINUTRICIONAIS	16
2.2.1	Inibidores de tripsina	16
2.2.2	Inibidores de α-amilase	17
2.2.3	Ácido fítico	17
2.2.4	Lectinas	18
2.3	EFEITO <i>HARD-TO-COOK</i>	19
2.4	EXTRUSÃO	20
2.4.1	Efeito da extrusão no amido e lipídios	23
2.4.2	Efeito da extrusão nas proteínas e antinutricionais	23
2.5	PROPRIEDADES FUNCIONAIS TECNOLÓGICAS.....	24
2.5.1	Solubilidade e capacidade de absorção de água	24
2.5.2	Capacidade de absorção de óleo	25
2.5.3	Propriedades emulsificantes	25
2.5.4	Propriedades espumantes	26
2.5.5	Gelatinização e geleificação	27
3	OBJETIVOS	29
3.1	OBJETIVO GERAL.....	29
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4	MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1	MATERIAL.....	30
4.2	MÉTODOS	30
4.2.1	Obtenção das farinhas	30
4.2.2	Composição centesimal	30
4.2.3	Determinação dos parâmetros de extrusão	30
4.2.4	Extrusão	31
4.2.5	Propriedades físicas da farinha	32
4.2.5.1	Índice de expansão.....	32
4.2.5.2	Cor	32
4.2.6	Fatores antinutricionais	32
4.2.6.1	Inibidor de tripsina.....	32
4.2.6.2	Inibidor de α -amilase	33
4.2.6.3	Ácido fítico	33
4.2.6.4	Atividade hemaglutinante.....	34
4.2.7	Propriedades funcionais	34
4.2.7.1	Índice de absorção de água (IAA)	34
4.2.7.2	Solubilidade em água.....	34
4.2.7.3	Capacidade de absorção de óleo (CAO)	35
4.2.7.4	Atividade emulsificante (AE)	35
4.2.7.5	Estabilidade da emulsão (EE)	35
4.2.7.6	Capacidade espumante.....	35
4.2.7.7	Estabilidade da espuma.....	36
4.2.7.8	Capacidade de formação de gel	36

4.2.8	Determinação da digestibilidade das farinhas	36
4.2.8.1	Digestibilidade protéica <i>in vitro</i>	36
4.2.8.2	Digestibilidade de amido <i>in vitro</i>	37
4.2.9	Análise estatística	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	38
5.2	PROPRIEDADES FÍSICAS	40
5.2.1	Índice de expansão	40
5.2.2	Cor	41
5.3	FATORES ANTINUTRICIONAIS	43
5.3.1	Inibidores de tripsina	43
5.3.2	Inibidores de α-amilase	45
5.3.3	Ácido fítico	46
5.3.4	Atividade hemaglutinante	48
5.4	DIGESTIBILIDADE	48
5.4.1	Digestibilidade protéica <i>in vitro</i>	48
5.4.2	Digestibilidade <i>in vitro</i> de amido	51
5.5	PROPRIEDADES FUNCIONAIS	52
5.5.1	Índice de expansão	52
5.5.2	Solubilidade em água	54
5.5.3	Capacidade de absorção de óleo (CAO)	56
5.5.4	Capacidade espumante e estabilidade da espuma	57
5.5.5	Atividade e estabilidade da emulsão	58
5.5.6	Capacidade de formação de gel	60
6	CONCLUSÕES	62
7	PERSPECTIVAS	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXO A - Aceite do artigo intitulado "Changes in the functional properties and antinutritional factors of extruded hard-to-cook common beans (<i>Phaseolus vulgaris</i> , L.)"	77
	ANEXO B – Artigo submetido ao Journal of Food Science	78
	ANEXO C - Aceite do artigo intitulado “Changes in the biochemical and functional properties of the extruded hard-to-cook Cowpea (<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp)”	98
	ANEXO D – Artigo submetido ao International Journal of Food Science and Technology	99

1 INTRODUÇÃO

As plantas da família das leguminosas têm importante papel na nutrição humana, pois são uma valiosa fonte de proteínas, minerais, vitaminas e calorias. Dentre as leguminosas, o feijão fornece nutrientes essenciais que podem substituir parcialmente produtos protéicos, tais como carnes, queijos e ovos para a população de baixa renda (ELMAKI et al., 2007; RIOS; ABREU; CORRÊA, 2003).

No Brasil, o feijão é consumido por indivíduos de todas as camadas sociais, sendo considerado alimento básico para a população tanto nas áreas rurais quanto urbanas (COSTA et al., 2006)

Entretanto, a qualidade global e aceitabilidade dos feijões normalmente são prejudicadas pela presença de inibidores de tripsina/quimiotripsina e amilase, ácido fítico, lectinas (fitohemaglutininas) e outros antinutricionais que alteram a biodisponibilidade de proteínas, carboidratos e minerais (BHAT; SRIDHAR; TOMITA-YOKOTANI, 2007).

Além da presença dos antinutricionais, as condições de armazenamento dos grãos também podem interferir no seu valor nutricional. Quando armazenado sob condições de alta temperatura e umidade o feijão sofre um processo de endurecimento, também denominado efeito hard-to-cook (HTC) ou “difícil de cozinhar” (RIBEIRO et al., 2009; RUIZ-RUIZ et al., 2008).

As principais alterações observadas em feijões endurecidos estão relacionadas com a deterioração da textura e sabor do grão, além do aumento do tempo de cocção. Essas alterações provocam uma diminuição da aceitabilidade do feijão, pois os consumidores preferem o produto de colheitas mais recentes. Além disso, a redução da digestibilidade de proteínas e amido também contribui para a diminuição da aceitação dos grãos endurecidos (RIBEIRO et al., 2009).

Em função do endurecimento, feijões HTC tornam-se um subproduto pouco aproveitado no país, sendo muitas vezes, misturado ao feijão novo e reincorporado no mercado. No entanto, seu potencial para a indústria alimentícia é alto, com a possibilidade de utilização na elaboração de farinhas para a produção de produtos instantâneos, de panificação e confeitaria.

Uma alternativa para o aproveitamento dos grãos de feijão endurecidos é a utilização do processo de extrusão, que além de reduzir os antinutricionais, ocasiona alterações que melhoram a digestibilidade e as propriedades funcionais do grão. A extrusão além de

melhorar o valor nutricional do feijão endurecido, possibilita sua utilização como matéria prima para elaboração de produtos alimentícios, reduzindo, conseqüentemente, as perdas anuais em função do endurecimento deste grão (MARTÍN-CABREJAS et al., 1999; RIBEIRO et al., 2009).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O FEIJÃO

Feijão é o nome genérico dado a uma grande variedade de sementes de leguminosas da família Fabaceae (Leguminosae). No Brasil, dois gêneros merecem destaque: *Phaseolus* e *Vigna*. O gênero *Phaseolus* compreende aproximadamente 55 espécies, das quais apenas cinco são cultivadas: o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*); o feijão de lima (*P. lunatus*); o feijão Ayocote (*P. coccineus*); o feijão tepari (*P. acutifolius*); e o *P. polyanthus*. O feijoeiro comum é a espécie mais cultivada entre as demais do gênero *Phaseolus* (MECHI; CANIATTI-BRAZACA; ARTHUR, 2005; YOKOYAMA, 2009).

O feijão-de-corda ou caupi (*Vigna unguiculata*) é uma dicotiledônea pertence à subfamília Faboideae (Papilionoideae), gênero *Vigna*. É uma leguminosa de ampla distribuição mundial sendo encontrada principalmente nas regiões tropicais do globo. Sua introdução no Brasil ocorreu no século XVI, por espanhóis e portugueses. Acabou disseminando-se por todo o país e atualmente constitui a principal cultura de subsistência das regiões Norte e Nordeste, especialmente no semi-árido nordestino. Essa cultura possui grande importância na alimentação das populações que vivem nessas regiões, pois fornece um alimento de alto valor nutritivo, além de possuir um baixo custo de produção (FROTA, 2007; MOUSINHO, 2005).

O feijoeiro comum é classificado dentro da subfamília Faboideace, gênero *Phaseolus*. É cultivado em quase todos os países de clima tropical e subtropical, assumindo significativa importância na alimentação humana devido ao seu baixo custo para o consumidor e por ser considerado um alimento balanceado nutricionalmente. É uma fonte alternativa de proteína, sendo utilizado em substituição parcial a carnes e outros produtos protéicos (MECHI; CANIATTI-BRAZACA; ARTHUR, 2005; RESENDE et al., 2008).

O feijão é uma cultura de grande importância econômica, social, nutricional e funcional. É cultivado por pequenos e grandes produtores e além de constituir um dos alimentos básicos da população de países desenvolvidos, é um dos principais fornecedores de proteína na dieta alimentar de populações economicamente menos favorecidas (MECHI; CANIATTI-BRAZACA; ARTHUR, 2005). Na alimentação dos brasileiros, o feijão é a principal fonte de proteínas, seguido, em importância pela carne bovina e arroz. Esses três alimentos básicos contribuem com 70% da ingestão protéica e, nesse sentido, a importância

alimentar do feijão deve-se, especialmente, ao menor custo de sua proteína em relação aos produtos de origem animal (MESQUITA et al., 2007).

A produção mundial de feijão, compreendendo os gêneros *Phaseolus* e *Vigna* é superior a 18 milhões de toneladas. O Brasil ocupa o segundo lugar na produção mundial e o primeiro quando se trata apenas de *Phaseolus vulgaris*. Segundo dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), o consumo atual de feijão no Brasil é de aproximadamente 16 kg/hab/ano, existindo preferências de cor e tipo de grão. Considerando o gênero *Phaseolus*, a variedade preto é mais popular no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, sul e leste do Paraná, Rio de Janeiro, sudeste de Minas Gerais e sul do Espírito Santo. O feijão caupi (*Vigna unguiculata* L.) é mais popular no Norte e Nordeste brasileiro. No restante do país a predominância é do feijão comum variedade carioca (EMBRAPA, 2009; FROTA, 2007). O hábito do consumo de feijão pelas famílias brasileiras, em associação com a ampla adaptação climática dessa cultura, faz com que o feijão esteja distribuído por todo o território nacional (BARROS; MOREIRA, CARNEIRO, 2009).

O feijão é um alimento que fornece nutrientes essenciais ao ser humano, proporcionando diversos benefícios, suprimindo as principais recomendações dietéticas para uma alimentação saudável: consumo de fibras, amido e outros carboidratos complexos e diminuição no consumo de lipídios (MESQUITA et al., 2007). Entretanto, o feijão apresenta vários atributos indesejáveis como os antinutricionais, que interferem na absorção e utilização de minerais, formam complexos que tornam as proteínas indisponíveis e inibem enzimas digestivas (ELSHEIKH; FADUL; EL TINAY, 2000; RIBEIRO; PRUDÊNCIO-FERREIRA; MIYAGUI, 2005).

2.2 FATORES ANTINUTRICIONAIS

2.2.1 Inibidores de tripsina

Nos grãos de leguminosas verifica-se a ocorrência natural dos inibidores de tripsina, proteínas globulares que se ligam irreversivelmente à tripsina e/ou quimiotripsina formando complexos que inativam a atividade proteolítica das enzimas, reduzindo a proteólise e, portanto, o valor nutricional do grão (BONETT et al., 2007).

O feijão apresenta inibidores do tipo Kunitz e Bowman-Birk. Os inibidores Kunitz possuem alto peso molecular, são termolábeis e inibem especificamente a tripsina. Os inibidores do tipo Bowman-Birk inibem simultaneamente tripsina e quimiotripsina,

apresentam baixo peso molecular e são termoestáveis (LAJOLO; GENOVESE, 2002; OSMAN; REID; WEBER, 2002; PIERGIOVANNI; GALASSO, 2004).

De acordo com Lioi et al. (2009), a estabilidade e dupla atividade inibitória dos inibidores Bowman-Birk deve-se a presença de ligações dissulfeto e ligações de hidrogênio que tornam a molécula altamente compacta e resistente a alterações de pH e temperatura.

Diversos autores relataram que a estabilidade térmica dos inibidores de tripsina presentes no feijão é dependente da temperatura e tempo empregado no processamento, tamanho das partículas submetidas ao tratamento e condições de umidade da amostra (CARVALHO et al., 2002; KHATTAB; ARNTFIELD, 2009; SHIMELIS; RAKSHIT, 2007).

2.2.2 Inibidores de α -amilase

Os inibidores de α -amilase são encontrados em diversos cereais, leguminosas, tubérculos e frutas. Eles são responsáveis por reduzir a velocidade de digestão do amido na boca e intestino delgado, afetando a liberação de glicose para o sangue (FUNKE; MELZIG, 2006; SILVA et al., 2004; SVENSSON et al., 2004).

Esses inibidores são classificados em protéicos e não protéicos. A classe dos inibidores de α -amilase não proteináceos possui diversos tipos de compostos orgânicos, que desempenham atividade inibitória por apresentarem estrutura que se assemelha ao substrato, possibilitando sua ligação aos sítios catalíticos da enzima. Os inibidores de natureza protéica apresentam variadas classes e mecanismos de inibição, modificando a estrutura da enzima (FRANCO et al., 2002b).

Esses inibidores atuam como um mecanismo de defesa do feijão contra o ataque de insetos, principalmente as larvas de bruquídeos, atrapalhando sua digestão, absorção de glicose e reprodução (SANTIMORE et al., 2004; SILVA et al., 2004).

O efeito antinutricional observado em mamíferos é decorrente da inativação da α -amilase salivar e pancreática, o que reduz a digestibilidade de amido e acarreta uma diminuição do valor nutricional do grão (EL-HADY; HABIBA, 2003; MOSCA et al., 2008).

2.2.3 Ácido fítico

Os fitatos compreendem uma complexa classe de componentes naturais presentes em cereais e leguminosas que afetam as suas propriedades funcionais e nutricionais. O ácido fítico (inositol hexafosfato) presente no grão de feijão é um dos principais inibidores da disponibilidade de cátions bivalentes como Fe^{+2} não-heme, Zn^{+2} , Mg^{+2} e Ca^{+2} (SANDERBERG, 2002). Além disso, interagem com aminoácidos das cadeias laterais de

enzimas como pepsina, pancreatina e α -amilase, inibindo a ação enzimática, o que afeta a digestibilidade protéica e de amido (ALMEIDA et al., 2008; LIANG et al., 2008).

A capacidade de complexação do ácido fítico está relacionada com a carga negativa da molécula. Em pH neutro ou levemente ácido (inferior ao seu pKa), os grupamentos fosfato do ácido fítico expõem suas cargas negativas, favorecendo a complexação direta ou indireta com cátions bivalentes, amido e proteínas, o que ocasiona alteração da digestibilidade e conseqüente absorção destes nutrientes (ALMEIDA et al., 2008; FUKUJI et al., 2008).

As proteínas, quando em pH menor que o ponto isoelétrico adquirem carga positiva e se complexam com o ácido fítico através de ligações eletrostáticas. Por outro lado, quando negativamente carregadas, ligam-se indiretamente, por interações mediadas por cátions multivalentes. Os complexos formados são resistentes ao ataque proteolítico em função da obstrução de sítios de ataque enzimático que estavam expostos na proteína nativa (OLIVEIRA et al., 2003; PALLAUF; RIMBACH, 1997).

Entretanto, segundo Fukuji et al. (2008), o ácido fítico pode atuar como um potente antioxidante. Tal efeito é atribuído à formação do complexo fitato-Fe, que inativa a atividade catalítica deste metal. Além disso, Dominguez, Gómez e León (2002) demonstraram em estudos *in vivo*, efeitos benéficos do ácido fítico à saúde, por sua ação indireta na diminuição do colesterol e triglicérides, prevenção de câncer e doenças cardiovasculares, controle de cáries e redução na formação de cálculos renais.

O ácido fítico também é empregado como antioxidante em carnes, macarrão pré-cozido e produtos de panificação, para prevenir a descoloração, melhorar a qualidade nutricional e prolongar a vida de prateleira dos produtos (FUKUJI et al., 2008).

2.2.4 Lectinas

As lectinas são moléculas protéicas amplamente distribuídas na natureza, podendo ser encontradas em microrganismos, animais e plantas. Em grãos de leguminosas, estão localizadas principalmente nos cotilédones, em pequenas quantidades nos embriões e casca. Essas proteínas são capazes de se unir de forma reversível a carboidratos e glicoconjugados de natureza não imunológica (BONETT et al., 2007; ZHANG et al., 2009). Em função da sua capacidade de ligação a carboidratos, podem ser utilizadas para transporte e armazenamento de açúcares, diferenciação de grupos sanguíneos e reconhecimento de células cancerosas (VASCONCELOS; OLIVEIRA, 2004).

Estudos *in vivo* indicaram que lectinas de leguminosas (fitohemaglutininas) provocam inibição do crescimento, hipertrofia do pâncreas, diminuição da insulina circulante, inibição

de proteases intestinais, alterações degenerativas no fígado e interferência na absorção de lipídios e ferro não-heme. (CLARKE; WISEMAN, 2000).

As lectinas do feijão interagem especificamente com resíduos de carboidratos existentes na membrana das hemácias, linfócitos, carcinomas e enterócitos. No trato gastrintestinal, sua ação antinutricional também está relacionada com a formação da interação lectina-enterócito que provoca uma desorganização da célula e formação de uma barreira que impede a absorção de nutrientes. Rossi, Mancini-Filho e Lajolo (1984) observaram que grande parte das lectinas do feijão chega intacta ao intestino delgado onde interagem com enterócitos e ocasionam alterações nas funções digestivas, absorptivas, secretoras e protetoras dessas células.

Além disso, a ligação cruzada formada entre as lectinas e as glicoproteínas dos enterócitos pode provocar a ruptura da célula e conseqüente absorção anormal de íons, nutrientes e substâncias tóxicas. Uma vez na corrente sanguínea, as lectinas interferem no metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídios (MANCINI-FILHO, 1990).

Apesar de seus efeitos tóxicos *in vivo*, a maior parte das lectinas pode ser inativada ou inibida quando submetida a tratamentos térmicos (ALONSO et al., 2001; MARZO et al., 2002).

2.3 EFEITO *HARD-TO-COOK*

A qualidade dos feijões é determinada por fatores como a aceitabilidade do consumidor, propriedades de maceração e cozimento, além do valor nutricional. Esses fatores são influenciados pelas condições de armazenamento do grão, que podem interferir na qualidade final dos feijões.

Feijões submetidos a longos períodos de armazenamento em alta temperatura (30 a 40 °C) e umidade (> 75%), condições comuns em países tropicais como o Brasil, apresentam perda gradual da qualidade nutricional e sensorial (NASAR-ABBAS et al., 2008; SHIGA; CORDENUNSI; LAJOLO, 2009). As alterações físicas, biológicas e químicas ocorridas durante a estocagem tornam os grãos endurecidos, fenômeno conhecido como efeito Hard-To-Cook (HTC) ou “difícil de cozinhar”. Esse fenômeno causa o aumento do tempo de cocção, alterações de textura e sabor e diminuição do valor nutritivo do feijão (MARTÍN-CABREJAS et al., 1999; RUIZ-RUIZ et al., 2008).

O grau de endurecimento e a rapidez em que o fenômeno HTC se desenvolve também podem estar relacionados às condições de clima e composição do solo no qual os feijões são cultivados. Paredes-López, Barradas e Reyes-Moreno (1989) constataram que os feijões apresentavam maior grau de dureza e velocidade de desenvolvimento do endurecimento quando os grãos eram provenientes de plantas cultivadas em solo rico em íons bivalentes.

Muitas hipóteses têm sido propostas para explicar os mecanismos que causam o fenômeno HTC, como (1) a formação de pectatos insolúveis; (2) aumento de taninos condensados na casca e migração de taninos solúveis para os colitédones do grão; (3) oxidação e/ou polimerização lipídica; (4) desnaturação e/ou associação protéica; (5) formação de complexos entre polifenóis, proteínas e pectina; (5) complexação de taninos com macromoléculas da lamela média e (6) mecanismos múltiplos (GARCIA et al., 1998; DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999; RIBEIRO; PRUDENCIO-FERREIRA; MIYAGUI, 2005).

Feijões endurecidos apresentam uma menor aceitação pelos consumidores e resultam em importantes perdas. Portanto é de grande importância tanto a prevenção do endurecimento como a utilização de processamentos que viabilizem a utilização de grãos endurecidos. Para prevenir o endurecimento dos feijões, medidas como armazenamento apropriado, uso de atmosfera controlada, pré-tratamentos e o desenvolvimento de sementes menos propensas ao efeito HTC devem ser adotadas. Além disso, a aplicação de tecnologias alternativas como descascamento, maceração, fermentação e extrusão podem melhorar o valor nutritivo de feijões HTC e reduzir as perdas em função do endurecimento (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; DONADEL; PRUDENCIO-FERREIRA, 1999; RUIZ-RUIZ et al., 2008).

2.4 EXTRUSÃO

Dentre os métodos de processamento que possibilitam a utilização de grãos endurecidos está o método de extrusão. A extrusão é um processo de cocção industrial realizado pela combinação de umidade, alta pressão, calor e atrito mecânico por um curto período de tempo no interior de um tubo. Pode ser definida como um processo em que diferentes ingredientes são submetidos a operações de mistura contínua, cisalhamento, cozimento e pressão a fim de se reestruturar o material e comprimi-lo sob fluxo definido contra um molde, para dar forma, expandir e texturizar o produto. (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; DING et al., 2005).

O uso contínuo de extrusão na alimentação humana iniciou-se na década de 40 com a produção de salgadinhos de milho (*snacks*), cereais expandidos e macarrão. Atualmente, o processo de extrusão é empregado na manufatura de vários salgadinhos, massas, proteínas vegetais texturizadas, cereais matinas e derivados. Além disso, o processo de extrusão é amplamente utilizado para processar, misturar, melhorar funcionalmente, desintoxicar, esterilizar e texturizar uma variedade de produtos e ingredientes alimentares (GUJRAL; SINGH; SINGH, 2001; DING et al., 2005).

A extrusão termoplástica constitui um processo HTST (High Temperature – Short Time, alta temperatura – curto tempo) no qual um material hidratado é introduzido num cilindro e conduzido em uma única direção e sentido ao longo de um canhão (SINGH; GAMLATH; WAKELING, 2007).

O extrusor é um equipamento constituído de alimentador, cilindro encamisado ou barril, parafuso e matriz (**Figura 1**). Tipicamente no processo de extrusão há a associação de altas temperaturas, curto tempo de residência e alta pressão e força de cisalhamento. A adição de calor ao material se dá à medida que este passa através do parafuso por um ou mais dos seguintes mecanismos (BORBA, 2005):

- Dissipação de energia mecânica que é adicionada ao eixo do parafuso;
- Transferência de calor de aquecedores que cercam o barril;
- Injeção direta de vapor, que é misturado com a massa no interior do barril.

Em extrusores que apresentam uma única temperatura de aquecimento, o desenho do parafuso e o comprimento do barril irão determinar a intensidade das alterações provocadas no material extrusado. Em extrusores com diferentes zonas de aquecimento, a temperatura em cada zona, associada às configurações do barril e parafuso determinam as modificações que o material sofrerá durante o processo (BORBA, 2005).

À medida que o material se move dentro do cilindro ocorre o aumento da pressão interna em função da restrição de fluxo na saída do extrusor (diâmetro reduzido do orifício da matriz). Quando o sulco do parafuso do extrusor está totalmente preenchido de material, o produto é submetido a uma alta força de cisalhamento que promove o alinhamento de moléculas e origina ligações cruzadas e reestruturação do material (BORBA, 2005).

A tecnologia de extrusão tem se tornado um dos principais processos no desenvolvimento de produtos alimentícios, uma vez que ocasiona a destruição total ou parcial de fatores antinutricionais, inativação de micotoxinas e alérgenos e eliminação de microrganismos contaminantes. Além disso, promove a gelatinização do amido, desnaturação e re-orientação das proteínas, ruptura de pontes de hidrogênio, inativação enzimática,

homogeneização e fusão de gorduras. Em resumo, a extrusão afeta as características nutricionais dos extrusados, alterando a disponibilidade de proteínas, carboidratos, lipídios e vitaminas (MENEGASSI et al., 2007; TRAN; HENDRIKS; VAN DER POEL, 2008).

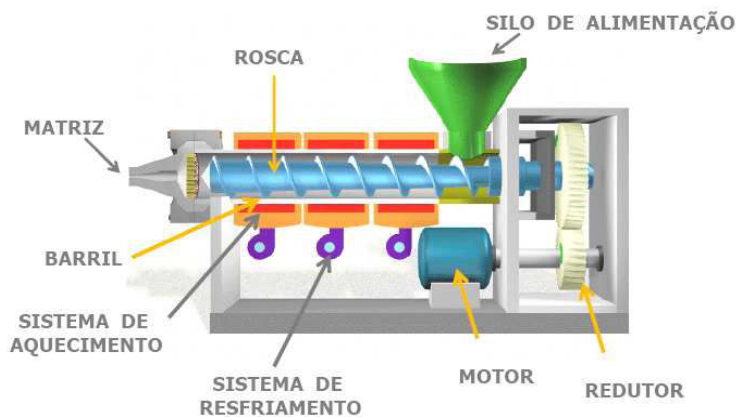


Figura 1. Representação esquemática de um extrusor.

A transformação do material durante a extrusão se processa em etapas distintas que envolvem a plasticização, onde o material sólido torna-se um líquido homogêneo pela sua fusão dentro do cilindro aquecido; modelamento do material em estado fundido pela passagem através da matriz; e cozimento e texturização do produto (BORBA, 2005).

Os extrusores podem apresentar uma ou duas roscas, sendo que cada tipo possui uma gama específica de aplicações. O extrusor de rosca única tem vantagens em termos de custo, operação e manutenção quando comparado com um de dupla rosca. Entretanto, apresenta limite com materiais com mais de 4% de lipídios, 10% de açúcar e 30% de umidade (REIFSTECK; JEON, 2000).

A utilização de extrusão pela indústria de alimentos difundiu-se muito nos últimos anos por apresentar uma série de vantagens em relação aos processos tradicionais. A extrusão é um processo que apresenta alta produtividade e grande versatilidade; gera produtos de alta qualidade uma vez que o emprego de alta temperatura por um curto período de tempo ocasiona redução de antinutricionais ao mesmo tempo em que causa pequena degradação de nutrientes; é um processo que produz pouco ou nenhum resíduo e não gera problemas de poluição ambiental; possui baixo requerimento de mão de obra e espaço por unidade de produção, além de ser considerado de baixo custo em relação a outros processos de cocção, pois converte eficientemente energia elétrica em energia térmica (AINSWORTH et al., 1999; SINGH; SEKHON; NAGI, 1994; STANLEY, 1986).

2.4.1 Efeito da extrusão no amido e lipídios

As características físicas e químicas dos produtos extrusados são afetadas pela viscosidade do material no interior do barril, que está relacionada com o grau de gelatinização do amido. A extrusão ocasiona o inchaço e ruptura dos grânulos de amido do material, que provocam alteração na solubilidade, viscosidade e propriedades da amilose e amilopectina, gelatinizando o amido e aumentando, de modo geral, sua digestibilidade (DUST et al., 2004; MURRAY et al., 2001; SVIHUS; UHLEN; HARSTAD, 2005).

Entretanto, condições severas de temperatura de extrusão podem ocasionar a formação de complexos de amido com lipídios através da ligação cruzada entre o núcleo hidrofóbico da molécula de amilose e hidrocarbonetos de moléculas lipídicas, diminuindo a acessibilidade das enzimas aos sítios de clivagem, com conseqüente redução da digestibilidade do amido (ASP; BJÖRCK, 1989).

Sob condições de alta umidade e temperatura, a extrusão também pode favorecer a formação de complexos entre lipídios e proteínas, pois a combinação de umidade, temperatura e força mecânica causam a hidrólise das moléculas lipídicas e aumentam a taxa de complexação de hidrocarbonetos com os aminoácidos hidrofóbicos das cadeias laterais das proteínas desnaturadas durante o processo, interferindo na digestibilidade protéica (ASP; BJÖRCK, 1989).

2.4.2 Efeito da extrusão nas proteínas e antinutricionais

A combinação de temperatura, umidade e força de cisalhamento durante o processo de extrusão causa a desnaturação e agregação das proteínas. O tratamento térmico provoca uma reorganização da estrutura das proteínas, o que pode aumentar a exposição de sítios de ataque proteolítico e melhorar a digestibilidade protéica (RUIZ-RUIZ et al., 2008; ANTON; FULCHER; ARNTFIELD, 2009). Entretanto, alguns efeitos indesejáveis como modificações químicas de aminoácidos e ocorrência de reação de Maillard podem diminuir a qualidade nutricional dos extrusados (IWE et al., 2001).

Por ocasionar desnaturação de proteínas, a extrusão reduz eficientemente o conteúdo de antinutricionais proteináceos como lectinas e inibidores enzimáticos (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000). Além disso, os antinutricionais não protéicos como ácido fítico, taninos e polifenóis sofrem degradação parcial ou complexação com proteínas e carboidratos, reduzindo assim, sua interferência na disponibilização e absorção de nutrientes (RUIZ-RUIZ et al., 2008).

2.5 PROPRIEDADES FUNCIONAIS TECNOLÓGICAS

Os feijões apresentam boas características químicas, sendo uma importante fonte de proteínas e carboidratos. Porém, a utilização de sua farinha como ingrediente alimentar necessita de investigações quanto à sua funcionalidade. De acordo com Mizubuti et al. (2000), entende-se por funcionalidade qualquer propriedade de um ingrediente alimentar, com exceção da propriedade nutricional, que afeta a sua utilização. Portanto, qualquer propriedade físico-química que afeta o comportamento das biomoléculas de num alimento pode ser considerada uma propriedade funcional.

As propriedades funcionais refletem a completa interação entre a composição de aminoácidos, estrutura, conformação e propriedades físico-químicas das proteínas, além da interação destas com lipídios, carboidratos e outros componentes do alimento (KINSELLA, 1976).

Para que determinado ingrediente tenha aplicação alimentar, propriedades como hidratação, emulsificação, formação de espuma, absorção de água e óleo, solubilidade e geleificação são, associadas ao valor nutricional, características importantes a serem avaliadas (MIZUBUTI et al., 2000).

2.5.1 Solubilidade e capacidade de absorção de água

Solubilidade é a medida da capacidade de uma determinada substância dissolver-se num líquido e, é influenciada pela quantidade de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos presentes na superfície dos compostos a serem solubilizados, das interações entre as próprias biomoléculas e entre essas moléculas e a água.

No caso da farinha de feijão, composta principalmente por carboidratos e proteínas, a solubilidade é um parâmetro que reflete o equilíbrio entre as interações proteína-proteína e proteína-água, proteínas-biomolécula, e as interações entre moléculas de carboidrato com a água, entre si, e com os demais componentes do alimento (CAMARGO; LEONEL; MISCHAN, 2008; CROCHET et al., 2005).

A capacidade de absorção de água representa a quantidade de água ligada às moléculas que constituem o alimento, relacionada com a quantidade de água que permanece nas proteínas e carboidratos após exposição a um excesso de água e aplicação de uma força de centrifugação ou pressão (SGARBIERI, 1996).

A solubilidade e absorção de água dependem do número de cargas e grupos hidrofílicos presentes nas moléculas de proteínas e carboidratos, pois, quanto maior o número

de grupos polares, mais solúveis e capazes de reter água são estes compostos (CAMARGO; LEONEL; MISCHAN, 2008; KINSELLA, 1976). Portanto, as características dos carboidratos e proteínas presentes no feijão irão determinar a solubilidade e capacidade de absorção de água da farinha (WANG et al., 2006).

Durante o processo de extrusão, as proteínas do feijão são desnaturadas pela combinação de alta temperatura e força mecânica no interior do barril. Essa desnaturação pode ocasionar um desequilíbrio hidrofóbico/hidrofílico na superfície da molécula, provocando alterações conformacionais que alteram sua solubilidade (ALONSO et al., 2000; HERNÁNDEZ-DIAS et al., 2007). Além disso, as condições de extrusão podem ocasionar gelatinização ou hidrólise da molécula de amido, que pode apresentar modificação na capacidade de interagir com as moléculas de água, o que interfere na solubilidade (FILLI, NKAMA, 2007; ALTAN, McCARTHY; MASKAN, 2009).

2.5.2 Capacidade de absorção de óleo

As proteínas podem interagir com lipídios através de interações hidrofóbicas entre as cadeias apolares de lipídios e os resíduos de aminoácidos lipofílicos das cadeias protéicas (RAVI; SUSHELAMMA, 2005). Desse modo, a capacidade de absorção de óleo é influenciada pelo perfil protéico da farinha de feijão.

Os tratamentos térmicos podem ocasionar alterações nessa propriedade funcional por alterarem a estrutura protéica. Processos que ocasionam desnaturação de proteínas podem provocar alteração da hidrofobicidade e afetar sua interação com as moléculas lipídicas (ZHENG et al., 2008).

2.5.3 Propriedades emulsificantes

Emulsões são misturas de dois líquidos imiscíveis, estando um deles disperso no outro em forma de gotículas microscópicas. São termodinamicamente instáveis por causa da alta tensão existente na interface entre o óleo e a água (DAS; KINSELLA, 1990).

Para que uma emulsão seja estável é necessária a presença de agentes emulsificantes, responsáveis por diminuir a tensão superficial existente entre as duas fases e reduzir o nível energético do sistema. Um bom agente emulsificante, portanto, deve apresentar uma estrutura anfipática para possibilitar a formação de um filme protetor ao redor das gotículas dispersas (SGARBIERI, 1996). Dessa forma, a natureza anfipática das proteínas habilita essas moléculas a atuarem como excelentes agentes emulsificantes, além de aumentar a estabilidade mecânica da emulsão.

A redução da tensão superficial durante a emulsificação acontece em função de três processos: difusão das moléculas de proteína e sua incorporação na interface, desdobramento das moléculas de proteínas adsorvidas e, rearranjo molecular na superfície das moléculas adsorvidas (PEARCE; KINSELLA, 1978). As proteínas diferem significativamente em suas propriedades ativas de superfície dependendo dos resíduos hidrofílicos e hidrofóbicos presentes na molécula e nas diferenças em sua conformação. As variações de estabilidade e flexibilidade da cadeia polipeptídica, meio no qual as proteínas estão dispersas e o padrão de distribuição dos grupos polares e apolares na superfície da proteína alteram sua capacidade de formar e estabilizar emulsões (ZHENG et al., 2008).

A desnaturação e agregação protéica ocorridas durante um processamento térmico pode alterar o caráter anfipático da proteína e as suas propriedades conformacionais, resultando em um comportamento diferente no que se refere à formação e estabilização de sistemas emulsionados (ROCHA-GUZMÁN et al., 2008; WANG et al., 2006). Desse modo, as características de emulsificação desejadas no extrusado devem ser otimizadas alterando-se as variáveis do processo de extrusão com base na aplicação do produto final.

2.5.4 Propriedades espumantes

Espumas consistem em dispersões de bolhas de ar em uma fase contínua líquida. Nos alimentos, as proteínas são o principal agente de superfície responsável pela formação e estabilização da dispersão ar-água por serem capazes de formar um filme na interface gás-líquido (RIBEIRO, 2003).

Para que uma proteína seja um bom agente espumante, deve apresentar alta flexibilidade conformacional, rearranjando-se rapidamente na superfície de modo a formar interações intermoleculares que promovam a redução da tensão superficial e formação de um filme viscoelástico coeso, dando estabilidade às bolhas de ar formadas (RIBEIRO, 2003; ZHENG et al., 2008).

Dentre os fatores que podem afetar as propriedades espumantes de determinado alimento, pode-se citar as alterações na flexibilidade conformacional das proteínas e condições do meio em que estas estão inseridas. Os processos térmicos podem promover o afrouxamento da estrutura protéica, o que melhora sua flexibilidade e, conseqüentemente, sua capacidade de formação de espuma. Entretanto, sob condições de alta temperatura e pressão, a desnaturação protéica pode ocasionar agregação de proteínas, diminuindo sua capacidade de se adaptar às alterações do microambiente, o que provoca uma redução ou mesmo uma eliminação da capacidade de formação de espuma (RIBEIRO, 2003; ZHENG et al., 2008)

2.5.5 Gelatinização e geleificação

A gelatinização do amido e geleificação das proteínas durante o aquecimento e a gelificação do amido durante o resfriamento são responsáveis pela qualidade e características típicas de muitos alimentos.

A gelatinização do amido é resultado do inchaço e ruptura dos grânulos de amido, que permite a solubilização da amilose e amilopectina e gera uma pasta viscosa. De acordo com Garcia et al. (1997) a desorganização dos grânulos de amido por tratamento térmico depende das condições de umidade e constituição do grânulo de amido. O fenômeno de gelatinização é de grande importância para vários sistemas alimentícios, pois os grânulos de amido nativo são insolúveis em água com temperatura abaixo de sua temperatura de gelatinização (ELLIS et al., 1998).

Diferentemente da gelatinização, a geleificação do amido é um processo que ocorre durante o resfriamento e armazenamento da pasta. A formação do gel de amido ocorre em duas etapas envolvendo a separação de fases, resultado da agregação das moléculas de amilose e amilopectina que formam uma rede tridimensional; e a cristalização ou retrogradação, caracterizada pelo alinhamento das cadeias de polímeros agregadas no gel para formar cristais, endurecendo o gel e expulsando parte da água para fora da rede, fenômeno denominado sinerese (FRANCO et al., 2002a).

Os géis protéicos são compostos de uma matriz tridimensional, de redes cruzadas e de associação entre as cadeias polipeptídicas que ocorrem de maneira ordenada e são capazes de imobilizar uma grande parte de água. Segundo Fiora, Pilosof e Bartholomai (1990), a formação do gel protéico requer o aquecimento da proteína e o processo de geleificação ocorre em duas etapas:

- Desnaturação da proteína nativa com desenovelamento da cadeia polipeptídica e formação de interações intramoleculares, originando o pró-gel;
- Associação de moléculas desnaturadas formando uma matriz de gel capaz de reter água, lipídios, açúcar e outras substâncias.

A rede formada nos géis protéicos é resultante de um equilíbrio entre interações proteína-proteína e proteína-solvente e as forças repulsivas e de atração entre as moléculas, sendo que, a concentração de proteínas na dispersão é um dos fatores mais importantes que determina as características finais dos géis. A maioria das proteínas apresenta uma concentração mínima para que ocorra o processo de geleificação (COFFMANN; GARCIA, 1977).

Portanto, a capacidade de formação de gel das farinhas de feijão depende do somatório das propriedades de gel de amido e proteínas, além das interações repulsivas e atrativas existentes entre as moléculas protéicas e as moléculas de amilose e amilopectina.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar o efeito da extrusão nas propriedades nutricionais e tecnológicas de farinhas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) e caupi (*Vigna unguiculata*) endurecidos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Determinar a composição química das farinhas cruas e extrusadas;
- ❖ Verificar as alterações nas propriedades físicas (cor e expansão) da farinha dos feijões endurecidos submetidos à extrusão;
- ❖ Analisar o efeito do processo de extrusão nas propriedades funcionais das farinhas;
- ❖ Determinar as alterações causadas pela extrusão no conteúdo de antinutricionais;
- ❖ Avaliar a digestibilidade *in vitro* das farinhas antes e após a extrusão.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Para a realização do trabalho utilizou-se variedades de *Phaseolus vulgaris* e *Vigna unguiculata* endurecidos. As cultivares BRS Pontal (carioca) e BRS Grafite (preto) (*Phaseolus vulgaris* L.) foram obtidas na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Arroz-Feijão. O feijão Caupi (*Vigna unguiculata*) foi adquirido da fazenda Rússia, Iguatu, Ceará. Todos os feijões foram provenientes da safra 2007/08 e já apresentavam desenvolvimento do efeito *hard-to-cook*.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Obtenção das farinhas

Para a obtenção das farinhas os grãos de feijão foram primeiramente triturados em moinho de facas (Tecnal), e posteriormente triturados em moinho de laboratório (Tecnal). A farinha foi peneirada em tamis de 35 mesh (0,425 mm), acondicionada em sacos de polietileno e armazenada sob refrigeração (4°C).

4.2.2 Composição centesimal

Os teores de umidade (método nº 925.09), cinzas (método nº 923.03), proteínas (método nº 954.01, utilizando fator de conversão 6,25) e lipídios (método nº 920.39) foram determinados, em triplicata, nas farinhas cruas e extrusadas, de acordo com metodologia descrita pela AOAC (2000). O teor de carboidratos foi determinado por diferença, utilizando a equação abaixo:

$$\% \text{ Carboidratos (base seca)} = 100 - (\% \text{ cinzas} + \% \text{ proteínas} + \% \text{ lipídios})$$

4.2.3 Determinação dos parâmetros de extrusão

As condições de extrusão foram estabelecidas com base nos trabalhos de Alonso et al. (2001), Drago et al. (2007), Korus, Gumul e Czechowska (2007) e Ruiz-Ruiz et al. (2008). Os parâmetros do extrusor foram mantidos fixos e apenas a umidade das farinhas foi variada.

Testou-se farinhas da cultivar BRS pontal (0,425 mm de granulometria) em três valores de umidade (20%, 25% e 30%, em base seca).

Após testes preliminares a umidade de extrusão foi fixada em 20% (b.s.) e os parâmetros utilizados no processo de extrusão foram:

- Temperatura de extrusão: 80 °C (1ª zona), 140 °C (2ª zona), 150 °C (3ª zona) e 130 °C (4ª zona/matriz);
- Rosca: 420 mm de comprimento e 19,4 mm de diâmetro;
- Abertura da matriz: 5 mm;
- Rotação da rosca: 150 rpm.

4.2.4 Extrusão

A extrusão foi efetuada em extrusor de alimentos Ceraltec International (Brasil), modelo CT-L15, rosca simples, com sistema de aquecimento por resistência elétrica na camisa de extrusão, sensores de monitoramento de temperatura e velocidade de rotação variável.

A umidade das farinhas foi corrigida para uma umidade final de 20% (b.s.). A umidificação foi realizada com água destilada borrifada sobre a farinha, seguida de homogeneização manual. As amostras homogeneizadas foram peneiradas em tamis de 35 mesh para uniformizar o tamanho das partículas, acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas overnight sob refrigeração (4 °C). A umidade foi confirmada posteriormente por secagem em estufa a 105 °C até peso constante (AOAC, 2000).

As amostras foram retiradas da geladeira e deixadas à temperatura ambiente por 2 horas antes do início do processo de extrusão. A extrusão de cada amostra foi iniciada após as quatro zonas de aquecimento do extrusor atingirem as temperaturas desejadas. Houve um descarte do produto gerado inicialmente, sendo aproveitado apenas o material coletado após o processo atingir o equilíbrio. Ao final do processamento, os extrusados foram deixados à temperatura ambiente por 4 horas. Procedeu-se com a determinação do índice de expansão, seguida pelo acondicionamento dos produtos extrusados em sacos de polietileno e armazenamento à temperatura ambiente para posterior moagem.

Os extrusados foram triturados em moinho laboratorial (Tecnal), peneirados em tamis de 35 mesh e as partículas maiores que 0,425 mm foram desprezadas (2% do material). As farinhas foram acondicionadas em sacos de polietileno e mantidas sob refrigeração (4 °C) para análises posteriores.

4.2.5 Propriedades físicas das farinhas

4.2.5.1 Índice de expansão

O índice de expansão foi calculado dividindo-se o diâmetro da amostra pelo diâmetro da matriz do extrusor, conforme metodologia descrita por Ruiz-Ruiz et al. (2008), utilizando paquímetro Vonder modelo PA 205. O valor considerado foi obtido pela média aritmética das medidas de 15 diferentes extrusados de cada cultivar.

4.2.5.2 Cor

A cor das farinhas foi avaliada em colorímetro BYK Gardner, modelo color-guide 45/0. Os resultados foram expressos em valores L^* , a^* , b^* , onde os valores de L^* (luminosidade ou brilho) variam do preto (0) ao branco (100), os valores do croma a^* variam do verde ($-a^*$) ao vermelho ($+a^*$) e os valores do croma b^* variam do azul ($-b^*$) ao amarelo ($+b^*$). Os resultados obtidos também foram apresentados em termos de diferença de cor (DCO), utilizando a seguinte equação:

$$DCO = [\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2]^{\frac{1}{2}}$$

Onde:

$\Delta L = L_0$ (luminosidade da farinha crua) – L_e (luminosidade da farinha extrusada)

$\Delta a = a_0$ (valor de a^* da farinha crua) – a_e (valor de a^* da farinha extrusada)

$\Delta b = b_0$ (valor de b^* da farinha crua) – b_e (valor de b^* da farinha extrusada)

4.2.6 Fatores antinutricionais

4.2.6.1 Inibidor de tripsina

A análise dos inibidores de tripsina foi realizada segundo metodologia descrita por Kunitz modificada por Arnon (1970). Extratos a 1% (p/v) das farinhas crua e extrusada foram preparados em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,6, sob agitação a 4 °C por 30 min. 500 µL de extrato foram adicionados a 400 µL de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,6 e 100 µL de solução de tripsina 0,5 mg mL⁻¹. A solução foi incubada por 10 min a 37 °C e posteriormente adicionou-se 1 mL de solução de caseína 1% (p/v), deixando reagir por mais 10 min a 37 °C. A reação foi interrompida com a adição de 3 mL de ácido tricloroacético (10% v/v) e os tubos deixados à temperatura ambiente por 30 min. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a 5000 rpm por 10 min e a leitura da absorbância realizada em comprimento de onda de 280 nm em espectrofotômetro BEL SP 2000. Uma unidade de enzima (UE) foi definida como sendo a

alteração de 0,1 na absorbância a 280 nm. A unidade de inibição (UIT) foi determinada de acordo com a seguinte equação:

$$\text{UIT (UI mg}^{-1}\text{)} = UE_{\text{enzima sem extrato}} - UE_{\text{enzima + extrato de feijão}}$$

4.2.6.2 Inibidor de α -amilase

A atividade dos inibidores de α -amilase foi determinada de acordo com Deshpande et al (1982), usando amido como substrato para a enzima. Extratos a 1% (p/v) das farinhas crua e extrusada foram preparados previamente em tampão acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ pH 5,0 sob agitação a 4 °C por 30 min. A reação foi conduzida colocando-se 100 μ L de solução de amido 0,5% (p/v) em um tubo contendo 20 μ L de extrato de farinha de feijão, 60 μ L de tampão acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ pH 5,0 e 20 μ L de α -amilase. A reação foi incubada a 40 °C por 15 min.

Em seguida, uma alíquota de 100 μ L foi retirada do meio de reação, adicionada em tubo contendo 1 mL do reagente ADNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) e incubada por 5 minutos em banho fervente (100 °C). As amostras foram, então, resfriadas a temperatura ambiente (25 °C) e a leitura da absorbância realizada a 550 nm. A atividade da α -amilase foi definida como a quantidade, em microgramas, de açúcar redutor produzido em 1 mL de amostra em 1 min de reação. Uma unidade de inibição foi determinada como a quantidade de inibidor capaz de inibir uma unidade de α -amilase.

4.2.6.3 Ácido fítico

O conteúdo de ácido fítico presente nas farinhas foi determinado pelo método descrito por Latta e Eskin (1980) com modificações para a resina DOWEX-AGX-4 de acordo com Ellis e Morris (1986). A 1 g de farinha (base seca) adicionou-se 10 mL de HCl 2,4% e procedeu-se agitação à temperatura ambiente (25°C) por 1 hora. A amostra foi centrifugada a 5000 rpm por 10 min. 2 mL do sobrenadante foram transferidos para balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com água destilada. Para a preparação da coluna utilizou-se 0,5 g de resina DOWEX-AGX-4, procedendo eluição de 10 mL NaCl 0,7 mol L⁻¹ e 10 mL de água destilada antes de eluir o extrato. 2 mL do extrato diluído foram aplicados na coluna contendo a resina e, em seguida fez-se eluição com 10 mL de NaCl 0,7 mol L⁻¹. 3 mL do eluato foram adicionados a 1 mL de reagente de Wade e deixados à temperatura ambiente por 15 min. As alterações na absorbância foram analisadas a 500 nm e comparadas com uma curva padrão de ácido fítico (Sigma, P8810).

4.2.6.4 Atividade hemaglutinante

A capacidade de hemaglutinação das farinhas foi determinada usando sangue de coelho de acordo com metodologia descrita por Moreira e Perrone (1977), com algumas modificações. Os extratos das farinhas cruas e extrusadas (1% p/v) sofreram diluição seriada com solução salina 0,15 mol L⁻¹. 200 µL de uma suspensão de eritrócitos de coelho a 2% (v/v) foi adicionada a igual volume de extrato (nas diferentes diluições), incubada a 37 °C por 30 min seguida de repouso a temperatura ambiente (25 °C) por 30 min. Os tubos foram centrifugados a 3000 rpm por 1 min e analisados a olho nu quanto à presença ou ausência de aglutinação.

4.2.7 Propriedades funcionais

4.2.7.1 Índice de absorção de água (IAA)

O Índice de absorção de água (IAA) das farinhas extrusada e não extrusada foi determinado segundo metodologia adaptada de Okezie e Bello (1988). Uma suspensão com 25 mL de água e 0,5 g de farinha (base seca) foi preparada em tubos de centrífuga com tampa. Os tubos foram agitados por 1 minuto em agitador EVLAB e em seguida centrifugados a 5300 rpm por 20 minutos em centrífuga MSE Harrier, modelo 15/80. O líquido sobrenadante foi escorrido cuidadosamente, o material remanescente (farinha úmida) foi pesado e a diferença entre o peso da amostra antes e após a absorção de água representou a quantidade de água absorvida. A medida do índice de absorção de água foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de absorção de água (IAA)} = \frac{\text{água absorvida pela amostra(g)}}{\text{peso da amostra(g)}}$$

4.2.7.2 Solubilidade em água

A solubilidade em água foi determinada de acordo com Okezie e Bello (1988). Uma suspensão com 25 mL de água e 0,5 g de farinha (base seca) foi preparada em tubos de centrífuga com tampa. Os tubos foram agitados por 1 minuto em agitador EVLAB e em seguida centrifugados a 5300 rpm por 20 minutos em centrífuga MSE Harrier, modelo 15/80. O líquido sobrenadante foi escorrido cuidadosamente em placa de petri previamente tarada e levado à estufa para secagem.

A solubilidade em água foi calculada pela relação entre o peso do resíduo seco do sobrenadante (resíduo de evaporação) e o peso da amostra, conforme a fórmula:

$$\text{Solubilidade em água} = \frac{\text{resíduo de evaporação(g)}}{\text{peso da amostra(g)}} \times 100$$

4.2.7.3 Capacidade de absorção de óleo (CAO)

A capacidade de absorção de óleo foi determinada conforme metodologia descrita por Okezie e Bello (1988), para absorção de água, substituindo a água por óleo de soja. Os resultados foram calculados de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Capacidade de absorção de óleo (CAO)} = \frac{\text{gramas de óleo absorvido pela amostra}}{\text{grama de amostra (base seca)}}$$

4.2.7.4 Atividade emulsificante (AE)

Determinou-se a atividade emulsificante das farinhas crua e extrusada utilizando a metodologia descrita por Yasumatsu et al. (1972). Preparou-se uma suspensão com 1 g de amostra em 10 mL de água destilada e 10 mL de óleo de soja. A suspensão foi emulsificada em agitador de haste Heidolph (modelo DIAX 600) por 1 minuto em velocidade moderada (13.500 min⁻¹). A emulsão formada foi dividida em tubos graduados (15 mL) seguida por centrifugação (centrífuga MSE Harrier 15/80) a 3000 rpm por 5 minutos. Para o cálculo da atividade emulsificante foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Atividade emulsificante (AE)} = \frac{\text{volume da camada emulsificada}}{\text{volume total no tubo}} \times 100$$

4.2.7.5 Estabilidade da emulsão (EE)

A emulsão, preparada como descrito no item anterior foi dividida em tubos graduados (15 mL) e então aquecida em banho-maria Marconi (modelo MA 127) por 30 minutos em temperatura de 80 °C. Os tubos foram resfriados com água corrente por 20 minutos e centrifugados a 3000 rpm por 5 minutos (centrífuga MSE Harrier 15/80). A estabilidade da emulsão foi calculada através da fórmula:

$$\text{Estabilidade da emulsão (EE)} = \frac{\text{volume da camada emulsificada remanescente}}{\text{volume total da camada emulsificada no tubo}} \times 100$$

4.2.7.6 Capacidade espumante (CE)

A capacidade de formação de espuma foi determinada de acordo com metodologia adaptada de Coffmann e Garcia (1977). Uma suspensão de 1 g de amostra em 50 mL de água destilada foi preparada em béquer de plástico de 100 mL, agitada em velocidade moderada por 5 minutos em agitador de haste Heidolph (modelo DIAX 900). Transferiu-se a dispersão

para uma proveta graduada de 100 mL e, calculou-se o aumento percentual do volume com base nos volumes inicial e final após a formação de espuma.

$$\% \text{ Aumento de volume} = \frac{\text{volume final} - \text{volume inicial}}{\text{volume inicial}} \times 100$$

4.2.7.7 Estabilidade da espuma

A proveta contendo a espuma obtida no procedimento acima foi mantida a temperatura ambiente (25 °C) e a estabilidade da espuma foi avaliada por meio da verificação da redução percentual do volume em intervalos de 30, 60, 90 e 120 minutos.

4.2.7.8 Capacidade de formação de gel

A capacidade de formação de gel das farinhas (extrusada e não extrusada) foi determinada de acordo com metodologia descrita por Coffmann e Garcia (1977). Dispersões de concentrações variadas de amostra (8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18% e 20% p/v) em 20 mL de água foram preparadas em tubos graduados (50 mL), aquecidos a 90 °C (banho-maria Marconi, modelo MA 127) por 30 minutos, resfriados a temperatura ambiente e refrigerados a 4 °C por 2 horas. Em seguida os tubos foram invertidos e analisados quanto à formação de gel.

Os resultados foram expressos com base na formação de gel a partir da menor concentração da amostra.

4.2.8 Determinação da digestibilidade das farinhas

4.2.8.1 Digestibilidade protéica *in vitro*

A digestibilidade protéica *in vitro* foi determinada pelo método multienzimático descrito por Akeson e Stahmann (1964) com modificações de Mauron (1973). A 200 mg de farinha foi adicionado 5 mL de uma solução de pepsina 4 mg mL⁻¹ em HCl 0,1 mol L⁻¹. A suspensão foi incubada a 37 °C por 3 h. O pH das amostras foi ajustado para pH 8,0 com uma solução de NaOH 0,2 mol L⁻¹ e adicionou-se 4 mL de uma solução de pancreatina 10 mg mL⁻¹ em tampão fosfato pH 8,0. Incubou-se a suspensão a 37 °C por 4 h. A digestão foi interrompida com a adição de 1 mL de solução de TCA 50 % (p/v), as amostras foram centrifugadas a 5000 rpm por 10 min e o sobrenadante foi analisado de acordo com metodologia descrita por Lowry et al (1951) usando tirosina como padrão. 20 µL do sobrenadante foram colocados em um tubo de ensaio contendo 180 µL de água destilada e 1 mL de reativo combinado (solução 2% (p/v) de Na₂CO₃ em NaOH + 1 mL de solução 1%

(p/v) de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 1 mL de solução 2% (p/v) de $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, deixados à temperatura ambiente (25°C) por 10 min. Em seguida, adicionou-se 100 μL de solução diluída de Folin (1:2 v/v) e procedeu-se incubação por 30 min à temperatura ambiente. A alteração de absorvância foi analisada em comprimento de onda de 680 nm.

A extensão da hidrólise foi calculada de acordo com a equação abaixo, usando como controle uma solução de caseína 1% (v/v):

$$\text{Digestibilidade protéica (\%)} = \frac{[\text{tirosina}] \text{ na farinha hidrolisada} - [\text{tirosina}] \text{ na farinha}}{[\text{tirosina}] \text{ na caseína hidrolisada} - [\text{tirosina}] \text{ na caseína}} \cdot 100$$

4.2.8.2 Digestibilidade de amido *in vitro*

A digestibilidade de amido *in vitro* foi determinada de acordo com metodologia adaptada de Zabidi e Aziz (2009). 200 mg de farinha foram incubadas com 5 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ pH 7,6 e 100 μL de α -amilase de *Aspergillus niger* em banho-maria a 80 °C por 15 minutos. Os tubos foram resfriados até atingirem temperatura ambiente (25°C) e o pH foi ajustado para 4,8 com solução de acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹. Em seguida, adicionou-se 200 μL de solução de amiloglicosidase (Sigma-Aldrich) e procedeu-se incubação a 55 °C por 2 h. As amostras foram centrifugadas a 5000 rpm por 10 min e a quantidade de açúcar redutor no sobrenadante foi determinada de acordo com Miller (1959) utilizando ADNS. 100 μL do sobrenadante do hidrolisado foram adicionados a 1 mL de reativo de ADNS e a mistura foi fervida (100°C) por 5 min. Os tubos foram deixados à temperatura ambiente (25°C) por 15 min e a absorvância foi analisada em comprimento de onda de 550 nm.

A digestibilidade do amido da farinha foi expressa como porcentagem de açúcar redutor obtida após a hidrólise, usando uma solução de amido 1% (p/v) como controle. Para os cálculos utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Digestibilidade de amido (\%)} = \frac{[\text{açúcar redutor}] \text{ farinha hidrolisada} - [\text{açúcar redutor}] \text{ na farinha}}{[\text{açúcar redutor}] \text{ amido hidrolisado} - [\text{açúcar redutor}] \text{ no amido}} \cdot 100$$

4.2.9 Análise estatística

Todos os testes foram conduzidos segundo delineamento inteiramente casualizado considerando separadamente cada variedade de feijão. Os experimentos foram realizados ao menos em triplicada, com repetição, e os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste Tukey para comparação entre médias utilizando o programa Statistica 6.0 (Stat Soft Inc., Tulsa, OK, USA), com nível de significância de 95%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição centesimal das farinhas de feijões comum e caupi, antes e após a extrusão, estão apresentadas na Tabela 1. Como pode ser observado, o feijão é um alimento com alto teor de carboidratos e proteínas e um baixo teor de lipídios. Entretanto, a composição química dos feijões varia de acordo com fatores genéticos determinados pelo gênero, espécie e cultivar da planta, além das condições climáticas, tipo de solo e época da colheita (ALMEIDA et al., 2008; PIRES et al., 2005; RESENDE et al., 2008).

Tabela 1. Composição centesimal das farinhas de feijão endurecido antes e após a extrusão (% base seca).

Feijão Carioca		
	Farinha crua	Farinha extrusada
Umidade	10,33 ^a ± 0,06	10,54 ^a ± 0,13
Cinzas	4,31 ^a ± 0,02	4,36 ^a ± 0,01
Proteínas	19,22 ^a ± 0,14	19,33 ^a ± 0,10
Lipídios	0,98 ^a ± 0,01	0,97 ^a ± 0,03
Carboidratos	75,49 ^a ± 0,17	75,34 ^a ± 0,14
Feijão Preto		
	Farinha crua	Farinha extrusada
Umidade	10,46 ^a ± 0,08	10,01 ^a ± 0,12
Cinzas	4,56 ^a ± 0,05	4,51 ^a ± 0,03
Proteínas	19,43 ^a ± 0,44	19,81 ^a ± 0,10
Lipídios	1,06 ^a ± 0,02	1,07 ^a ± 0,01
Carboidratos	74,95 ^a ± 0,48	74,61 ^a ± 0,10
Feijão Caupi		
	Farinha crua	Farinha extrusada
Umidade	12,50 ^b ± 0,07	13,86 ^a ± 0,19
Cinzas	3,89 ^a ± 0,26	3,85 ^a ± 0,01
Proteínas	23,97 ^a ± 0,62	23,87 ^a ± 0,26
Lipídios	1,01 ^a ± 0,003	1,04 ^a ± 0,015
Carboidratos	71,13 ^a ± 0,88	71,24 ^a ± 0,27

Todos os valores são apresentados como média ± desvio padrão de três determinações. Dados na mesma linha, acompanhados pela mesma letra não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

A composição centesimal de feijões é relatada por diversos autores, e a umidade apresentada varia entre 10,5% e 16,6%, para as cultivares de feijão *Phaseolus vulgaris*

(HERNÁNDEZ-DÍAZ et al., 2007, RESENDE et al., 2008; RIBEIRO; PRUDÊNCIO-FERREIRA; MIYAGUI, 2005) e, 4,6% e 13% para *Vigna unguiculata* (AFRIFAH; CHINNAN, 2006; GHAVIDEL; PRAKASH, 2007; FROTA; SOARES; ARÊAS, 2008; AMONSOU et al., 2009). Afriffah e Chinnan (2006) ainda relatam que o efeito HTC é reforçado pelo armazenamento de feijões com teores de umidade igual ou superior a 13%.

A quantidade de cinzas encontrados para os feijões preto e carioca estão de acordo com os teores de cinzas encontrados na literatura que variam de 2% a 4% (MARZO et al. 2002, MECI; CANIATTI-BRAZACA; ARTHUR, 2005; PIRES et al, 2005; RIBEIRO; PRUDÊNCIO-FERREIRA; MIYAGUI, 2005; RIBEIRO et al., 2009). Para feijão caupi, diversos autores relataram valores de cinzas entre 2,8% e 4,2% (GIAMI, 2005; HENSHAW, 2008; ONWULIRI; OBU, 2002). Os valores encontrados neste trabalho para ambas as espécies são similares aos relatados na literatura.

O conteúdo de proteínas relatado na literatura varia de 18% a 25% para feijões comuns (MESQUITA et al., 2007; PIRES et al., 2005, RESENDE et al., 2008; RIBEIRO; PRUDÊNCIO-FERREIRA; MIYAGUI, 2005; RIOS; ABREU; CORRÊA, 2003), e de 20% a 40% para feijões da espécie *Vigna unguiculata* (GIAMI, 2005; HENSHAW, 2008; ONWULIRI; OBU, 2002). Portanto, os valores encontrados neste trabalho estão de acordo com a literatura. Embora a extrusão não provoque alterações no conteúdo de proteínas, a combinação de alta temperatura, pressão e força mecânica pode provocar alterações nas suas propriedades físicas (RUIZ-RUIZ et al., 2008).

O conteúdo de lipídios na farinha crua e extrusada está de acordo com as médias encontradas na literatura, que variam entre 0,98% e 3,5% para feijão carioca (MARZO et al., 2002; PIRES et al., 2005), 1% e 2,8% para feijão preto (MESQUITA et al., 2007; PIRES et al., 2005; RIBEIRO; PRUDÊNCIO-FERREIRA; MIYAGUI, 2005), e 1% e 3% para feijão caupi (GHAVIDEL; PRAKASH, 2007; GIAMI, 2005; ONWULIRI; OBU, 2002; SHOSHIMA; TAVANO; NEVES, 2005). Alguns autores relataram degradação lipídica e formação de complexos lipídio-amilose em processos de extrusão utilizando temperaturas acima de 200 °C e rotação do parafuso superior a 300 rpm (ASP; BJÖRCK, 1989; DE PILLI et al., 2008). Entretanto, a temperatura (150°C) e rotação (150 rpm) utilizados neste trabalho foram inferiores a este valor crítico, não ocasionando alteração no conteúdo de lipídios dos extrusados.

Em relação aos carboidratos totais, na literatura há relatos de valores entre 56% e 77% para feijões *P.vulgaris* (PIRES et al., 2005; RIBEIRO; PRUDÊNCIO-FERREIRA; MIYAGUI, 2005) e 51% a 66% para *V.unguiculata* (HENSHAW, 2008; ONWULIRI; OBU,

2002; SHOSHIMA; TAVANO; NEVES, 2005). Os resultados encontrados para as três variedades estudadas estão de acordo com os valores encontrados na literatura.

O processo de extrusão não causou alteração nenhuma mudança significativa na composição centesimal dos extrusados, com exceção do teor de umidade dos extrusados de feijão caupi. A maior umidade encontrada no extrusado de feijão caupi pode ser resultado tanto do ajuste de umidade antes do processo de extrusão, quanto das alterações ocorridas na estrutura dos constituintes da farinha, que provavelmente alterou a capacidade de interação dos componentes com a água disponível. Além disso, as propriedades físico-químicas das biomoléculas que compõem as farinhas provavelmente sofreram alterações durante o processo de extrusão (RUIZ-RUIZ et al., 2008; WANG et al., 2006).

5.2 PROPRIEDADES FÍSICAS

5.2.1 Índice de expansão

A expansão ocasionada nas farinhas pelas alterações durante o processo de extrusão é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Índice de expansão dos extrusados de feijão HTC.

Extrusado	Índice de expansão
Feijão Carioca	1,96 ^a ± 0,16
Feijão Preto	1,94 ^a ± 0,11
Feijão Caupi	1,74 ^b ± 0,09

Todos os valores são apresentados como média ± desvio padrão de quinze determinações. Dados acompanhados pela mesma letra não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

A umidade da farinha, temperatura do barril e velocidade do parafuso utilizadas neste trabalho, associadas às diferenças de composição das farinhas analisadas, proporcionaram um índice de expansão menor que os relatado por Anton, Fulcher e Arntfield (2009) para amido puro extrusado (2,54). Os extrusados de feijão carioca e preto apresentaram maior índice de expansão que os extrusados de feijão caupi, provavelmente em função da maior quantidade de carboidratos presentes nos feijões comuns (Tabela 1).

A expansão observada nos feijões comuns é similar aos valores encontrados por Anton, Fulcher e Arntfield (2009), para misturas de amido e farinha de feijão (1,7 a 2,1) e Ruiz-Ruiz et al. (2008) para misturas de milho e feijão comum (1,94 a 2,10).

A expansão de um produto ocorre na saída do extrusor devido à diferença de temperatura e pressão interna e externa. A rápida liberação de pressão quando o alimento emerge da matriz causa expansão instantânea e forma um produto de baixa densidade, pois o superaquecimento da farinha causa uma rápida evaporação da água na saída da matriz, responsável pela expansão dos extrusados. O índice de expansão de uma matéria-prima está diretamente relacionado com a constituição química da amostra e condições de extrusão (RUIZ-RUIZ et al., 2008).

Segundo Hagenimana, Ding e Fang (2006) há duas forças dominantes que proporcionam a expansão dos extrusados, a força elástica da matriz amilácea e a força de crescimento da bolha devido à pressão do vapor d'água, pois a expansão depende da formação de uma matriz amilácea capaz de aprisionar o vapor d'água gerado pela alta temperatura utilizada no processo de extrusão.

Quando os materiais são forçados através do parafuso do extrusor seu conteúdo de água vaporiza e a simultânea saída do vapor expande o amido, produzindo uma estrutura porosa no extrusado. No entanto, a presença de fibras e proteínas diminui a capacidade de expansão dos grânulos de amido, uma vez que estes componentes interagem com o amido e impossibilitam a conseqüente evaporação da água presente no grânulo (ANTON; FULCHER; ARNTFIELD, 2009). Portanto, é de se esperar que materiais como as farinhas de feijão apresentem um menor índice de expansão do que outros produtos puramente amiláceos.

Além disso, Pérez-Navarrete et al. (2006) sugeriram que a ruptura das fibras presentes na parede celular do material impossibilita a formação das bolhas de ar e, conseqüentemente, impede a expansão máxima dos extrusados. Também há relatos de que altos teores de umidade criam um efeito lubrificante no barril de extrusão que diminui a fricção e aumenta a vaporização da água superaquecida quando o extrusado sai do barril, alterando o padrão de expansão do produto (RUIZ-RUIZ et al., 2008).

Hernández-Díaz et al. (2007) observaram que altas taxas de umidade do material e alta rotação do parafuso provocam a redução da viscosidade da pasta dentro do barril de extrusão e aumento da força de cisalhamento, o que provoca degradação do amido e conseqüente redução da expansão dos produtos.

5.2.2 Cor

O valor do componente L* da farinha de feijão carioca crua foi 34% maior que o da farinha extrusada, indicando uma redução na luminosidade dos extrusados (Tabela 3). Os

valores de a^* e b^* foram maiores nos extrusados, o que mostra que o processo de extrusão aumenta a intensidade destes parâmetros.

Tabela 3. Análise de cor das farinhas de *Phaseolus* e *Vigna* crua e extrusada.

Feijão Carioca		
Componentes	Farinha crua	Farinha extrusada
L*	82,34 ^a ± 2,30	61,41 ^b ± 0,81
a*	2,63 ^b ± 0,38	5,59 ^a ± 0,12
b*	11,48 ^b ± 0,29	16,01 ^a ± 0,46
DCO		21,62 ± 1,44
Feijão Preto		
Componentes	Farinha crua	Farinha extrusada
L*	78,87 ^b ± 2,06	57,64 ^a ± 1,39
a*	1,37 ^b ± 0,31	5,28 ^a ± 0,24
b*	8,12 ^b ± 0,74	12,55 ^a ± 1,18
DCO		22,04 ± 0,72
Feijão Caupi		
Componentes	Farinha crua	Farinha extrusada
L*	83,05 ^a ± 1,06	67,69 ^b ± 0,77
a*	1,77 ^b ± 0,22	3,67 ^a ± 0,28
b*	11,89 ^b ± 0,49	13,14 ^a ± 0,43
DCO		15,53 ± 0,29

Todos os valores são apresentados como média ± desvio padrão de quinze determinações. Dados na mesma linha, acompanhados pela mesma letra não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$). L* = luminosidade, croma a^* = tons de verde (- a^*) ao vermelho (+ a^*), croma b^* = tons de azul (- b^*) ao amarelo (+ b^*), DCO = diferença de cor.

O valor do componente L* da farinha crua do feijão preto foi 26,9% maior que o L* da farinha extrusada (Tabela 3). O valor de a^* na farinha extrusada foi aproximadamente quatro vezes maior que o a^* da farinha crua, aumentando o tom avermelhado da farinha. Os extrusados apresentaram, também, um b^* 11% maior que a farinha crua, o que acentua a tonalidade da cor amarelada.

O mesmo efeito de redução da luminosidade e aumento dos tons de amarelo (b^*) e vermelho (a^*) foi observado nos extrusados de feijão caupi.

Como os feijões estudados pertencem à classe de feijões coloridos, a cor da farinha reflete justamente a interação entre a cor da casca e a cor dos cotilédones do grão e, a mistura dessa cores resulta na cor final da farinha crua.

A DCO define a diferença de cor entre a farinha extrusada e a crua, e os valores encontrados para as três cultivares de feijão indica que a farinha extrusada apresenta maior coloração que a farinha crua.

A cor adquirida pelos extrusados pode ser resultado de caramelização de açúcares ou de ocorrência de reação de Maillard uma vez que, a farinha de feijão apresenta grande quantidade de carboidratos e proteínas. A complexação de aminoácidos e açúcares redutores, favorecida pela alta temperatura, pressão e força mecânica empregados na extrusão, resulta em produtos extrusados mais escuros (PELEMBE; ERASMUS; TAYLOR, 2002).

Apesar do escurecimento observado após a extrusão, os extrusados apresentam luminosidade (L^*) superior à relatada por Siddiq et al. (2009) para farinha de feijão sem efeito HTC.

5.3 FATORES ANTINUTRICIONAIS

A qualidade nutricional dos feijões é limitada pela presença de fatores antinutricionais que impedem a absorção ou utilização dos nutrientes. A inativação e/ou remoção destes antinutricionais através do processo de extrusão é uma alternativa para o aumento da qualidade nutricional deste grão, principalmente no que se refere à biodisponibilidade de proteínas e carboidratos (MECHI; CANIATTI-BRAZACA; ARTHUR, 2005; SHIMELIS; RAKSHIT, 2007).

5.3.1 Inibidores de tripsina

Os valores médios de inibidores de tripsina, expressos como unidade de inibição por miligrama de amostra ($UI\ mg^{-1}$) para as farinhas e extrusados dos feijões encontram-se na **Figura 2**.

Os valores de inibidores de tripsina relatados na literatura para feijão encontram-se em duas faixas de 3,1 a 8,1 $UI\ mg^{-1}$ e de 14 a 51 $UI\ mg^{-1}$ (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; ANTON; FULCHER; ARNTFIELD, 2009; EL-HADY; HABIBA, 2003; GUILLAMÓN et al., 2008; MARZO et al., 2002; PIERGIOVANNI; PIGNONE, 2003; RIVAS-VEGA et al., 2006; SHOSHIMA; TAVANO; NEVES, 2005). A extensa faixa de variação desses valores é, de acordo com Clarke e Wiseman (2005), atribuída às diferenças entre as espécies, constituição química, métodos de processamento e condições de armazenamento das diferentes variedades de feijão.

Os resultados de inibição de tripsina encontrados neste trabalho para as farinhas cruas de feijão carioca e preto (**Figura 2**) são superiores aos encontrados por Alonso, Aguirre e Marzo (2000) para feijão comum fresco (3,1 UI mg⁻¹), e Anton et al. (2008) para misturas de farinha de trigo e feijão (2,2 a 3,8 UI mg⁻¹). Entretanto, são inferiores aos valores encontrados por Martín-Cabrejas et al. (1999) para feijão comum endurecido (6,3 a 9,2 UI mg⁻¹).

A inibição encontrada para a farinha de feijão caupi crua é inferior à inibição relatada por diversos autores para feijões do gênero *Vigna* (ALMEIDA et al., 2008; RIVAS-VEGA et al., 2006; SHOSHIMA; TAVANO; NEVES, 2005).

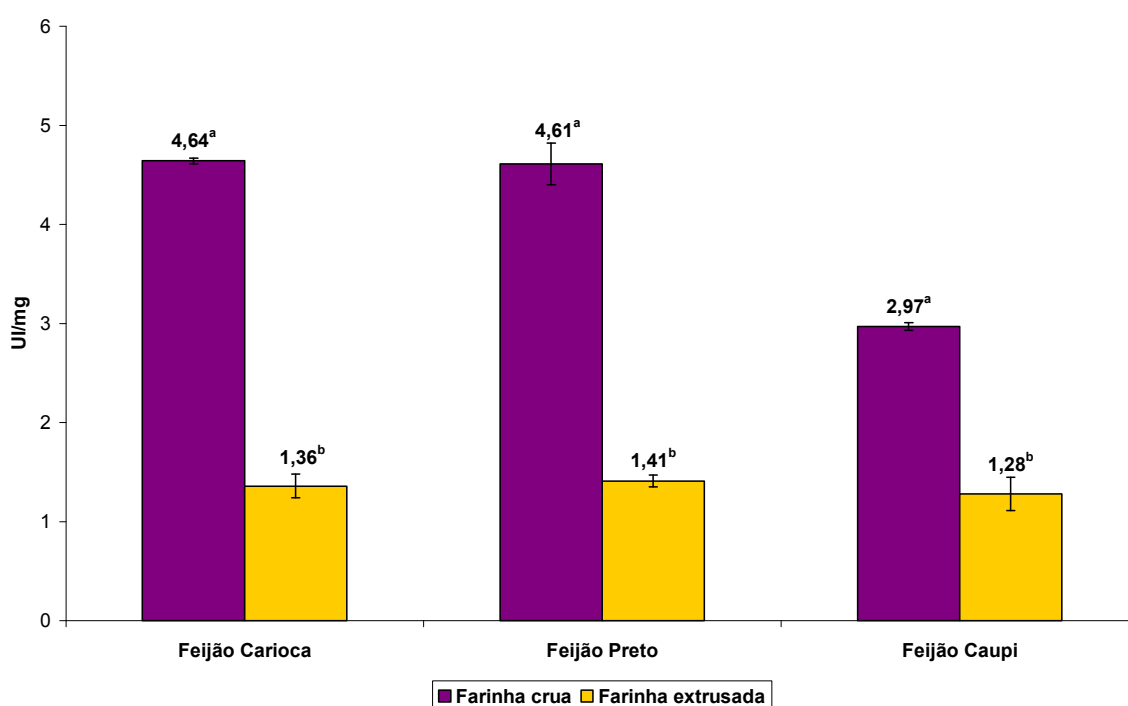


Figura 2. Atividade de inibidor de tripsina (UI mg⁻¹) presente nas farinhas antes e após o processo de extrusão. Todos os valores são apresentados como média de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$).

Em relação à alta estabilidade térmica dos inibidores de tripsina presentes no feijão, a combinação de calor, pressão e umidade no processo de extrusão reduziu significativamente o conteúdo de inibidores de tripsina ativos nos extrusados. Observou-se uma maior redução dos inibidores de tripsina nos extrusados de feijão comum (70%) em relação ao feijão caupi (57%).

O efeito causado pelo processamento nos inibidores de tripsina (**Figura 2**) é similar ao relatado por Alonso, Aguirre e Marzo (2000), em feijões comuns extrusados (87% de redução) e Anton, Fulcher e Arntfield (2009), em misturas de feijão e amido submetidas à

cocção (45% de redução). Rivas-Vega et al. (2006), entretanto, conseguiram eliminar completamente os inibidores de tripsina presentes no feijão caupi ao utilizarem uma temperatura de extrusão de 180 °C.

Os valores de atividade inibitória de tripsina remanescente nos extrusados foram inferiores aos encontrados por El-Hady e Habiba (2003) em feijão comum (19,5 UI mg⁻¹); Genovese e Lajolo (1998) em isolado protéico de soja (3,6 UI mg⁻¹) e farinha de soja desengordurada (4,1 UI mg⁻¹); Haddad e Allaf (2007) em grão de soja cru (41,6 UI mg⁻¹), e Toledo et al. (2007) em grãos de soja irradiados e cozido (24,7 a 39,1 UI mg⁻¹).

5.3.2 Inibidores de α -amilase

Na Tabela 4 estão apresentados os valores de inibidores de α -amilase, expressos em unidade de inibição por 100 mg de amostra (UI 100 mg⁻¹) em base seca.

Tabela 4. Valores de unidade de inibição de α -amilase (UI 100mg⁻¹) nas farinhas e extrusados de feijão HTC.

	Farinha	
	Crua	Extrusada
Feijão carioca	18,16 ^a ± 2,37	Ausente
Feijão preto	16,09 ^a ± 1,06	Ausente
Feijão caupi	20,39 ^a ± 4,62	Ausente

Todos os valores são apresentados como média ± desvio padrão de três determinações. Dados na mesma coluna, acompanhados pela mesma letra não apresentam diferença significativa (p≤0,05).

Os valores de inibição de α -amilase nas farinhas cruas foram inferiores aos relatados por Alonso, Aguirre, Marzo (2000) para feijão comum (24,8 UI 100 mg⁻¹) e El-Hady e Habiba (2003) para sementes de *P.vulgaris* (7600 UI 100 mg⁻¹); Lima et al. (2004), para feijão caupi (400 UI 100 mg⁻¹); e superiores aos encontrados por Chikagwa-Malunga et al. (2008), para feijão do gênero *Mucuna* (0,14-0,41 UI 100 mg⁻¹) e Marzo et al (2002) para feijão ‘kidney’ (0,2 UI 100 mg⁻¹).

A extrusão das farinhas provocou a eliminação completa da atividade inibitória de α -amilase, efeito já relatado por outros autores para diferentes grãos (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; ALONSO et al., 2001; MARTÍN-CABREJAS et al., 1999). Esse resultado demonstra que os inibidores de α -amilase são mais sensíveis à extrusão do que os inibidores de tripsina. Segundo Alonso, Aguirre e Marzo (2000), a extrusão mostrou-se mais eficaz que maceração e germinação na redução dos níveis de inibidores de tripsina e α -amilase.

5.3.3 Ácido fítico

O conteúdo de ácido fítico das farinhas de feijão HTC antes e após a extrusão é apresentado na **Figura 3**.

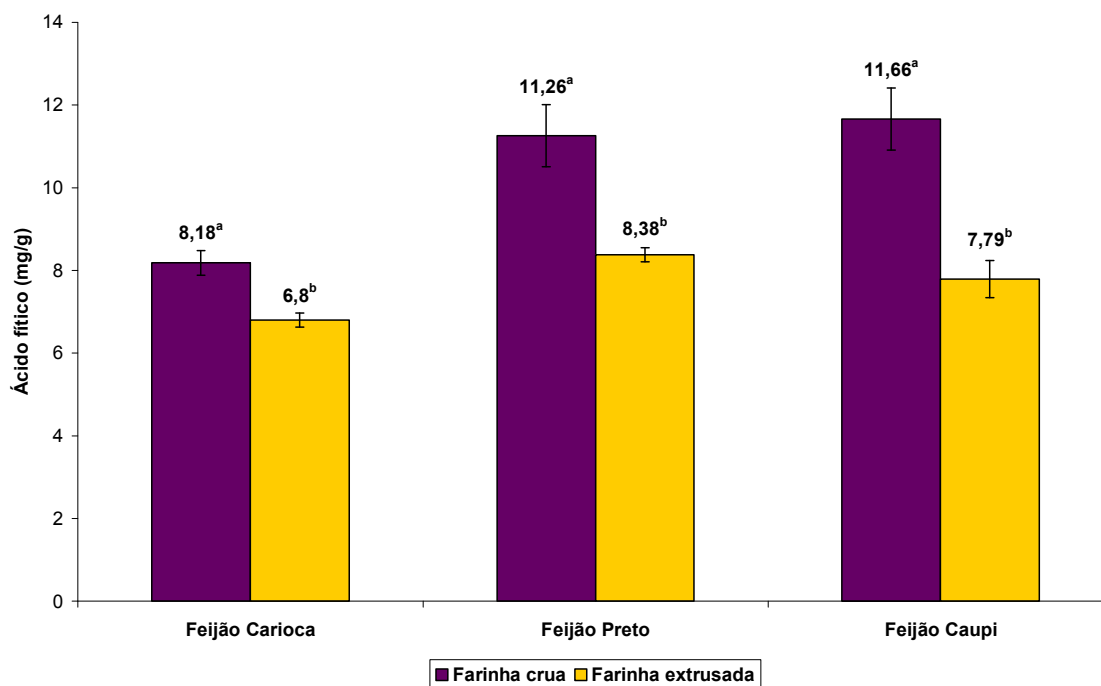


Figura 3. Conteúdo de ácido fítico das farinhas (mg g^{-1}) antes e após a extrusão. Os valores são apresentados como média de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não são estatisticamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Os valores encontrados para as farinhas cruas de feijão carioca são similares aos relatados por Brigide e Canniatti-Brazaca (2006) para feijão comum ($8,28 \text{ mg g}^{-1}$), superiores aos encontrados por Alonso et al. (2001) para feijões ‘kidney’ ($4,9 \text{ mg g}^{-1}$) e ElMaki et al. (2007), para feijões fava ($3,5$ a $4,6 \text{ mg g}^{-1}$). Diversos outros autores encontraram valores menores que os apresentados neste trabalho para outras variedades de *P. vulgaris* (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; EL-HADY; HABIBA, 2003; MARZO et al., 2002; REHMAN; SHAH, 2005).

Os resultados de ácido fítico da farinha de feijão caupi crua são similares aos $14,1 \text{ mg g}^{-1}$ relatados por Onwuliri e Obu (2002) e os $13,7 \text{ mg g}^{-1}$ encontrados por Vasagam, Balasubramanian e Venkatesan (2007) para outras variedades de *V. unguiculata*. Entretanto, diversos outros autores encontraram valores entre 1 e 6 miligramas de ácido fítico por grama de feijão caupi (AFFRIFAH; CHINNAN, 2006; EGOUNLETY; AWORH, 2003; GHAVIDEL; PRAKASH, 2007; GIAMI, 2005). Similar ao observado para os inibidores de tripsina, a discrepância existente entre os resultados de teor de ácido fítico deve-se,

provavelmente, às diferenças existentes na composição química das diferentes variedades de *V. unguiculata*, bem como métodos de processamento e condições de armazenamento dos grãos.

A redução do teor ácido fítico em alimentos é interessante uma vez que este composto forma complexos insolúveis com minerais di e tri valentes, diminuindo sua biodisponibilidade (ALMEIDA et al., 2008). Embora diversos autores considerem o ácido fítico um fator antinutricional, estudos recentes demonstram que este composto é um importante aditivo e antioxidante, com aplicações na manufatura de pães, pastas, frutas e vegetais frescos para melhorar a qualidade nutricional, prevenir a descoloração e prolongar a vida de prateleira dos produtos (OATWAY; VASANTHAN; HELM, 2001; FUKUJI et al., 2008).

O processo de extrusão provocou uma redução de 17% no conteúdo de ácido fítico do feijão carioca endurecido. Já os extrusados de feijão preto apresentaram diminuição de 26% no teor de ácido fítico. ElMaki et al. (2007) observaram uma redução de 13-25% no teor de fitatos após processamento por cocção e 21-27% após maceração seguida de cocção, redução superior à relatada por El-Hady e Habiba (2003) para *P. vulgaris* submetido ao processo de extrusão (12,6%).

Em relação ao feijão caupi, a extrusão provocou uma redução de 33% no teor de ácido fítico da farinha, valor também encontrado por Egountely e Aworh (2003) após fermentação de *V. unguiculata*. Ghavidel e Prakash (2007) observaram uma redução de 20% após germinação e 52% após descascamento e Vasagam, Balasubramanian e Venkatesan (2007) reduziram 26% do ácido fítico utilizando maceração.

A redução no teor de fitatos ocasionada pela extrusão pode ser explicada em função da degradação parcial da molécula de ácido fítico no processo. Durante a extrusão, a temperatura empregada, associada à pressão no interior do barril e umidade da amostra pode ter ocasionado hidrólise do ácido fítico em intermediários de menor peso molecular que podem se complexar com outros componentes da farinha e dificultar sua detecção (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; ANTON; FULCHER; ARNTFIELD, 2009; EL-HADY; HABIBA, 2003; ELMAKI et al., 2007; REHMAN; SHAH, 2005).

Apesar da extrusão não eliminar completamente o conteúdo de ácido fítico, o valor remanescente é inferior ao encontrado em cereais como milho, milheto, aveia e trigo integral (FUKUJI et al., 2008; GARCÍA-ESTEPA et al., 1999), e no feijão comum submetido a outros métodos de processamento (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; REHMAN; SHAH, 2005).

5.3.4 Atividade hemaglutinante

As lectinas (hemaglutininas) de leguminosas geralmente são tóxicas pois, ao se unirem aos carboidratos presentes no epitélio intestinal, causam uma diminuição da absorção de nutrientes do trato digestivo, e conseqüentemente, reduzem o valor nutricional dos grãos. Esses compostos são um dos principais fatores antinutricionais do feijão, e interferem com o metabolismo intestinal e sistêmico, prejudicando a absorção de nutrientes (ALONSO et al., 2001; VASCONCELOS et al., 2001).

Os testes de lectina nas farinhas cruas de ambas as espécies de feijão foram positivos, enquanto que na farinha extrusada, a atividade hemaglutinante foi completamente abolida. O binômio temperatura/umidade utilizado no processo de extrusão levou à eliminação da atividade hemaglutinante possivelmente por desnaturação. Lectinas de leguminosas são proteínas que apresentam na maioria das vezes estruturas diméricas ou tetraméricas. A sua atividade hemaglutinante depende da integridade da estrutura quaternária, que é mantida por forças de interação muito sensíveis a variações de temperatura e pressão.

Estes resultados são similares aos observados por Alonso et al. (2001) e Marzo et al. (2002) após extrusão de feijão comum e Shimelis e Rakshit (2007) após processo de autoclavagem.

Alonso, Aguirre e Marzo (2000), comparando diversos métodos de processamento de *Phaseolus vulgaris* observaram que a extrusão foi mais eficaz que a maceração, decortificação e germinação dos grãos de feijão no que se refere à eliminação da atividade hemaglutinante dos grãos. No caso das lectinas, a extrusão além de destruir a atividade antinutricional, disponibilizou esta proteína para aproveitamento nutricional (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000).

5.4 DIGESTIBILIDADE

5.4.1 Digestibilidade protéica *in vitro*

A digestibilidade é um parâmetro nutricional utilizado para avaliar o aproveitamento de uma fonte protéica e, no caso de feijões é influenciada por inibidores de enzimas digestivas, hemaglutininas e outros antinutricionais, presentes em quantidades variadas dentre as cultivares, o que gera valores diferentes de digestibilidade entre as espécies de feijão e, dentro de uma mesma espécie, diferenças de uma cultivar para outra (MENDONÇA et al., 2003).

O desenvolvimento do efeito HTC diminui a digestibilidade protéica porque induz a complexação das proteínas entre si e com outros componentes, impedindo a ação das enzimas hidrolíticas, com conseqüente diminuição da absorção dos aminoácidos (MENDONÇA et al., 2003; MESQUITA et al., 2007).

Os valores de digestibilidade protéica *in vitro* das farinhas crua e extrusada são apresentados na **Figura 4**.

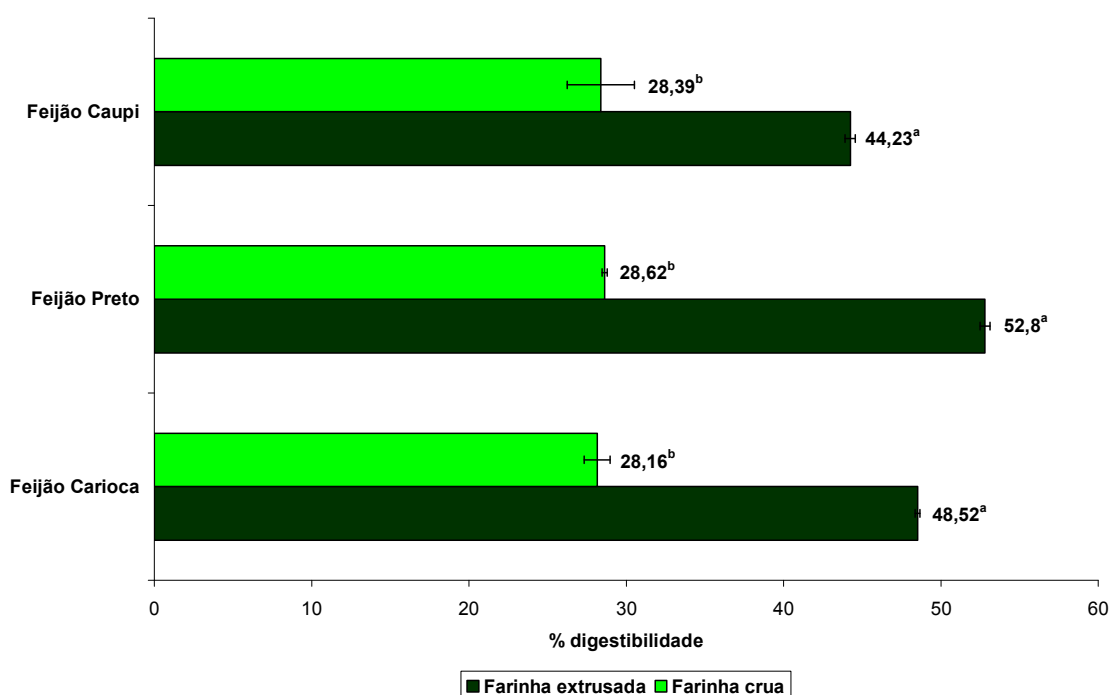


Figura 4. Digestibilidade protéica *in vitro* das farinhas e extrusados de feijão HTC. Os valores são apresentados como média de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$).

A digestibilidade encontrada para a farinha crua foi similar aos valores encontrados por Mesquita et al. (2007), para algumas variedades de feijão comum e inferiores aos relatados por diversos autores para feijões comuns (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; EL-HADY; HABIBA, 2003; MENDONÇA et al., 2003; REHMAN; SHAH, 2005; SHIMELIS; RAKSHIT, 2007), feijões do tipo *Vigna* (GIAMI, 2005; GHAVIDEL; PRAKASH, 2007; EL-NIELY, 2007; KHATTAB; ARNTFIELD; NYACHOTI, 2009; SOSHIMA; TARANO; NEVES, 2005) e para misturas de milho e feijão (PÉREZ-NAVARRETE et al., 2007; RUIZ-RUIZ et al., 2008).

Após a extrusão, a digestibilidade das farinhas aumentou significativamente. O feijão carioca apresentou aumento de 72,3% na digestibilidade protéica dos extrusados; o feijão preto teve aumento de 84,5%, e o feijão caupi apresentou 55,8% de aumento.

O aumento da digestibilidade protéica *in vitro* dos extrusados de feijão carioca e preto observado neste trabalho foi superior ao relatado por El-Hady e Habiba (2003) para extrusados de *P.vulgaris* cru (8,2% a 11,5%) e macerado (10,1 a 12,9%), Rehman e Shah (2005) para feijão comum submetido à cocção (89,2%), e Shimelis e Rakshit (2007) para sementes de feijão comum submetidas a brotamento e autoclavagem (17% a 22%).

Comparativamente, o aumento de digestibilidade observado para o feijão caupi foi menos expressivo, provavelmente devido às diferenças na composição química existente entre essas espécies. Entretanto, esse resultado é superior ao encontrado por Rivas-Vega et al. (2006) para extrusados de caupi não endurecido (33%).

O processo de extrusão ocasionou um maior aumento na digestibilidade do que o relatado para outros métodos de processamento de feijão caupi, tais como germinação (GHAVIDEL; PRAKASH, 2007), cocção (GIAMI, 2005), irradiação (HANIA; EL-NIELY, 2007) e autoclavagem (KHATTAB; ARNTFIELD; NYACHOTI, 2009).

A desnaturação protéica ocasionada pela combinação de calor, umidade e força mecânica durante o processo provavelmente possibilitou a exposição de sítios de ação enzimática que estavam protegidos na proteína nativa, tornando as proteínas mais suscetíveis à proteólise (GIAMI, 2005; KHATTAB; ARNTFIELD; NYACHOTI, 2009; REHMAN; SHAH, 2005; ROCHA-GUZMÁN et al., 2008; SHIMELIS; RAKSHIT, 2007).

Combinado a isso, a redução de ácido fítico e inibidores de tripsina após a extrusão também contribuiu para o aumento da digestibilidade protéica. O ácido fítico pode interagir com as proteínas aumentando o número de ligações cruzadas, que provoca a diminuição da solubilidade das proteínas e tornam os complexos protéicos menos susceptíveis ao ataque proteolítico. A redução do ácido fítico após a extrusão aumenta a acessibilidade das proteínas ao ataque enzimático, contribuindo assim, para a melhora da digestibilidade protéica (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; REHMAN; SHAH, 2005). A redução da atividade dos inibidores de tripsina observados nos extrusados também proporciona um aumento na digestibilidade protéica (SHIMELIS; RAKSHIT, 2007; RUIZ-RUIZ et al., 2008).

Alonso, Aguirre, Marzo (2000) ao comparar diversos métodos de processamento de feijão das espécies *Vicia faba* e *Phaseolus vulgaris*, relata que a extrusão foi o método mais eficaz para melhorar a digestibilidade de proteínas, em comparação com descascamento, maceração e germinação.

5.4.2 Digestibilidade *in vitro* de amido

Os valores médios obtidos para a digestibilidade *in vitro* de amido das farinhas de feijão HTC antes e após a extrusão encontram-se na **Figura 5**.

Os feijões carioca e preto apresentaram digestibilidade menor que a encontrada para o feijão caupi. Entretanto, os valores de digestibilidade para os feijões comuns foram similares aos apresentados por Berrios (2006) e superiores aos relatados por diversos autores para feijões comuns com e sem efeito HTC (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; REHMAN; SALARIYA; ZAFAR, 2001; REHMAN; SHAH, 2005), e misturas de farinha de milho e feijão (RUIZ-RUIZ et al., 2008).

A digestibilidade de amido observada no feijão caupi é superior à relatada Ghavidel e Prakash (2007) para feijão caupi decorticado. Para essa espécie de feijão, o processo de extrusão não causou aumento significativo na digestibilidade, resultado diferente dos encontrados por diversos outros autores (GHAVIDEL; PRAKASH, 2007; REHMAN; SALARIYA; ZAFAR, 2001; REHMAN; SHAH, 2005) para feijão caupi e feijão comum submetidos a processamento térmico.

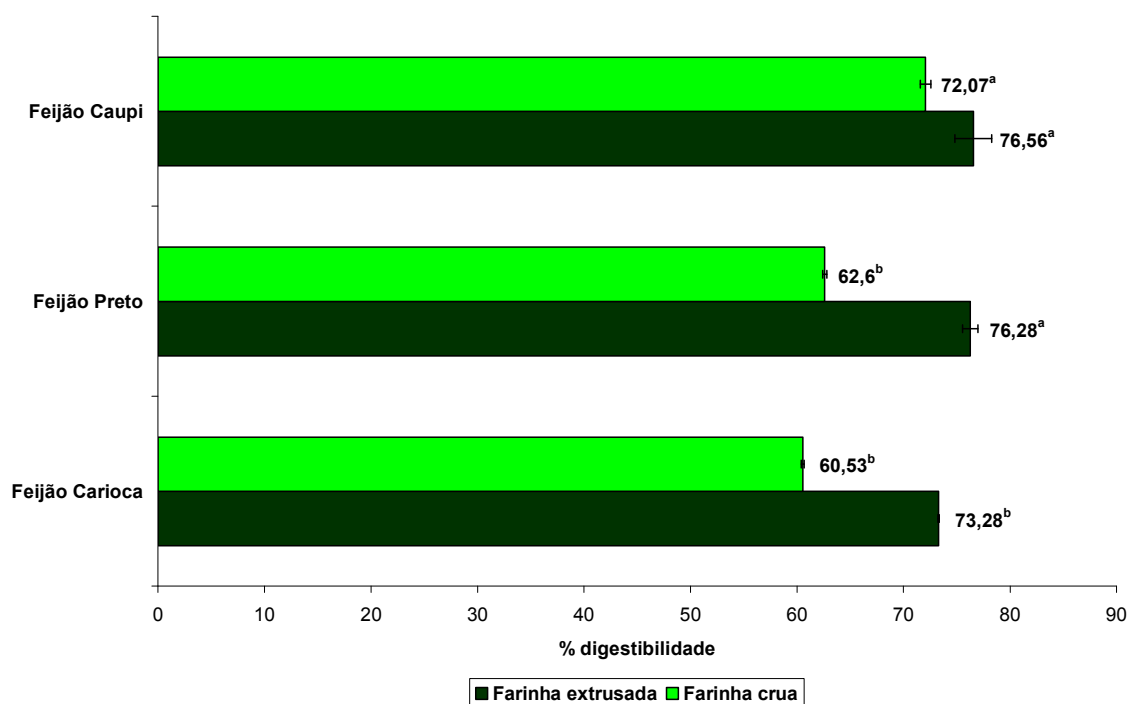


Figura 5. Digestibilidade *in vitro* de amido das farinhas e extrusados de feijão carioca, preto e caupi. Os valores são resultados médios de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

A digestibilidade do amido depende da quantidade de amido susceptível à ação da amilase e amiloglicosidase, bem como das características estruturais do grânulo de amido. A

presença de inibidores de amilase na farinha de feijão cru pode reduzir a atividade dessa enzima e, conseqüentemente, provocar diminuição da digestibilidade do amido. Além disso, de acordo com Sandhu e Lim (2008) a razão amilose/amilopectina e a estrutura molecular da amilopectina também podem interferir na digestibilidade do amido. Um alto teor de amilose origina uma maior quantidade de amido resistente, que influencia negativamente a digestibilidade (THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003).

O aumento observado na digestibilidade dos extrusados de feijão carioca (21%) e preto (22%) pode ser decorrente da hidrólise do amido durante o processo. A combinação de umidade, temperatura e força mecânica do processo de extrusão ocasiona tanto eliminação de antinutricionais (inibidores de amilase e ácido fítico), quanto gelatinização, tornando o amido mais facilmente hidrolisável (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; REHMAN; SHAH, 2005).

Quando não está gelatinizado, o amido apresenta-se na forma de uma estrutura cristalina, que protege ligações glicosídicas e limita a ação das enzimas. Com sua gelatinização durante o processo de extrusão, esta estrutura cristalina é perdida e as moléculas ficam mais abertas e susceptíveis à ação hidrolítica das enzimas, aumentando a digestibilidade (ALONSO; AGUIRRE; MARZO, 2000; REHMAN; SALARIYA; ZAFAR, 2001; RUIZ-RUIZ et al., 2008).

Berrios (2006), ao comparar diversos métodos de processamento de leguminosas, relata que a extrusão foi o método mais eficaz para melhorar a digestibilidade tanto de proteínas quanto de amido em feijão comum.

5.5 PROPRIEDADES FUNCIONAIS

5.5.1 Índice de absorção de água (IAA)

Na **Figura 6** encontram-se os valores médios do índice de absorção de água das farinhas e extrusados de feijão HTC.

A absorção de água é uma característica relacionada com a quantidade de hidratação e porosidade interna da amostra, disponibilidade de grupos hidrofílicos aptos a se ligar às moléculas de água e capacidade de formação de gel das moléculas de amido (FILLI; NKAMA, 2007).

Os valores de IAA encontrados para as farinhas cruas de feijão comum foram superiores aos valores encontrados por outros pesquisadores. Alonso et al. (2000), relataram

IAA de 2 g g⁻¹ para farinha crua de *P.vulgaris*; Rios, Abreu, Corrêa (2003) encontraram valores de 1,14 a 1,18 g g⁻¹ para grãos de feijão carioca; Ribeiro et al. (2009), reportaram IAA entre 1,27 g g⁻¹ e 1,60 g g⁻¹ para concentrado protéico de feijão preto não endurecido e endurecido; Siddiq et al. (2009) observaram valores de 2,25 a 2,61 g g⁻¹ para diferentes variedades de feijão comum; e Shimelis e Rakshit (2005) apresentaram resultados de IAA variando de 1,2 a 2,3 g g⁻¹ de *P.vulgaris*. No presente estudo, a extrusão ocasionou um aumento de 44% no IAA do extrusado de feijão carioca, e 96% no IAA do extrusado de feijão preto.

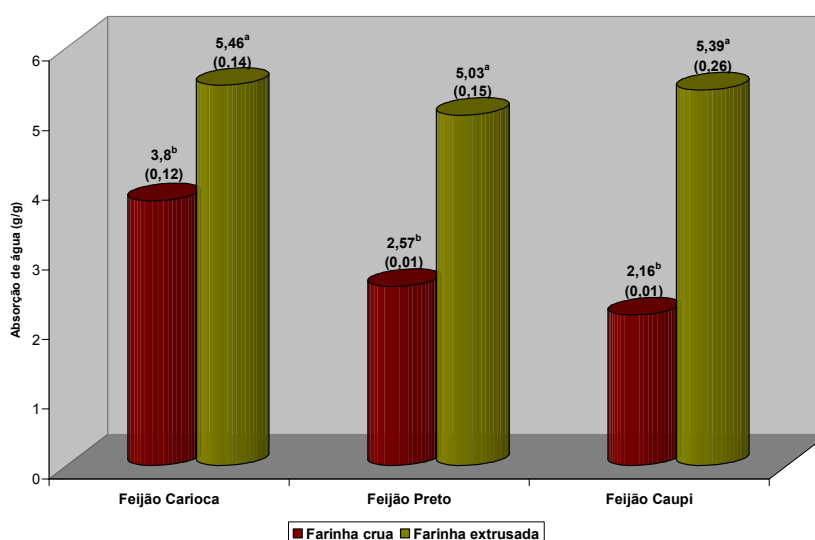


Figura 6. Índice de absorção de água (g g⁻¹) das farinhas antes e após extrusão. Valores apresentados como média (\pm desvio padrão) de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

O IAA do feijão caupi cru (**Figura 6**) foi inferior ao encontrado para os feijões carioca e preto, similar aos relatados por Amonsou et al. (2009) e superior aos valores encontrados por vários outros pesquisadores (ADEBOOYE; SINGH, 2008; KAPTSO et al., 2008; OBATOLU; COLE, 2000; OLAPADE et al., 2002;) trabalhando com outras variedades de *Vigna unguiculata*. Após a extrusão houve um aumento de 150% no IAA do feijão caupi, entretanto, o valor absoluto de absorção de água dos extrusados foi semelhante aos extrusados de feijão comum. Este resultado reforça a hipótese já aventada na análise química de que a extrusão gerou modificações nos componentes do caupi de modo a aumentar sua afinidade pela água.

O aumento do IAA de feijões comuns após processamento térmico foi relatado por Alonso et al. (2000), trabalhando com extrusão de feijão comum sem efeito HTC (46,5%); e Martín-Cabrejas et al. (1999), para extrusados de feijão comum endurecido (53%).

Como a absorção de água é, em grande parte influenciada por interações proteína-água, água-água e efeitos de capilaridade, segundo Alonso et al. (2000), o aumento do IAA após a extrusão se deve em parte ao aumento da capacidade de interação com a água da nova estrutura formada pela desnaturação de proteínas durante o processo. Além disso, alguns autores sugeriram que o aumento do IAA nos extrusados pode ser resultado, também, da gelatinização do amido, pois a combinação de alta temperatura e força mecânica durante a extrusão ocasiona a separação das cadeias de amilose e amilopectina, formando uma matriz expansível responsável pela maior capacidade de retenção de água (FILLI; NKAMA, 2007; MARTÍN-CABREJAS et al., 1999). Entretanto, Wang et al. (2006) relatam que altas temperaturas de extrusão podem causar hidrólise de amido, reduzindo a sua capacidade de gel, com conseqüente redução da capacidade de absorção de água, uma vez que a água retida será apenas a fração constituinte da camada de solvatação.

O índice de absorção de água é uma propriedade relevante quando se deseja elaborar produtos cárneos, pães e bolos; altos valores de IAA são importantes para a manutenção da umidade dos produtos. Portanto, farinhas extrusadas podem ser desejáveis nos produtos cárneos e de panificação por permitirem a adição de mais água à massa, contribuindo para melhorar suas características de manuseio (WANG et al., 2006).

5.5.2 Solubilidade em água

Na **Figura 7** estão apresentados os valores de solubilidade em água das farinhas de feijão HTC antes e após a extrusão.

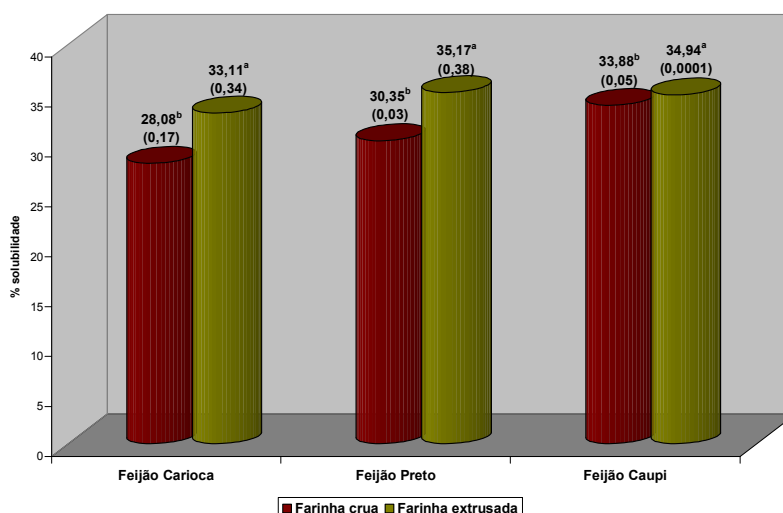


Figura 7. Solubilidade das farinhas de feijão crua e extrusada. Os valores estão apresentados como média (\pm desvio padrão) de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

A solubilidade de um produto depende da sua constituição química e das interações entre os seus constituintes e a água. No caso de farinhas de feijão, a solubilidade irá depender, em grande parte, das propriedades das proteínas e amido presente no grão. A solubilidade de uma proteína em água é afetada pelo número de interações proteína-proteína e proteína-água existentes. As interações hidrofóbicas resultam na diminuição da solubilidade, enquanto que as interações iônicas e polares permitem interações das proteínas com as moléculas de água e, conseqüentemente, aumentam a solubilidade destas moléculas. Fatores como estrutura da proteína e a extensão de desnaturação protéica podem influenciar significativamente na solubilidade das farinhas (RIBEIRO, 2003).

Por outro lado, a solubilidade do amido em água reflete o grau de degradação total do grânulo de amido, levando em consideração o conteúdo de amilose e amilopectina, a ocorrência de gelatinização, dextrinização e, conseqüente solubilização da molécula (BORBA et al., 2005).

No caso do feijão, a razão amilose/amilopectina no amido, a natureza e estrutura conformacional das proteínas varia enormemente entre as diferentes cultivares, o que explica os diferentes valores de solubilidade em água relatados na literatura para feijão caupi (AMONSOU et al., 2009) e feijão comum (ALONSO et al., 2000; ROCHA-GUZMÁN et al., 2008).

A extrusão ocasionou um aumento de, respectivamente 16% e 18% na solubilidade da farinha de feijão preto e carioca, valores inferiores aos 27% de aumento encontrados por Alonso et al. (2000) para extrusados de feijão 'kidney' não endurecido.

Em relação ao feijão caupi, os resultados encontrados para a farinha crua e extrusados são inferiores aos citados por Adebooye e Singh (2008), para diferentes variedades de *Vigna unguiculata* (39,8% - 41,2%).

O aumento da solubilidade verificado em produtos extrusados provavelmente está associado às alterações nas propriedades físico-químicas de proteínas e sua capacidade de interação com água e demais constituintes da farinha, além das alterações na dispersão das moléculas de amilose e amilopectina como conseqüência da gelatinização, quando as condições de extrusão são mais brandas ou em função da formação de compostos de baixo peso molecular, quando se emprega no processo condições mais drásticas de temperaturas e umidade (ALTAN, McCARTHY; MASKAN, 2009; DING et al., 2005; FILLI; NKAMA, 2007; VAN DEN EINDE; VAN DER GOOT; BOOM, 2003).

Altan, McCarthy e Maskan (2009) observaram que temperaturas de extrusão elevadas podem diminuir a solubilidade do material em decorrência da formação de interações moleculares entre moléculas de amido degradado, proteínas, fibras e lipídios. Os complexos formados apresentam alto peso molecular e causam a diminuição da solubilidade em água do material.

5.5.3 Capacidade de absorção de óleo (CAO)

A capacidade de absorção de óleo das farinhas de *Phaseolus* e *Vigna* não apresentaram diferenças entre as cultivares, tanto para as farinhas cruas quanto extrusadas (**Figura 8**).

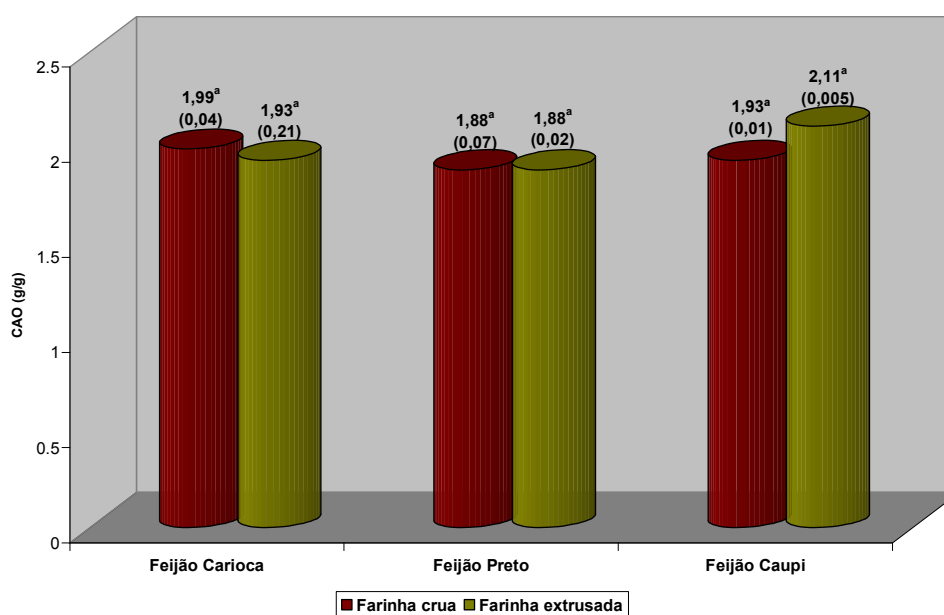


Figura 8. Capacidade de absorção de óleo (g g^{-1}) das farinhas de feijão. Os valores apresentados são dados como média (\pm desvio padrão) de três determinações. Para cada cultivar, dados acompanhados por letras iguais não apresentam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$).

O processo de extrusão não provocou alteração significativa na CAO dos extrusados. Entretanto, os valores de CAO obtidos neste trabalho são superiores aos relatados por Abu et al. (2005) para feijão caupi ($0,83 \text{ g g}^{-1}$); Obatolu e Cole (2000) para diferentes misturas de feijão caupi e milho ($0,03$ a $0,04 \text{ g g}^{-1}$); Rocha-Guzmán et al (2008) para cultivares mexicanas de *P.vulgaris* ($0,82$ a $0,91 \text{ g g}^{-1}$); Siddiq et al. (2009) para feijão comum cru não endurecido ($1,23$ a $1,52 \text{ g g}^{-1}$) e Zheng et al. (2008) para proteína de soja ($1,2$ a $1,48 \text{ g g}^{-1}$)

Segundo Ravi e Sushelamma (2005), a absorção de óleo consiste na capacidade de sítios apolares das cadeias de proteínas aprisionarem óleo. Desse modo, o conteúdo e tipo de proteína presente na farinha determinam a capacidade de absorção de óleo dos alimentos.

Alonso et al. (2000) observaram uma redução da CAO após a extrusão devido, possivelmente, às alterações na quantidade de grupos lipofílicos expostos na superfície das proteínas provocada pela desnaturação protéica durante o processo, com possível bloqueio de sítios hidrofóbicos que poderiam reagir com o óleo. As condições de extrusão utilizadas neste trabalho provavelmente não foram drásticas o suficiente para provocar tais alterações nas moléculas de proteína ou as alterações ocorridas não alterou a quantidade de sítios hidrofóbicos que reagem com os lipídios do óleo de soja.

O conhecimento da CAO de farinhas é importante para o desenvolvimento e determinação da estabilidade de armazenamento de novos produtos alimentícios, principalmente em relação ao desenvolvimento de flavor característico de rancidez oxidativa (SIDDIQ et al., 2009).

5.5.4 Capacidade espumante e estabilidade da espuma

Os valores de capacidade espumante (CE) dos feijões carioca, preto e caupi estão na Tabela 5.

A CE das farinhas é determinada pela quantidade e natureza de constituintes capazes de reduzir a tensão superficial na interface ar/água. Quanto maior a capacidade de adaptação dos componentes da farinha às mudanças do microambiente em que estão inseridas, maior será a sua capacidade de formar espuma (ZHENG et al., 2008).

Tabela 5. Capacidade espumante e estabilidade da espuma das farinhas cruas dos feijões endurecidos, em diferentes tempos de repouso.

Feijão	Capacidade espumante (%)	Estabilidade da espuma (% redução de volume)			
		30 min	60 min	90 min	120 min
Carioca	35,55 (0,004)	28,19 ^a (0,004)	28,18 ^a (0,01)	28,18 ^a (0,01)	28,18 ^a (0,01)
Preto	45,98 (0,75)	25,94 ^b (1,02)	36,57 ^a (1,04)	39,83 ^a (0,83)	39,83 ^a (0,83)
Caupi	51,16 (0,01)	23,52 ^b (0,002)	36,19 ^{a,b} (3,86)	36,19 ^{a,b} (3,86)	40,3 ^a (3,8)

Os valores são apresentados como média (\pm desvio padrão) de três determinações. Dados na mesma linha, acompanhados pela mesma letra não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Os diferentes valores de CE observados entre as cultivares deve-se ao fato de estas provavelmente apresentarem composição química diferente, onde a proporção de constituintes capazes de formar um filme na interface gás-líquido provavelmente é maior para a espécie *Vigna unguiculata* do que para os *P.vulgaris*. É interessante ressaltar, também, que, mesmo dentro da mesma espécie, há diferenças significativas na constituição dos grãos, observada

principalmente em relação aos constituintes encontrados na cascas dos feijões. Essa característica distinta entre as diversas cultivares pode ser a causa pela qual o feijão preto apresentou uma capacidade espumante quase 30% superior ao feijão carioca.

A CE observada para as farinhas cruas de feijão caupi e carioca, foi superior aos valores encontrados por Donadel e Prudencio-Ferreira (1999) para concentrado protéico de feijões endurecidos. Ribeiro et al. (2009) e Siddiq et al. (2009), encontraram valores de CE menores que os observados neste trabalho para farinha de feijão preto.

Como pode ser observado na Tabela 5, o volume da espuma da farinha de feijão carioca sofre redução apenas nos primeiros 30 minutos, permanecendo estável após esse período. Já no feijão preto, o volume da espuma decresceu nos primeiros 90 minutos de repouso. Siddiq et al. (2009) relataram uma estabilidade de espuma menor que a encontrada neste trabalho, resultado provavelmente associado às diferenças existentes na constituição das diversas variedades de feijão comum.

Em relação ao feijão caupi, a espuma se desfaz apenas na primeira hora de repouso, permanecendo estável após esse tempo.

Após a extrusão, a CE se extinguiu. A ausência de formação de espuma está relacionada, provavelmente, com as alterações moleculares e físico-químicas sofridas nas biomoléculas constituintes da farinha, durante o processo de extrusão (ZHENG et al., 2008). Abu et al. (2005) relataram que a desnaturação e agregação protéica ocasionada em tratamentos térmicos provoca a diminuição da atividade espumante de farinhas de feijão caupi.

5.5.5 Atividade e estabilidade da emulsão

Os valores médios para a atividade emulsificante (AE) e estabilidade da emulsão (EE) das farinhas crua e extrusada são apresentados na Tabela 6.

A AE das farinhas cruas de feijão caupi e carioca apresentaram valores similares entre si e menores que os encontrados para o feijão preto.

Os valores de AE das farinhas cruas foram similares aos relatados por Abu et al. (2005) para feijão caupi (53%); e Siddiq et al. (2009) para diferentes variedades de feijão comum (45% - 62,3%). Além disso, esses valores foram superiores aos encontrados por Ribeiro et al. (2009) para concentrado protéico de feijão preto com e sem desenvolvimento de endurecimento (44,78% e 48,3%, respectivamente); e Wang et al. (2006) para soja (45,3%).

A extrusão provocou redução na atividade emulsificante de todas as três cultivares de feijão, sendo que o extrusado do carioca foi o que sofreu menor alteração, apresentado AE

4,4% inferior à farinha crua. O extrusado de feijão caupi teve a AE reduzida em 7%, enquanto no feijão preto foi observado redução de quase 20%.

Tal redução provavelmente aconteceu em função de alterações na estrutura dos componentes da farinha, ocasionada pela temperatura, umidade e pressão durante o processo, que provavelmente alterou a quantidade de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos disponíveis, alterando a capacidade desses constituintes de promoverem a redução da tensão superficial na interface óleo/água (ABU et al., 2005; ZHENG et al., 2008).

Tabela 6. Atividade emulsificante e estabilidade da emulsão das farinhas e extrusados de feijão HTC.

Feijão Carioca		
	Farinha crua	Farinha extrusada
Atividade emulsificante (%)	55,03 ^a ± 0,04	52,63 ^b ± 0,001
Estabilidade da emulsão (%)	94,66 ^a ± 0,30	52,64 ^b ± 0,20
Feijão Preto		
	Farinha crua	Farinha extrusada
Atividade emulsificante (%)	68,42 ^a ± 0,001	55,03 ^b ± 0,04
Estabilidade da emulsão (%)	95,12 ^a ± 0,17	54,41 ^b ± 0,84
Feijão Caupi		
	Farinha crua	Farinha extrusada
Atividade emulsificante (%)	54,21 ^a ± 1,37	50,00 ^a ± 0,0001
Estabilidade da emulsão (%)	97,56 ^a ± 0,08	50,60 ^b ± 0,84

Valores apresentados como média ± desvio padrão de três determinações. Dados na mesma linha, acompanhados pela mesma letra, não apresentam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$).

Rocha-Guzmán et al. (2008) observaram efeitos variados na AE de diferentes variedade de feijão comum, onde a extrusão aumentou a AE de algumas variedades e reduziu de outras. Essas variações de magnitude de AE devem-se além das variações nas condições de extrusão, das diferenças existentes na composição dos feijões.

Em relação à estabilidade, evidenciou-se uma acentuada diminuição na estabilidade da emulsão (EE) dos extrusados. Entretanto, a estabilidade remanescente nos extrusados foi superior aos apresentados por Donadel e Prudencio-Ferreira (1999) para concentrado protéico de feijão comum endurecido; Ribeiro et al. (2009) para concentrado protéico de feijão preto com e sem efeito HTC e Siddiq et al. (2009) para feijão preto sem efeito HTC.

5.5.6 Capacidade de formação de gel

Os resultados apresentados na Tabela 7 para capacidade de formação de gel demonstram que as farinhas cruas apresentaram uma menor capacidade de formação de gel do que as extrusadas, além da diferença existente de capacidade de gelificação entre as espécies estudadas.

Os feijões da espécie *P. vulgaris*, antes da extrusão, formaram gel a partir de dispersões com 12% de amostra, entretanto, o feijão preto apresentou características de gelificação levemente diferentes do feijão carioca.

Após a extrusão, a capacidade de gelificação foi melhorada, e, ambos os feijões, carioca e preto, apresentaram capacidade de gelificação a partir de suspensões com 8% de farinha.

Tabela 7. Capacidade de formação de gel das farinhas de feijão carioca, preto e caupi antes e após extrusão.

Feijão Carioca							
	Concentração de farinha (g 100 mL ⁻¹)						
	8	10	12	14	16	18	20
Farinha crua	-	-	±	+	+	+	+
Farinha extrusada	-	±	+	+	+	+	+
Feijão Preto							
	Concentração de farinha (g 100 mL ⁻¹)						
	8	10	12	14	16	18	20
Farinha crua	-	-	±	±	+	+	+
Farinha extrusada	-	±	+	+	+	+	+
Feijão Caupi							
	Concentração de farinha (g 100 mL ⁻¹)						
	8	10	12	14	16	18	20
Farinha crua	-	-	-	-	-	-	-
Farinha extrusada	-	±	+	+	+	+	+

Testes realizados em triplicata. Ausência de gelificação (-); gel frágil (±); gel resistente (+).

Para o feijão caupi, apenas os extrusados apresentaram capacidade de gelificação, embora inferior à observada para os feijões comuns.

A melhor capacidade de formação de gel apresentada pelos extrusados em relação à farinha crua provavelmente é resultado da melhora da capacidade de absorção de água, além das alterações sofridas nas propriedades moleculares e físico-químicas das biomoléculas. Em especial, proteínas e polissacarídeos são eficientes gelificantes por serem capazes de formar

redes tridimensionais. A desnaturação protéica e alterações na estrutura de polissacarídeos como o amido durante a extrusão aumentam o tamanho das moléculas, que passam a formar mais ligações cruzadas originando extensas redes tridimensionais, responsáveis por melhorar da capacidade de formação de gel das amostras (ZHENG et al., 2008).

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que o processo de extrusão afetou as propriedades funcionais, conteúdo de antinutricionais e digestibilidade dos extrusados. Com exceção da umidade do feijão caupi, a composição centesimal das três cultivares não sofreu alteração pelo processo de extrusão.

Houve um aumento geral do índice de absorção e solubilidade em água, redução da atividade emulsificante e eliminação da capacidade de formação de espuma. As propriedades de gel também foram melhoradas com o processo de extrusão, havendo, entretanto, variações nos resultados de uma cultivar para outra. Estas mudanças permitem a aplicação desta farinha no preparo de pães, e produtos instantâneos como sopas e cremes.

No que se refere aos antinutricionais, a extrusão foi eficaz na eliminação da atividade hemaglutinante e inibidores de α -amilase, além de reduzir significativamente o conteúdo de ácido fítico e inibidores de tripsina, o que agrega maior valor e qualidade nutricional aos extrusados.

A redução ou eliminação dos antinutricionais, associadas às alterações sofridas pelas biomoléculas durante a extrusão provocou aumento da digestibilidade *in vitro* de proteínas e amido, com exceção do feijão caupi, onde não se observou melhora da digestibilidade de amido após a extrusão.

Todos esses resultados indicam que a extrusão é um método promissor para o aproveitamento de feijões com desenvolvimento de efeito hard-to-cook, pois, além de aumentar a qualidade nutricional das farinhas, proporcionou alterações funcionais que são interessantes do ponto de vista tecnológico.

7 PERSPECTIVAS

- Novos testes de extrusão para otimização da inativação de antinutricionais;
- Suplementação de produtos alimentícios (pão e biscoitos) com farinha de feijão;
- Substituição de fontes de amido por farinha extrusada em produtos instantâneos;
- Aplicação das farinhas extrusadas como substituinte de fonte protéica em meios de cultura.

REFERÊNCIAS

- ABU, J. O.; MULLER, K.; DUODU, K. G.; MINNAAR, A. Functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) flours and pastes as affected by γ -irradiation. **Food Chemistry**, Londres, v. 93, p. 103-111, 2005.
- ADEBOOYE, O. C.; SINGH, V. Physico-chemical properties of the flours and starches of two cowpea varieties (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlim, v. 9, p. 92-100, 2008.
- AFFRIFAH, N. S.; CHINNAN, M. S. The effect of drying conditions on the development of the hard-to-cook defect in steam-treated cowpeas. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 41, p. 867-877, 2006.
- AINSWORTH, P.; FULLER, D.; PLUNKETT, A.; IBANOGLU, S. Influence of extrusion variables on the protein *in vitro* digestibility and protein solubility of extruded soy tarthana. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 79, p. 675-678, 1999.
- AKESON, W. R.; STAHMANN, M. A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. **Journal of Nutrition**, Filadélfia, v. 83, p. 257-261, 1964.
- ALMEIDA, D. T.; GREINER, R.; FURTUNADO, D. M. N.; TRIGUEIRO, I. N. S.; ARAÚJO, M. P. N. Content of some antinutritional factors in bean cultivars frequently consumed in Brazil. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 43, p. 243-249, 2008.
- ALONSO, R.; AGUIRRE, A.; MARZO, F. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and *in vitro* digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. **Food Chemistry**, Londres, v. 68, n. 2, p. 159-165. 2000.
- ALONSO, R.; ORÚE, E.; ZABALZA, M. J.; GRANT, G.; MARZO, F. Effect of extrusion cooking on structure and functional properties of pea and kidney bean proteins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 80, p. 397-403, 2000.
- ALONSO, R.; RUBIO, L. A.; MUZQUIZ, M.; MARZO, F. The effect of extrusion cooking on mineral bioavailability in pea and kidney bean seed meals. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 94, p. 1-13, 2001.
- ALTAN, A.; McCARTHY, K. L.; MASKAN, M. Effect of extrusion cooking on functional properties and *in vitro* starch digestibility of barley-based extrudates from fruit and vegetable by-products. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 74, p. E77-E86, 2009.
- AMONSOU, E. O.; HOUSSOU, P. A.; SAKYI-DAWSON, E.; SAALIA, F. Dehulling characteristics, sensory and functional properties of flours from selected cowpea varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 89, p. 1587-1592, 2009.
- ANTON, A. A.; ROSS, K. A.; LUKOW, O. M.; FULCHER, R. G.; ARNTFIELD, S. D. Influence of added bean flour (*Phaseolus vulgaris* L.) on some physical and nutritional properties of wheat flour tortillas. **Food Chemistry**, Londres, v. 109, p. 33-41, 2008.

ANTON, A. A.; FULCHER, R. G.; ARNTFIELD, S. D. Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking. **Food Chemistry**, Londres, v. 113, p. 989-996, 2009.

ARNON, R. Papain. **Methods in Enzymology**, Nova Iorque, v. 19, p. 226-244, 1970.

ASP, N. G.; BJÖRCK, I. **Nutritional properties of extruded foods**. In: MERCIER, C.; LINDO, P.; HARPER, J. M. (Eds.). Extrusion cooking. St. Paul, USA: American Association of Cereal Chemists, 1989.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. AOAC, Washington DC, 2000.

BARROS, E. G. B.; MOREIRA, M. A.; CARNEIRO, J. E. S. Piramidação de genes resistentes a patógenos no feijoeiro comum. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2005. p. 1251-1255. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/conafe/indice/palestras.htm>>. Acesso em: 8 jan. 2009.

BERRIOS, J. J. Extrusion cooking of legumes: dry bean flours. **Encyclopedia of Agricultural and Biological Engineering**, Londres, v. 1, p.1-8, 2006.

BHAT, R.; SRIDHAR, K. R.; TOMITA-YOKOTANI, K. Effect of ionizing radiation on antinutritional features of velvet bean seeds (*Mucuna pruriens*). **Food Chemistry**, Londres, v. 103, p. 860-866, 2007.

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 da Unipar**, Umuarama, v. 11, p. 235-246, 2007.

BORBA, A.M. **Efeito de alguns parâmetros operacionais nas características físicas, físico-químicas e funcionais de extrusados da farinha de batata-doce**. 2005. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BRIGIDE, P.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Antinutrients and “in vitro” availability of iron in irradiated common beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Chemistry**, Londres, v. 98, p. 85-89, 2006.

CAMARGO, K. F.; LEONEL, M.; MISCHAN, M. M. Produção de biscoitos extrusados de polvilho azedo com fibras: efeito de parâmetros operacionais sobre as propriedades físicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 586-591, 2008.

CARVALHO, M. R. B.; KIRSCHNIK, P. G.; PAIVA, K. C.; AIURA, F. S. Avaliação da atividade dos inibidores de tripsina após digestão enzimática em grãos de soja tratados termicamente. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, p. 267-272, 2002.

CHIKAGWA-MALUNGA, S. K.; ADESOGAN, A. T.; SOLLENBERGER, L. E.; PHATAK, S. C.; SZABO, N. J.; KIM, S. C.; HUISDEN, C. M.; LITTELL, R. C. Nutritional characterization of *Mucuna pruriens*: 4. Does replacing soybean meal with *Mucuna pruriens* in lamb diets affect ruminal, blood and tissue l-dopa concentrations? **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v., p., 2008.

CLARKE, E. J.; WISEMAN, J. Developments in plant breeding for improved nutritional quality of soya beans. I. Protein and amino acid content. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 134, p. 111-124, 2000.

CLARKE, E. J.; WISEMAN, J. Effects of variability in trypsin inhibitor content of soya bean meals on true and apparent ideal digestibility of amino acids and pancreas size in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 121, p. 125-138, 2005.

COFFMANN, C. W.; GARCIA, V. V. Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. **Journal of Food Technology**, Oxford, v. 12, p. 473-484, 1977.

COSTA, G.; QUEIROZ-MONCINI, K.; REIS, S.; OLIVEIRA, A. Chemical composition, dietary fiber and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food Chemistry**, Londres, v. 94, p. 327-330, 2006.

CROCHET, P.; BEAUXIS-LAGRAVE, T.; NOEL, T. R.; PARKER, R.; RING, S. G. Starch crystal solubility and starch granule gelatinization. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 340, p. 107-113, 2005.

DAS, K. P.; KINSELLA, J. E. Effect of heat denaturation on the absorption of beta lactoglobulin at the oil-water interface and on coalescence stability of emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, San Diego, v. 139, p. 551-560, 1990.

DE PILLI, T.; JOUPPILA, K.; IKONEN, J.; KANSIKAS, J.; DEROSI, A.; SEVERINI, C. Study on formation of starch-lipid complexes during extrusion-cooking of almond flour. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 87, p. 495-504, 2008.

DESHPANDE, S. S.; SATHE, S. K.; SALUNKHE, D. K.; COMFORT, D. P. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 47, p. 1846-1850, 1982.

DING, O. B.; AINSWORTH, P.; TUCKER, G.; MARSON, H. The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics of rice-expanded snacks. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 66, p. 283-289, 2005.

DOMINGUEZ, B. M.; GÓMEZ M. V. I.; LEÓN, F. R. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 52, p. 219-231, 2002.

DONADEL, M. E.; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H. Propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 9, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-

20611999000300015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 01 Jan. 2010. doi: 10.1590/S0101-20611999000300015.

DRAGO, S. R.; VELASCO-GONZÁLEZ, O. H.; TORRES, R. L.; GONZÁLES, R. J.; VALENCIA, M. E. Effect of the extrusion on functional properties and mineral dialyzability from *Phaseolus vulgaris* bean flour. **Plant Foods for Human Nutrition**, Nova Iorque, v. 62, p. 43-8, 2007.

DUST, J. M.; GAJDA, M. A.; FLINKINGER, A. E.; BURKHALTER, T. M.; MERCHEN, N. R.; FAHEY JR, G. C. Extrusion conditions affect chemical composition and *in-vitro* digestion of selected food ingredients. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 2989-2996, 2004.

EGOUNLETY, M.; AWORH, O.C. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.) cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 56, p. 249-254, 2003.

ELLIS, R. P.; COCHRANE, M. P.; DALE, M. F. B.; DUFFUS, C. M.; LYNN, S.; MORRISON, I. M.; PRENTICE, R. D. M.; SWANSTON, J. S.; TILLER, S. A. Starch production and industrial use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 77, p. 289-311, 1998.

ELLIS, R.; MORRIS, E. R. Appropriate resin selection for rapid phytate analysis by ion-exchange chromatography. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 63, p. 58-59, 1986.

ELMAKI, H. B.; ABDELRAHAMAN, S. M.; IDRIS W. H.; HASSAN, A; B.; BABIKER, E. E.; EL TINAY, A. H. Content of antinutritional factors and HCl-extractability of minerals from white bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars: influence of soaking and/or cooking. **Food Chemistry**, Londres, v. 100, p. 362-368, 2007.

EL-HADY, E. A. A.; HABIBA, R. A. Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v. 36, p. 285-293, 2003.

EL-NIELY, H. F. G. Effect of radiation processing on antinutrients, in-vitro protein digestibility and protein efficiency ratio bioassay of legume seeds. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 1050-1057, 2007.

ELSHEIKH, E. A. E.; FADUL, I. A.; EL TINAY, A. H. Effect of cooking on anti-nutritional factors and in vitro protein digestibility (IVPD) of faba bean grown with different nutritional regimes. **Food Chemistry**, Londres, v. 38, p. 211-212, 2000.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Cultivares de feijão**: sistemas de cultivo. Disponível em <<http://www.cnpaf.embrapa.br/feijao/index.htm>>. Acesso em: 5 jan. 2009.

FILLI, K. B.; NKAMA, I. Hydratation properties of extruded fura from millet and legumes. **British Food Journal**, Cambridge, v. 109, p. 68-80, 2007.

FIORA, F. A.; PILOSOF, A. M. R.; BARTHOLOMAI, G. B. Physicochemical properties of soybean proteins related to flow, viscoelastic, mechanical and water-holding characteristics of gels. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, p. 133-136, 1990.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Cultura de tuberosas amiláceas latino americanas: propriedades gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargil, 2002a. 221 p.

FRANCO, O. L.; RIGDEN, D. J.; MELO, F. R.; GROSSI-DE-SÁ. Plant α -amylase inhibitors and their interaction with insect α -amylases: structure, function and potential for crop protection. **European Journal of Biochemistry**, Berlim, v. 269, p. 397-412, 2002b.

FROTA, K. M. G. **Efeito do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) e da proteína isolada no metabolismo lipídico em hamsters hipercolesterolemizados**. 2007. 136 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

FROTA, K. M. G.; SOARES, R. A. M.; ARÊAS, J. A. G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 471-477, 2008.

FUKUJI, T. S.; FERREIRA, D. L.; SOARES, A. L.; PRETE, C. E. C.; IDA, E. I. Ácido fítico de híbridos de milho e alguns produtos industrializados. **Acta Scientiarum Agronomi**, Maringá, v. 30, p. 31-35, 2008.

FUNKE, I.; MELZIG, M. F. Traditionally used plants in diabetes therapy-phytotherapeutics as inhibitors of alfa-amylase activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 16, p. 1-5, 2006.

GARCIA, V.; COLONNA, P.; BOUCHET, B.; GALLANT, D. J. Structural changes of cassava starch granules after heating at intermediate water contents. **Starch-Stärke**, Glasgow, v. 49, p. 171-179, 1997.

GARCIA, E.; FILISETTI, T. M. C. C.; UDAETA, J. E. M.; LAJOLO, F. M. Hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris*): involvement of phenolic compounds and pectates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, p. 2110-2116, 1998.

GARCÍA-ESTEPA, R. M.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. Phytic acid content in milled cereal products and breads. **Food Research International**, Barking, v. 32, p. 217-221, 1999.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max*) consumidos no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, p. 309-312, 1998.

GHAVIDEL, R. A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, *in vitro* iron and calcium bioavailability and *in vitro* starch and protein

digestibility of some legume seeds. **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v. 40, p. 1292-1299, 2007.

GIAMI, S. Y. Compositional and nutritional properties of selected newly developed lines of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 18, p. 665-673, 2005.

GUILLAMÓN, E.; PEDROSA, M. M.; BURBANO, C.; CUADRADO, C.; SÁNCHEZ, M.C.; MUZQUIZ, M. The trypsin inhibitors present in seed of different grain legume species and cultivar. **Food Chemistry**, Londres, v. 107, p.68-74, 2008.

GUJRAL, H. S.; SINGH, N.; SINGH, B. Extrusion behaviour of grits from flint and sweet corn. **Food Chemistry**, Londres, v. 74, p. 303-308, 2001.

HADDAD, J.; ALLAF, K. A study of the impact of instantaneous controlled pressure drop on the trypsin inhibitors of soybean. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 79, p. 353-357, 2007.

HAGENIMANA, A.; DING, X.; FANG, T. Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. **Journal of Cereal Science**, Londres, v. 43, p. 38-46, 2006.

HENSHAW, F. O. Varietal differences in physical characteristics and proximate composition of cowpea (*Vigna unguiculata*). **World Journal of Agricultural Sciences**, Rennes, v. 4, p. 302-306, 2008.

HERNÁNDEZ-DÍAZ, J. R.; QUINTERO-RAMOS, A.; BARNARD, J.; BALANDRÁN-QUINTANA, R. R. Functional Properties of Extrudates Prepared with Blends of Wheat Flour/Pinto Bean Meal with Added Wheat Bran. **Food Science and Technology International**, Londres, v. 13, p. 301-308, 2007.

IWE, M. O.; VAN ZUILICHEM, D. J.; NGODDY, P. O.; LAMMERS, W. Amino acid and protein digestibility index (PDI) of mixtures of extruded soy and sweet potato flours. **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v. 34, p. 71-75, 2001.

KAPTSO, K. G.; NJINTANG, Y. N.; KOMNEK, A. E.; HOUNHOUIGAN, J.; SCHER, J.; MBOFUNG. Physical properties and rehydration kinetics of two varieties of cowpea (*Vigna unguiculata*) and bambara groundnuts (*Voandzeia subterranea*) seeds. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 86, p. 91-99, 2008.

KHATTAB, R. Y.; ARNTFIELD, S. D. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments: 2. Antinutritional factors. **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v. 42, p. 1113-1118, 2009.

KHATTAB, R. Y.; ARNTFIELD, S. D.; NYACHOTI, C. M. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments, Part 1: Protein quality evaluation. **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v. 42, p. 1107-1112, 2009.

KINSELLA, J. E. Functional properties of proteins in food: a survey. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Ranton, v. 7, p. 219-280, 1976.

KORUS, J.; GUMUL, D.; CZECHOWSKA, K. Effect of extrusion on the phenolic composition and antioxidant activity of dry beans of *Phaseolus vulgaris* L. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 45, p. 139-146, 2007.

LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Nutricional significance of lectins and enzymes inhibitors from legumes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 6592-6598, 2002.

LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 28, p. 1313-1315, 1980.

LIANG, J.; HAN, B.; NOUT, M. J. R.; HAMER, R. J. Effects of soaking, germination and fermentation on phytic acid, total and *in vitro* soluble zinc in brown rice. **Food Chemistry**, Londres, v. 110, p. 821-828, 2008.

LIMA, L. M.; ARAÚJO, A. H.; OLIVEIRA, A. S.; PEREIRA, R. A.; MIRANDA, M. R. A.; SALES, M. P. Comparative digestibility and the inhibition of mammalian digestive enzymes from mature and immature cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seeds. **Food Control**, Guildford, v. 15, p. 107-110, 2004.

LIOI, L.; GALASSO, I.; DAMINATI, M. G.; PIERGIOVANNI, A. R. Inhibitory properties and binding loop polymorphism in Bowman-Birk inhibitors from *Phaseolus* species. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, p. 1-10, *In press*. DOI: 10.1007/s10722-009-9491-6, 2009.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 193, p. 265-275, 1951.

MANCINI-FILHO, J. **Efeitos das radiações gama sobre algumas características físico-químicas e nutricionais de feijões (*Phaseolus vulgaris*) armazenados**. 1990. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.

MARTÍN-CABREJAS, M. A.; JAIME, L.; KARANJA, C.; DOWNIE, A. J.; PARKER, M. L.; LOPEZ-ABREU, F. J.; MAINA, G.; ESTEBAM, R. M.; SMITH, A. C.; WALDRON, K. W. Modifications to physicochemical and nutritional properties of hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by extrusion cooking. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, p. 1174-1182, 1999.

MARZO, F.; ALONSO, R.; URDANETA, E.; ARRICIBITA, F. J.; IBÁÑEZ, F. Nutritional quality of extruded kidney bean (*Phaseolus vulgaris*, L. var. Pinto) and its effects on growth and skeletal muscle nitrogen fractions in rats. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 875-879, 2002.

MAURON, J. **The analysis of food proteins: amino acid composition and nutritive value**. IN: PORTER, J. W. G; ROLLS, B. A, (Eds). *Proteins in human nutrition*. London: Academic Press, p.139-154, 1973.

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

MENDONÇA, C. V. C. E.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D.; MORAIS, A. R. Quantificação de polifenóis e digestibilidade protéica de famílias de feijoeiro comum. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 858-864, 2003.

MENEGASSI, B.; LEONEL, M.; MISCHAN, M. M.; PINHO, S. Z. Efeito de parâmetros de extrusão na cor e propriedades de pasta da farinha de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 1780-1792, 2007.

MESQUITA, F. R.; CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P.; LIMA, R. A. Z.; ABREU, A. F. B. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 1114-1121, 2007.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, p. 426-428, 1959.

MIZUBUTI, I. Y.; BIONDO JR, O.; SOUZA, W. O.; SILVA, R. S. S.; IDA, E. I. Propriedades funcionais da farinha e concentrado protéico de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 50, p. 274 – 280, 2000.

MOREIRA, R. A.; PERRONE, J. C. Purification and partial characterization of a lectin from *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 59, p. 783-787, 1977.

MOSCA, M.; BONIGLIA, C.; CARRATÚ, B.; GIAMMARIOLI, S.; NERA, V.; SANZINI, E. Determination of α -amilase activity of phaseolamin from kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) in dietary supplements by HPAEC-PAD. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 617, p. 192-195, 2008.

MOUSINHO, F. E. P. **Viabilidade econômica da irrigação do feijão-caupi no estado do Piauí**. 2005. 103 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

MURRAY, S. M.; FLICKINGER, A. E.; PATIL, A. R.; MERCHEN, N. R. BRENT JR, J. L. FAHEY JR, G. C. *In-vitro* fermentation characteristics of native and processed cereal grains and potato starch using ileal chime from dogs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 435-444, 2001.

NASAR-ABBAS, S. M.; PLUMMER, J. A.; SIDDIQUE, K. H. M.; WHITE, P.; HARRIS, D.; DODS, K. Cooking quality of faba bean after storage at high temperature and the role of lignins and other phenolics in bean hardening. **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v. 42, p. 1260-1267, 2008.

OATWAY, L.; VASANTHAN, T.; HELM, J.H. Phytic acid. **Food Reviews International**, Nova Iorque, v. 17, p. 419-431, 2001.

OBATOLU, V. A.; COLE, A. H. Functional property of complementary blends of soybean and cowpea with malted or unmalted maize. **Food Chemistry**, Londres, v. 70, p. 147-153, 2000.

OKEZIE, B. O.; BELLO, A. B. Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, p. 450-454, 1988.

OLAPADE, A. A.; OKAFOR, G. I.; OZUMBA, A. U.; OLATUNKI, O. Characterization of common Nigerian cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) varieties. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 55, p. 101-105, 2002.

OLIVEIRA, A. C.; REIS, S. M. P. M.; CARVALHO, E. M.; PIMENTA, F. M. V.; RIOS, K. R.; PAIVA, K. C.; SOUSA, L. M.; ALMEIDA, M.; ARRUNA, S. F. 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, p. 211-217, 2003.

ONWULIRI, A. V.; OBU, A. J. Lipids and other constituents of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* grown in northern Nigeria. **Food Chemistry**, Londres, v. 78, p. 1-7, 2002.

OSMAN, M. A.; REID, P. M.; WEBER, C. W. Thermal inactivation of terapy bean (*Phaseolus acutifolius*), soybean and lima bean protease inhibitors: effect of acidic and basic pH. **Food Chemistry**, Londres, v. 78, p. 419-423, 2002.

PALLAUF, J. RIMBACH, G. Nutritional significancfe of phytic acid and phytase. **Archives of Animal Nutrition**, Montreux, v. 50, p. 301-319, 1997.

PAREDES-LÓPEZ, O.; BARRADAS, I.; REYES-MORENO, C.; Prediction of the effect of storage conditions on water content and water activity of common beans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, p. 1373-1374, 1989.

PEARCE, K. N.; KINSELLA, J. E. Emulsifying properties of proteins evaluation of a turbidimetric technique. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 26, p. 716-723, 1978.

PELEMBE, L. A. M.; ERASMUS, C.; TAYLOR, J. R. N. Development of a protein-rich composite sorghum-cowpea instant porridge by extrusion cooking process. **LWT- Food Science and Technology**, Londres, v. 35, p. 120-127, 2002.

PÉREZ-NAVARRETE, C.; GONZÁLES, R.; CHEL-GUERRERO, L.; BETANCUR-ANCONA, D. Effect of extrusion on nutritional quality of maize and Lima bean flour blends. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 86, p. 2477-2484, 2006.

PÉREZ-NAVARRETE, C.; BETANCUR-ANCONA, D.; CASOTTO, M.; TOVAR, A. C. J. Efecto de la extrusión sobre la biodisponibilidad de proteína y almidón en mezclas de harinas de maíz y frijol lima. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 57, p. 278-286, 2007.

PIERGIOVANNI, A. R.; GALASSO, I. Polymorphism of trypsin and chymotrypsin binding loops in Bowman-Birk from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Science**, Limerick, v. 166, p. 1525-1531, 2004.

PIERGIOVANNI, A.R.; PIGNONE, D. Effect of year-to-year variation and genotype on trypsin inhibitor level in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 83, p.473-476, 2003.

PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M. G. A.; CRUZ, G. A. D. R.; MENDES, F. Q.; REZENDE, S. T.; MOREIRA, M. A. Composição físico-química de diferentes cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos de Nutrição**, Araraquara, v.16, p. 157-162, 2005.

RAVI, R.; SUSELAMMA, N. S. Simultaneous optimization of a multi-response system by desirability function analysis of boondi making: A case study. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, p. S539-S547, 2005.

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**, Londres, v. 73, p. 351-355, 2001.

REHMAN, Z.; SHAH, W. H. Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. **Food Chemistry**, Londres, v. 91, p. 327–331, 2005.

REIFSTECK, B. M.; JEON, I. J. Retention of volatile flavors in confections by extrusion processing. **Food Reviews International**, Nova Iorque, v. 16, p. 435-452, 2000.

RESENDE, O.; CORRÊA, P. C.; GONELI, A. L. D.; RIBEIRO, D. M. Propriedades físicas do feijão durante a secagem: determinação e modelagem. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, p. 225-230, 2008.

RIBEIRO, H. J. S. S. **Propriedades físico-químicas e funcionais de concentrado protéico de feijão comum preto, cv. Iapar 44, novo e envelhecido**. 2003. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2003.

RIBEIRO, H. J. S. S.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H.; MIYAGUI, D. T. Propriedades físicas e químicas de feijão comum preto, cultivar Iapar 44, após envelhecimento acelerado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 165-169, 2005.

RIBEIRO, H. J. S. S.; PRUDENCIO, S. H.; MIYAGUI, D. T.; RIBEIRO, E. L. A. Caracterização de concentrado protéico de feijão comum preto, cultivar Iapar 44, novo e envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, p. 571-580, 2009.

RIOS, A. O.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D. Efeito da estocagem e das condições de colheita sobre algumas propriedades físicas, químicas e nutricionais de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23 (supl.), p. 39-45, 2003.

RIVAS-VEGA, M. E.; GOYTORTÚA-BORES, E.; EZQUERRA-BRAUER, J. M.; SALAZAR-GARCÍA, M. G.; CRUZ-SUÁREZ, L. E.; NOLASCO, H.; CIVERA-CERECEDO, R. Nutritional value of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) meals as

ingredients in diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). **Food Chemistry**, Londres, v. 97, p. 41-49, 2006.

ROCHA-GUZMÁN, N. E.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; GONZÁLEZ-LAREDO, R. F.; BELLO-PEREZ, A.; DELGADO-LICON, E.; OCHOA-MARTINEZ, A.; PRADO-ORTIZ, M. J. Physical properties of extruded products from three mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. **Plant Food for Human Nutrition**, Nova Iorque, v. 63, p. 99-104, 2008.

ROSSI, M. A.; MANCINI-FILHO, J.; LAJOLO, F. M. Jejunal ultrastructural changes induced by kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) lectins in rats. **British Journal of Experimental Pathology**, Londres, v. 65, p. 117-127, 1984.

RUIZ-RUIZ, J.; MARTINEZ-AYALA, A.; DRAGO, S.; GONZÁLEZ, R.; BATANCUR-ANCONA, D.; CHEL-GUERRERO, L. Extrusion of a hard-to-cook bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and quality protein maize (*Zea mays* L.) flour blend. **Food Science and Technology**, Londres, v. 41, p. 1799-1807, 2008.

SANDERBERG, A. S. Bioavailability of minerals in legumes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 88, p. 281-285, 2002.

SANDHU, K. S.; LIM, S. T. Digestibility of legume starches as influenced by their physical and structural properties. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 71, p. 245-252, 2008.

SANTIMORE, M.; KOUKIEKOLO, R.; MOREAU, Y.; LE BERRE, V.; ROUGÉ, P.; MARCHIS-MOUREN, G.; DESSEAUX, V. Porcine pancreatic α -amylase inhibition by the kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) inhibitor (α -AI1) and structural changes in the α -amylase inhibitor complex. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1696, p. 181-190, 2004.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas e alimentos protéicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SHIGA, T. M.; CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M. Effect of cooking on non-starch polysaccharides of hard-to-cook beans. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 76, p. 100-109, 2009.

SHIMELIS, E. A.; RAKSHIT, S. K. Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v. 38, p. 331-338, 2005.

SHIMELIS, E. A.; RAKSHIT, S. K. Effect of processing on antinutrients and *in vitro* protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa. **Food Chemistry**, Londres, v. 103, p. 161-172, 2007.

SHOSHIMA, A. H. R.; TAVANO, O. L.; NEVES, V. A. Digestibilidade *in vitro* das proteínas do caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) var. “Br-14 Mutalo”: efeito dos fatores antinutricionais. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, p. 299-304, 2005.

SIDDIQ, M.; RAVI, R.; HARTE, J. B.; DOLAN, K. D. Physical and functional characteristics of selected dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. **LWT –Food Science and Technology**, Londres, v. 43, p. 232-237, 2009.

SILVA, M. C.; MELLO, L. V.; COUTINHO, M. V.; RIGDEN, D. J.; NESHICH, G.; CHRISPEELS, M. J.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Mutants of common bean alpha-amylase inhibitor-2 as na approach to investigate binding specificity to alpha-amylases. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 201-208, 2004.

SINGH, N.; SEKHON, K.S.; NAGI, H. P. S. Effect of temperature on the extrusion behaviour of flour from sound and sprouted wheat. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 31, p. 233-235, 1994.

SINGH, S.; GAMLATH, S.; WAKELING, L. Nutritional aspects of food extrusion: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 42, p. 916-929, 2007.

STANLEY, D. W. Chemical and structural determinants of texture of fabricated foods. **Food Technology**, Chicago, v. 40, p. 65-68, 1986.

SVENSSON, B.; FUKUDA, K.; NIELSEN, P. K.; BONSAGER, B. C. Proteinaceous α -amylase inhibitors. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1696, p. 145-156, 2004.

SVIHUS, B.; UHLEN, A. K.; HARSTAD, O. M. Effect of starch granule associated components and processing on nutritive value of cereal starch: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 122, p. 303-320, 2005.

THARANATHAN, R. N.; MAHADEVAMMA, S. Grain legumes: a boon to human nutrition. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 14, p. 507-518, 2003.

TOLEDO, T. C. F.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V.; PIEDADE, S. M. S. Effects of gamma radiation on total phenolics, trypsin and tannin inhibitors in soybean grains. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 1653-1656, 2007.

TRAN, Q. D.; HENDRIKS, W. H.; VAN DER POEL, A. F. B. Effects of extrusion processing on nutrients in dry pet food. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 88, p. 1487-1493, 2008.

VAN DEN EINDE, R. M.; VAN DER GOOT, A. J.; BOOM, R.M. Understanding Molecular Weight Reduction of Starch During Heating–shearing Processes. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, p. 2396-2404, 2003.

VASAGAM, K. P. K.; BALASUBRAMANIAN, T.; VENKATESAN, R. Apparent digestibility of differently processed grain legumes, cow pea and mung bean in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius and associated histological anomalies in hepatopancreas and midgut. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 132, p. 250-266, 2007.

VASCONCELOS, I. M.; MAIA, A. A. B.; SIEBRA, E. A.; OLIVEIRA, J. T. A.; CARVALHO, A. F. F. U.; MELO, V. M. M.; CARLINI, C. R.; CASTELAR, L. I. M. Nutritional study of two Brazilian soybean (*Glycine Max*) cultivars differing in the contents of

antinutritional and toxic proteins. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Lexington, v.12, p. 55-62, 2001.

VASCONCELOS, I. M.; OLIVEIRA, J. T. Antinutritional properties of plant lectins. **Toxicon**, Elmsford, v. 44, p. 385-403, 2004.

WANG, S. H; ROCHA, G. O.; NASCIMENTO, T. P.; ASCHERI, J. L. R. Absorção de água e propriedades espumantes de farinhas extrusadas de trigo e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 475-481, 2006.

YASUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORITAKA, S.; MISAKI, M.; TODA, J.; WADA, T.; ISHII, K. Whipping and emulsifying properties of soybean products. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tóquio, v. 36, p. 719-727, 1972.

YOKOYAMA, L. P. Importância econômica. In: SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; FERREIRA, C. M.; SILVA, C. C.; VIEIRA, E. H. N.; QUINTELA, E. D.; FERREIRA, E.; MERCANTE, F. M.; OLIVEIRA, I. P.; FONSECA, J. R.; SILVA, J. G.; FARIA, J. C.; YOKOYAMA, L. P.; FARIA, L. C.; STONE, L. F.; TEIXEIRA, M. G.; DEL PELOSO, M. J. BARBOSA FILHO, M. P.; FAGÉRIA, N K; SILVA, O. F.; SILVEIRA, P. M.; STRALIOTTO, R.; SILVA, S. C.; STEINMETZ, S; COBUCCI, T. **Cultivo do Feijoeiro Comum**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm>>. Acesso em: 03 jan 2009.

ZABIDI, M. A.; AZIZ, N. A. A. In vitro starch hydrolysis and estimated glycaemic index of bread substituted with different percentage of chempedak (*Artocarpus integer*) seed flour. **Food Chemistry**, Londres, v. 117, p. 64-68, 2009.

ZHANG, J.; SHI, J.; ILLIC, S.; XUE, S. J.; KAKUDA, Y. Biological properties and characterization of lectin from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*). **Food Reviews International**, Nova Iorque, v. 25, p. 12-27, 2009.

ZHENG, H.; YANG, X.; TANG, C.; LI, L.; AHMAD, I. Preparation of soluble soybean protein aggregates (SSPA) from insoluble soybean protein concentrates (SPC) and its functional properties. **Food Research International**, Barking, v. 41, p.154-164, 2008.

ANEXO A - Aceite do artigo intitulado "Changes in the functional properties and antinutritional factors of extruded hard-to-cook common beans (*Phaseolus vulgaris*, L.)"

15-Jan-2010

Dear Ms. Karla Batista:

We are pleased to inform you that your manuscript, "Changes in the functional properties and antinutritional factors of extruded hard-to-cook common beans (*Phaseolus vulgaris*, L.)," (JFS-2009-0887.R3) has been accepted for publication in the Journal of Food Science, PENDING:

(1.) You must completely fill out the Copyright Assignment Form, located in the "Instructions and Forms" resource page on ScholarOne Manuscripts and fax to JFS Editorial Office at 312-596-5676 or email the scanned form as an attachment to jfs@ift.org.

JFS form:

<http://mc.manuscriptcentral.com/societyimages/jfs/JFS%20New%20Copyright%20Assignment%20Form.pdf>

(2.) We will use the files you already uploaded for this accepted version of your manuscript for production, unless you send updated files before or on the same day as your copyright form. If there are any problems with your files, Amanda Ferguson will contact you.

IF *MINOR* CHANGES ARE TO BE MADE AFTER MANUSCRIPT HAS BEEN ACCEPTED, YOU MAY MAKE THE CHANGES WHEN YOU RECEIVE YOUR PAGE PROOFS.

A few comments of the Editor follow and, if applicable, please take appropriate action.

Editor's Comments to Author:

Associate Editor: King, Joan

Comments to the Author:

(There are no comments)

Please note that, to avoid delays in publication, it is YOUR responsibility to make sure that the complete text, and all figures and tables are submitted.

During the latter part of the production process -- which should take about 3 months -- you will receive an email with a link to download PDF files of your page proofs. After you approve the page proofs you will receive an email with your page charge invoice, if applicable. There are no page charges for IFT members.

We greatly appreciate your choice of the Journal of Food Science as an outlet for your fine work.

Sincerely,

Dr. David Min

Scientific Editor, Journal of Food Science

4 Food Chemistry

ANEXO B – Artigo submetido ao Journal of Food Science

Changes in the functional properties and antinutritional factors of extruded hard-to-cook
common beans (*Phaseolus vulgaris*, L.)

Running title: Changes in extruded hard-to-cook beans

Karla A. Batista

Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, CP 131,
74001-970 Goiânia, GO, Brasil

Sandra H. Prudêncio

Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina,
Paraná, Brasil

Kátia F. Fernandes

Laboratório de Química de Proteínas, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, CP 131, 74001-970 Goiânia,
GO, Brasil.

*Corresponding Author: Karla A. Batista

Laboratório de Química de Proteínas, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, CP 131, 74001-970 Goiânia,
GO, Brasil. Phone: +55 (62) 3521-1492; Fax: +55 (62) 3521-1190. E-mail:
krlbatista@hotmail.com (Karla A. Batista)

Abstract

The biochemical and functional properties of two hard-to-cook common beans cultivars (*Phaseolus vulgaris*, L.) were investigated after the extrusion process. Beans of BRS pontal and BRS grafite cultivars were milled and extruded at 150 °C, with a compression ratio screw of 3:1, 5-mm die, and screw speed of 150 rpm. Extrudate flours were evaluated for water solubility (WS), water absorption index (WAI), oil absorption capacity (OAC), foaming capacity (FC), emulsifying activity (EA), antinutritional factors and *in vitro* protein and starch digestibility. Results indicated that the extrusion significantly decreased antinutrients such as phytic acid, lectin, α -amylase and trypsin inhibitors, reduced the emulsifying capacity and eliminated the foaming capacity (FC) in both BRS pontal and BRS grafite cultivars. In addition, the WS, WAI and *in vitro* protein and starch digestibility were improved by the extrusion process. These results indicate that it is possible to produce new extruded products with good functional and biochemical properties from these common bean cultivars.

Keywords: extrusion; functional properties; heat-moisture treatment, hard-to-cook.

Introduction

Beans are legumes that supply a significant amount of protein for a great part of the world population, especially in poor countries where the consumption of animal protein is relatively low. Their high content of protein, carbohydrates, fibers, some minerals and vitamins make the beans a good source of nutrients. Unfortunately, the antinutritional factors present in the beans reduce the activity of some enzymes, the biological action of several chemical compounds and the absorption of metabolites (Rocha-Guzmán 2006).

In spite of its excellent nutritional profile, the common bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) presents some disadvantages. It may be deteriorated as a consequence of time and conditions of storage, particularly under high temperature and high humidity, characteristics that are prevalent in tropical countries (Ruiz-Ruiz and others 2008). The main observed alterations are deterioration of texture and flavor and an increase of the cooking time due to the hardening of the bean grains, a characteristic known as Hard-To-Cook (HTC) phenomenon. The HTC phenomenon inhibits cell separation during the cooking process, which affects the texture of the cooked seeds and limits the protein availability due to the physical restriction for the access of digestive enzymes, lowering the nutritional contribution of the seeds (Alonso and others 2001).

A number of alternative technologies have been proposed for the use of the hard-to-cook bean such as dry and wet fractionating, alkaline thermal treatment and extrusion. In recent years, the extrusion method has been widely used for cereal processing, production of food and food ingredients such as precooked flour, infant food, breakfast cereals, meat and cheese analogues, snacks and modified starches (Alonso and others 2001; Drago and others 2007; Ruiz-Ruiz and others 2008).

The extrusion-cooking has good potential for the production of desirable forms of beans economically available in developing countries. Nontraditional methods of processing,

such as thermal extrusion, are needed for expansion of the utilization of hard-to-cook beans (Rocha-Guzmán 2006). Heat, water and high pressure in an extrusion process may induce desirable chemical changes in the material. The main reported benefit effect of extrusion is the reduction in activity of antinutritional factors such as trypsin and α -amylase inhibitors, lectins and phytates concomitantly with an improvement of the digestibility of proteins and starch (Martín-Cabrejas and others 1999).

The aims of this work were to determine the effect of the extrusion method on the Hard-to-Cook common bean from the cultivars of BRS pontal (carioca) and BRS grafite (black) on the basis of chemical composition, functional properties, and activity of antinutritional factors as well as to evaluate the alterations in the digestibility of starch and protein.

Materials and methods

Flour bean preparation and extrusion

The common hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris*, L.), from the cultivars of BRS pontal (carioca) and BRS grafite (black), were provided by EMBRAPA (Goiás, Brazil). The grains were ground in a Tecnal mill-grinder to pass a 0.420 mm mesh. The extrusion process was carried out in a single-screw extruder (Ceraltec International CT-L15), with a compression ratio of 3:1, 5-mm die and screw speed of 150 rpm. The central temperature and moisture content were fixed in 150 °C and 20g /100g of dry weight, respectively. The extrudates were cooled at room temperature (25 °C), ground to pass a 0.420 mm mesh screen, sealed in plastic bags and refrigerated at 4 °C.

Chemical composition

The approximate chemical composition of the flour was performed according to the methods of the Association of Official Analytical Chemists (2000). The total carbohydrates content was calculated by difference.

Functional properties

The water solubility (WS), water absorption index (WAI) and oil absorption capacity (OAC) were carried out following the methods described by Okezie and Bello (1988).

The foaming properties were determined according to the method described by Coffman and Garcia (1977), with modifications. The suspension (1 g of flour in 50 mL of distilled water) of the bean flour was vigorously whipped for 5 min in a homogenizer. Immediately afterward, the mixture was transferred to a 100 mL measuring cylinder. The volumes were recorded before and after the whipping process and the increasing percentage in the volume represented the foaming capacity (FC).

An adapted method from Yasumatsu and others (1972) was used to determine the emulsifying activity (EA). One g of the sample was suspended in a mixture of 10 mL of distilled water and 10 mL of soy oil. The combination was mixed in a homogenizer under maximum speed for 1 min. Equal volumes of emulsion were transferred to two centrifuge tubes and then centrifuged at 3000 rpm for 5 min. The result was calculated by dividing the height of the emulsified layer by the total height. The result was expressed in percentage.

***In vitro* Digestibility tests**

In vitro protein digestibility was determined by a multienzymatic method described by Akesson and Stahmann (1964). Samples of extruded and non extruded flour were first digested with pepsin (enzyme to substrate ratio 1:10) at pH 1.5, 37 °C for 3 h. Then, the samples were neutralized with 0.2 M NaOH solution (pH 8.0) and, after addition of pancreatin (1:5) the

digestion was carried for 4 h at 37 °C. The digestion was interrupted with trichloroacetic acid and after centrifugation at 5000 rpm for 10 min, the supernatant was assayed according to the method described by Lowry and others (1951) using Tyrosine as standard.

In vitro starch hydrolysis was determined according to Zabidi and Aziz (2009) with modifications. Two hundred mg of sample were incubated with 1 mL of α -amylase of *Aspergillus niger* on water bath at 90 °C for 15 min under agitation. Then, 200 μ L of amyloglucosidase solution was added (Sigma-Aldrich) and incubated at 55 °C for 120 min under continuous agitation. The reducing sugar was determined as described by Miller (1959). The starch digestion was expressed in the percentage of the reducing sugar contained in the flour by comparing the amount of reducing sugar presented in the starch, which was used as a control.

Antinutritional factors

Trypsin and α -amylase inhibitors

The trypsin inhibitor activity was determined according to Kakade and others (1974), using casein as the substrate for trypsin. One trypsin unit was arbitrarily defined as the increase of 0.1 absorbance unit at 280 nm. The unit of inhibition (TIU) was defined as the relationship between the units observed in the maximum activity and the activity of the samples containing the inhibitors.

The activity of α -Amylase inhibitor was determined according to Deshpande and others (1982), using starch as the substrate for the enzyme. One unit of α -amylase inhibitor was defined as the amount of inhibitor that inhibits one unit of α -amylase.

Haemagglutinating activity

Haemagglutination assays, using rabbit erythrocytes, were carried out following the method described by Moreira and Perrone (1977) with modifications. The extracts (1% w/v) were diluted in 2-fold dilution series against a 0.15 mol L⁻¹ NaCl solution containing CaCl₂ and MnCl₂ 5 mmol L⁻¹. 250 µL of a 2% (v/v) erythrocyte suspension was added to an equal volume of samples and the mixture incubated at 37 °C for 30 min followed by 30 min at room temperature (25 °C). The tubes were centrifuged at 3000 rpm for 1 min and last tube to show visible agglutination was considered the point of equivalence.

Phytic acid determination

The phytic acid (PA) content was determined by the method described by Latta and Eskin (1980) with modifications for resin DOWEX-AGX-4 according to Ellis and Morris (1986). A standard curve of phytic acid (Sigma, P8810) was done and the results were expressed in mg PA/g of the sample.

Statistical analysis

All experiments were conducted in triplicates and mean values were reported. Statistica software (Statistica 6.0, StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA) was used to perform ANOVA followed by the Tukey test to determine the significant differences among the means. The level of significance used was 95%.

Results and discussion

Chemical composition

The chemical composition of the bean flours before and after extrusion is given in Table 1. The extrusion process did not cause any significant change in the chemical composition of both extruded flours bean. Although the extrusion does not cause any changes

in the protein content for both cultivars, the high temperature, pressure and mechanical force of the process can change physical and chemical properties of the proteins, such as solubility, digestibility, emulsifying capacity, foam property and activity of proteic antinutritional compounds (Ruiz-Ruiz and others 2008).

Several authors (Asp and Björck 1989; De Pilli and others 2008) reported that high temperature ($> 200\text{ }^{\circ}\text{C}$) and screw speed ($> 300\text{ rpm}$) during the extrusion process can cause lipid degradation as well as formation of complexes between lipids and amylose, which interfere in their quantification. However, the temperature ($150\text{ }^{\circ}\text{C}$) and the screw speed (150 rpm) used in this study were far below from these levels. Consequently, it did not cause any alteration in the lipids content.

Water solubility, water absorption index and oil absorption capacity

The water solubility (WS) is used to measure starch degradation because an increase in this index indicates an increase of the soluble molecules in the extruded flour (Van Den Einde and others 2003; Hernández-Díaz and others 2007). Comparing both beans, BRS grafite was significantly more soluble than BRS pontal cultivar. The extrusion process of the BRS pontal and BRS grafite cultivars significantly increased the water solubility in 18% and 16%, respectively (Table 2). The water absorption index (WAI) is mostly influenced by protein-protein interactions, water-water interactions and physical capillary actions. The greater WAI in the BRS pontal (43.7%) and BRS grafite (95.7%) flour extrudates probably was due to the changes in the molecules, which resulted in physical retention of water likewise the changes occurred during the process of protein denaturation. These results are consistent with those reported by Rocha-Guzmán and others (2006, 2008) for other common beans, Hernández-Díaz and others (2007) for blends of wheat and bean flours and Alonso and others (2000a) for protein beans.

The results for the oil absorption capacity (OAC) were similar to both raw and extruded BRS pontal and BRS grafite flours. These results are similar to those reported by several authors (Alonso and others 2000a; Alonso and others 2001; Pelembe and others 2002; Rocha-Guzmán and others 2008) who have studied other bean flours.

Foam properties and emulsifying activity

The amount of native protein in the product, specially the nature of the protein involved, influences the foaming capacity of the flour beans. In this study, the foaming capacity (FC) presented in the raw bean flours disappeared after extrusion (Table 2). The high temperature used in the extrusion process probably affected the molecular and physicochemical characteristics of the components responsible for the foam formation (e.g. proteins and saponins). The reduction of the foaming capacity, caused by the temperature, has been reported for other cultivars of beans (Obatolu and Cole 2000; Njintang and others 2001).

The emulsifying properties of the flours are influenced by quality and quantity of soluble proteins (Rocha-Guzmán and others 2008). The denaturation of proteins caused by the extrusion process probably resulted in the aggregation and alteration of the physical properties of the proteins which caused the reduction of the emulsifying capacity in 4.4% and 19.6% to BRS pontal and BRS grafite cultivars, respectively.

Trypsin, α -amylase inhibitors and haemagglutinating activity

The nutritional quality of the bean grains is limited by the presence of antinutritional factors that hamper either the nutrient digestion or its utilization. The reduction or inactivation of these factors by means of processing technology requires knowledge of the type, distribution, chemical reactivity and thermal sensitivity of these antinutritional factors (Marzo and others 2002).

Despite the high thermal stability of the trypsin inhibitors, the combination of heat and humidity in the extrusion process considerably reduced their inhibitory activity in the BRS pontal (71%) and BRS grafite (69%) flours (Table 3). These results are similar to those found by Alonso and others (2000b) and Anton and others (2009). The values of remaining trypsin inhibitor were lower than those found by Toledo and others (2007) in soybean grains irradiated, Haddad and Allaf (2007) in raw soybean grains, El-Hady and Habiba (2003) in unsoaked and soaked common bean and Genovese and Lajolo (1998) in soybean products.

The extrusion process was very effective to eliminate the α -amylase inhibitory activity and haemagglutination activity of the beans (Table 3). Similar results were reported by Alonso and others (2001) for peas and other beans. These results demonstrated that these antinutritional factors were more sensitive to heating than trypsin inhibitors. Comparing the extrusion to traditional processing methods, the extrusion process showed the largest effects in the reduction of the levels of enzyme inhibitors and lectins (Alonso and others 2000b).

Phytic Acid

Data on phytic acid of raw and extruded bean flours are presented in Table 3. Comparing both cultivars, the cultivar BRS grafite presented higher phytic acid content than of BRS pontal. The extrusion process caused a significant reduction in phytic acid 17% and 26%, respectively to pontal and grafite cultivars. The reduction in this antinutrient can be explained by the partial degradation of the molecule of phytate. During the thermal process, inositol hexaphosphate is hydrolyzed to lower molecular weight intermediaries that form insoluble complexes with other components reducing phytate availability (Rehman and Shah 2005; Alonso and others 2000b; El-Hady and Habiba 2003; Anton and others 2009; ElMaki and others 2007).

Although several authors have considered the phytic acid as an antinutritional factor, recent studies pointed that this compound is an important additive and antioxidant, with applications in manufacture of bread, pasta, meat, fish paste, fruits and fresh vegetables (Oatway and others 2001). In addition, the amount of phytic acid remaining in the extruded bean flours was similar to those found by García-Esteva and others (1999) and less than those found by Fukuji and others (2008) for cereals and mixtures of cereals and beans.

***In vitro* Digestibility tests**

The values of *in vitro* protein digestibility of extruded bean flours were significantly higher than unextruded flours (Table 4). The thermal treatment during the extrusion has caused a partial inactivation of the trypsin inhibitors which improved the protein digestibility. In addition, the denaturation of proteins in the extrusion process can expose sites that are susceptible to the enzymatic hydrolysis (Allan and Booth 2004; Ruiz-Ruiz and others 2008).

Starch digestibility depends on the amount of susceptible starch to the α -amylase and amyloglucosidase action and on the structural characteristics of the starch grain. The crystalline structure of the starch in the bean flours protects the glucosidic bonds because it physically limits the action of the hydrolytic enzymes (Ruiz-Ruiz and others 2008). The extrusion process resulted in modification of the crystalline structure of the starch, which caused an increase of 21-22% in the digestibility of the extruded flours (Table 4).

Conclusions

The results obtained in this work showed that the extrusion process affected the moisture, functional properties, digestibility of starch and protein, and the activity of antinutritional factors of the hard-to-cook common bean flours. The extruded flours presented improvement in the solubility and water absorption. These changes permit the application of

this flour in the preparation of breads, powder for soup and cream. The destruction of the trypsin and α -amylase inhibitors activities, lectins, and phytates plus the increase in the digestibility of the starch and protein are results that contributed to improve the nutritional quality of the common bean flours after the extrusion process. All these changes in an agro-industrial residue indicate the extrusion as an attractive alternative to the use of the hard-to-cook beans.

References

- Akeson WR, Stahmann MA. 1964. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *J Nutr* 83:257-61.
- Allan GL, Booth MA. 2004. Effects of extrusion processing on digestibility of peas, lupins, canola meal and soybean meal in silver perch *Bidyanus bidyanus* (Mitchell) diets. *Aquac Res* 35:981-91.
- Alonso R, Orúe E, Zabalza MJ, Grant G, Marzo F. 2000a. Effect of extrusion cooking on structure and functional properties of pea and kidney bean proteins. *J Sci Food Agric* 80:397-403.
- Alonso R, Aguirre A, Marzo F. 2000b. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chem* 68:159-65.
- Alonso R, Rubio LA, Muzquiz M, Marzo F. 2001. The effect of extrusion cooking on mineral bioavailability in pea and kidney bean seed meals. *Anim Feed Sci Technol* 94:1-13.
- Anton AA, Fulcher RG, Arntfield SD. 2009. Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking. *Food Chem* 113:989-96.

Asp NG, Björck I. 1989. Nutritional properties of extruded foods. In: Mercier, C.; Lindo, P.; Harper, J.M. (Eds.), Extrusion cooking. St. Paul, USA: American Association of Cereal Chemists.

Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis. AOAC, Washington DC.

Coffman CW, Garcia VV. 1977. Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. J Food Technol 12:473-84.

De Pilli T, Jouppila K, Ikonen J, Kansikas J, Derossi A, Severini C. 2008. Study on formation of starch–lipid complexes during extrusion-cooking of almond flour. J Food Eng 87:495–504.

Deshpande SS, Sathe SK, Salunkhe DK, Comforth DP. 1982. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L). J Food Sci 47:1846-50.

Drago SR, Velasco-González OH, Torres RL, Gonzáles RJ, Valencia ME. 2007. Effect of the extrusion on functional properties and mineral dialyzability from *Phaseolus vulgaris* bean flour. Plant Foods Hum Nutr 62:43-8.

El-Hady EAA, Habiba RA. 2003. Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. LWT-Food Sci Technol 36:285-93.

Ellis R, Morris ER. 1986. Appropriate resin selection for rapid phytate analysis by ion-exchange chromatography. Cereal Chem 63:58-9.

ElMaki HB, Abdelrahman M, Idris WH, Hassan AB, Babiker EE, El Tinay AH. 2007. Content of antinutritional factors and HCl-extractability of minerals from white bean (*Phaseolus vulgaris*) varieties: Influence of soaking and/or cooking. Food Chem 100:362-8.

Fukuji TS, Ferreira DL, Soares AL, Prete CEC, Ida EI. 2008. Ácido fítico de híbridos de milho e alguns produtos industrializados. Acta Sci Agron 30:31-5.

- García-Esteba RM, Guerra-Hernández E, García-Villanova B. 1999. Phytic acid content in milled cereal products and breads. *Food Res Int*, 32:217-21.
- Genovese MI, Lajolo FM. 1998. Atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max*) consumidos no Brasil. *Cienc Tecnol Aliment* 18:309-12.
- Haddad J, Allaf K. 2007. A study of the impact of instantaneous controlled pressure drop on the trypsin inhibitors of soybean. *J Food Eng* 79:353-7.
- Hernández-Díaz JR, Quintero-Ramos A, Barnard J, Balandrán-Quintana RR. 2007. Functional properties of extrudates prepared with blends of wheat flour/pinto bean meal with added wheat bran. *Food Sci Technol Int* 13:301-8.
- Kakade ML, Rackis JL, McGhee JE, Puski G. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy bean products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem* 51:376-82.
- Latta M; Eskin M. 1980. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *J. Agric Food Chem* 28:1313-15.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J Biol Chem* 193:265-75.
- Mantín-Cabrejas MA, Jaime L, Karanja C, Downie AJ, Parker ML, Lopez-Andreu FJ, Maina G, Esteban RM, Smith AC, Waldron KW. 1999. Modifications to physicochemical and nutritional properties of hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) by extrusion cooking. *J Agric Food Chem* 47:1174-82.
- Marzo F, Alonso R, Urdaneta E, Arricibita FJ, Ibáñez F. 2002. Nutritional quality of extruded kidney bean (*Phaseolus vulgaris*, L. var. Pinto) and its effects on growth and skeletal muscle nitrogen fractions in rats. *J Anim Sci* 80:875-9.
- Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31:426-8.

- Moreira RA, Perrone JC. 1977. Purification and partial characterization of a lectin from *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol* 59:783-7.
- Njintang NY, Mbofung CMF, Waldron KW. 2001. *In vitro* protein digestibility and physicochemical properties of dry red bean (*Phaseolus vulgaris*) flour: Effect of processing and incorporation of soybean and cowpea flour. *J Agric Food Chem* 49:2465-71.
- Oatway L, Vasanthan T, Helm JH. 2001. Phytic acid. *Food Rev Int* 17:419-31.
- Obatolu VA, Cole AH. 2000. Functional property of complementary blends of soybean and cowpea with malted or unmalted maize. *Food Chem* 70:147-53.
- Okezie BO, Bello AB. 1988. Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. *J Food Sci* 53:450-4.
- Pelembe LAM, Erasmus C, Taylor JRN. 2002. Development of a protein-rich composite sorghum-cowpea instant porridge by extrusion cooking process. *LWT-Food Sci Technol* 35:120-7.
- Rehman Z, Shah WH. 2005. Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. *Food Chem* 91:327-31.
- Rocha-Guzmán NE, Gallegos Infante JA, González-Laredo RF, Castillo-Antonio PA, Delgado-Licon E, Ibarra-Pérez F. 2006. Functional properties of three common bean (*Phaseolus vulgaris*) varieties stored under accelerated conditions followed by extrusion. *LWT-Food Sci Technol* 39:6-10.
- Rocha-Guzmán NE, Gallegos-Infante JA, González-Laredo RF, Bello-Pérez A, Delgado-Licon E, Ochoa-Martínez A, Prado-Ortiz MJ. 2008. Physical properties of extruded products from three Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) varieties. *Plant Foods Hum Nutr* 63:99-104.

Ruiz-Ruiz J, Martinez-Ayala A, Drago S, González R, Batancur-Ancona D, Chel-Guerrero L. 2008. Extrusion of a hard-to-cook bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) and quality protein maize (*Zea mays* L.) flour blend. Food Sci Technol 41:1799-807.

Toledo TCF, Canniatti-Brazaca SG, Arthur V, Piedade SMS. 2007. Effects of gamma radiation on total phenolics, trypsin and tannin inhibitors in soybean grains. Radiat Phys Chem 76:1653-6.

Van Den Einde RM, Van Der Goot AJ, Boom RM. 2003. Understanding molecular weight reduction of starch during heating–shearing processes. J Food Sci 68:2396-404.

Yasumatsu K, Sawada K, Moritaka S, Misaki M, Toda J, Wada T, Ishii K. 1972. Whipping and emulsifying properties of soybean products. Agric Biol Chem 36:719-27.

Zabidi MA, Aziz NAA. 2009. *In vitro* starch hydrolysis and estimated glycaemic index of bread substituted with different percentage of chempedak (*Artocarpus integer*) seed flour. Food Chem 117:64-8.

Tables

Table 1. Proximate composition of unextruded and extruded hard-to-cook beans flour (% dry weight).

Component	BRS pontal		BRS grafite	
	Unextruded	Extruded	Unextruded	Extruded
Moisture	10.33 ± 0.06 ^a	10.54 ± 0.13 ^a	10.46 ± 0.07 ^a	10.01 ± 0.10 ^a
Ash	4.31 ± 0.02 ^b	4.36 ± 0.01 ^b	4.56 ± 0.05 ^a	4.51 ± 0.03 ^a
Protein	19.22 ± 0.14 ^a	19.33 ± 0.10 ^a	19.43 ± 0.44 ^a	19.81 ± 0.10 ^a
Lipids	0.98 ± 0.01 ^b	0.97 ± 0.03 ^b	1.06 ± 0.02 ^a	1.07 ± 0.01 ^a
Carbohydrates	75.49 ± 0.17 ^a	75.34 ± 0.14 ^a	74.95 ± 0.48 ^a	74.61 ± 0.10 ^a

All values are mean ± SD of three determinations. Data followed by the same superscript within of same line are not significantly different (P>0.05).

Table 2. Water solubility (g of water/ 100 g of dry weight), water absorption index (g of water/ g of dry weight), oil absorption capacity (g of oil/ g of dry weight), foaming capacity and emulsifying capacity from unextruded and extruded bean flours.

Determination	BRS pontal		BRS grafite	
	Unextruded flour	Extruded flour	Unextruded flour	Extruded flour
WS	28.08 ± 0.07 ^d	33.11 ± 0.34 ^b	30.35 ± 0.03 ^c	35.17 ± 0.38 ^a
WAI	3.80 ± 0.12 ^b	5.46 ± 0.14 ^a	2.57 ± 0.01 ^c	5.03 ± 0.15 ^a
OAC	1.99 ± 0.04 ^a	1.93 ± 0.21 ^a	1.88 ± 0.07 ^a	1.88 ± 0.02 ^a
FC (%)	35.55 ± 0.004 ^b	-	45.98 ± 0.75 ^a	-
EA (%)	55.03 ± 0.04 ^b	52.63 ± 0.001 ^c	68.42 ± 0.001 ^a	55.03 ± 0.04 ^b

Results are the mean of three determinations ± SD. Data followed by the same character in the same line are not significantly different (P>0.05).

Table 3. Trypsin (IU/mg of dry weight), and α -amylase (IU/100mg of dry weight) inhibitor content, phytic acid (mg/g of fry weight) and Haemagglutinating activity in raw and extruded bean flours.

Antinutritional	BRS pontal		BRS grafite	
	Unextruded	Extruded	Unextruded	Extruded
Trypsin inhibitor	4.64 \pm 0.03 ^a (91.9%)	1.36 \pm 0.12 ^b (26.9%)	4.61 \pm 0.21 ^a (91.3%)	1.41 \pm 0.06 ^b (27.9%)
α -Amylase inhibitors	18.16 \pm 2.98 ^a (14.9%)	-	16.08 \pm 1.06 ^a (13.2%)	-
Phytic acid	8.18 \pm 0.30 ^b	6.80 \pm 0.17 ^c	11.26 \pm 0.75 ^a	8.38 \pm 0.17 ^b
Haemagglutination	presence	absence	presence	absence

Results are the mean of three determinations \pm SD. Within lines, means with same superscript are not significantly different ($P > 0.05$). Figures in parentheses indicate the percentage decrease of the enzymatic activity.

Table 4. *In vitro* protein and starch digestibility (%) in unextruded and extruded bean flours.

Cultivar		Protein digestibility	Starch digestibility
BRS pontal	Unextruded	28.16 ± 0.82 ^c	60.53 ± 0.11 ^d
	Extruded	48.52 ± 0.16 ^b (72.3%)	73.28 ± 0.20 ^b (21.1%)
BRS grafite	Unextruded	28.62 ± 0.16 ^c	62.60 ± 0.71 ^c
	Extruded	52.80 ± 0.33 ^a (84.5%)	76.28 ± 0.20 ^a (21.9%)

Results are the mean of three determinations ± SD. Within columns, means with same superscript are not significantly different ($P > 0.05$). Figures in parentheses indicate the percentage increase over the values of the corresponding unextruded flour.

ANEXO C - Aceite do artigo intitulado “Changes in the biochemical and functional properties of the extruded hard-to-cook Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp)”

20-Jan-2010

Dear Ms. Batista:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Changes in the biochemical and functional properties of the extruded hard-to-cook Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp)" in its current form for publication in the International Journal of Food Science and Technology. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the International Journal of Food Science and Technology, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,

Prof. Chris Smith

Editor-in-Chief, International Journal of Food Science and Technology
chris.smith@chester.ac.uk

Referee(s)' Comments to Author:

Referee: 1

Comments to the Author

The manuscript has been improved, so my recommendation is that the manuscript should be accepted for publication

ANEXO D – Artigo submetido ao International Journal of Food Science and Technology

Changes in the biochemical and functional properties of the extruded hard-to-cook

Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp)

Changes in extruded hard-to-cook Cowpea

Karla A. Batista¹, Sandra H. Prudêncio², Kátia F. Fernandes^{3*}

¹ Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brazil.

² Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brazil

^{3*} Laboratório de Química de Proteínas, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brazil. C. Postal 131, CEP 74001-970, Phone: +55 (62) 3521-1492, Fax: +55 (62) 3521-1190. E-mail address: katia@icb.ufg.br

Abstract

Changes in the biochemical and functional properties of the hard-to-cook Cowpea bean after treatment by the extrusion process are reported. The extrusion was carried out at 150 °C, with a compression ratio screw of 3:1, a 5-mm die, and a screw speed of 150 rpm. The extrusion caused the complete inactivation of the α -amylase and lectin and it also reduced the trypsin inhibitor activity (38.2%) and phytic acid content (33.2%). The functional properties were also modified by the process, an increase of 2.5 times in the water absorption index (WAI) and 3.1% in the water solubility (WS) were observed. The digestibility of the hard-to-cook

flour of the Cowpea bean was improved after the extrusion, with a 55.9% increase in protein digestibility and a 5.9% increase in starch digestibility.

Keywords: Functional properties, extrusion, antinutrients, dry beans, lectins, enzyme inhibitors, phytates, digestion/digestibility.

1 Introduction

Considering the food energy and the nutrients, legumes are one of the most important sources of food in the world, especially in developing countries. Among the legumes, the beans are an important source of protein, starch, vitamins and minerals. The Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) presents similar nutritional profile to the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), which makes the Cowpea an excellent source of protein and complex carbohydrates. Besides these, cowpeas have a lower level of antinutritional factors (Onwuliri & Obu 2002). Moreover, the Cowpea culture is well adapted to regions where the sub-tropical and tropical climates prevail, such as in Africa and in Brazil. These regions are marked by the presence of low income population with several nutritional deficiencies, including Kwashiorkor (Abu & Minnaar 2008).

Despite its excellent nutritional profile, the Cowpea presents some disadvantages. It may deteriorate as a consequence of time and conditions of storage, particularly under high temperature and high humidity, characteristics that are prevalent in tropical countries. The main observed alterations were the deterioration of texture and an increase of the cooking time due to the hardening of the Cowpea, a characteristic known as Hard-To-Cook (HTC) phenomenon (Affrifah & Chinnan 2006). The HTC phenomenon inhibits cell separation during the cooking process, which affects the texture of the cooked seeds and limits the protein availability due to physical restriction to the access of digestive enzymes, lowering the nutritional contribution of the seeds (Alonso et al 2001).

Alternatives technologies that have been proposed to enable the use of the hard-to-cook beans alkaline include thermal treatment, dry and wet fractionating and extrusion. In recent years, the extrusion method has been widely used in cereal processing to produce food and food ingredients such as precooked flour, infant food, breakfast cereals, meat and cheese analogues, snacks and modified starches (Alonso et al 2001; Ruiz-Ruiz et al 2008). In the case of the Cowpea, the extrusion process presented advantages over other methodologies that conjugates short time of exposition to high temperature, pressure and mechanical strength in a single process. The main reported effects of the extrusion were a reduction in antinutritional factors activities such as trypsin and α -amylase inhibitors, lectins and phytates, concomitantly with the improvement in the digestibility of proteins and starch (Martín-Cabrejas et al 1999).

In this sense, the objectives of the present work were to compare the changes in chemical composition, functional properties, and activity of antinutritional factors as well as evaluate the alterations in the digestibility of starch and protein in Hard-to-Cook Cowpea flour before and after extrusion.

2 Materials and methods

2.1 Flour bean preparation and extrusion

The hard-to-cook Cowpea utilized for the extrusion process was provided by Russia farm, Iguatu, Ceará, Brazil. The grains were milled twice in a Tecnal mill-grinder, sifted in screen 0.42 mm and then extruded. The extrusion process was carried out in a Ceraltec International extruder (CT-L15), with compression ratio screw of 3:1, 5-mm die, and screw speed of 150 rpm. The temperature and moisture content were fixed at 150 °C and 25 g/100 g, respectively. The extrudates were cooled down at room temperature (25 °C) and then they were milled and sifted through screen of 0.42 mm, and stored in plastic containers at 4 °C until they were used.

2.2 Chemical composition

The approximate chemical composition of the flour was performed according to the methods of the Association of Official Analytical Chemists (2000). The total carbohydrates content were calculated by difference.

2.3 Functional properties

The water solubility (WS), water absorption index (WAI) and oil absorption capacity (OAC) were carried out following the methods described by Okezie and Bello (1988).

The foaming properties were determined according to Coffmann and Garcia (1977), with modifications. The suspension (1 g of flour in 50 mL of distilled water) of the bean flour was vigorously whipped for 5 min in a Heidolph-DiAx 900 homogenizer. Immediately afterward, the mixture was transferred to a 100 mL measuring cylinder. The volumes were recorded before and after the whipping process. The percentage ratio of the increased volume compared to the initial volume was calculated before whipping as index of foam capacity (FC).

Emulsifying capacity (EC) was determined according to Yasumatsu et al (1972), with modifications. 1 g of the sample was suspended in a mixture of 10 mL of distilled water and 10 mL of soy oil. The combination was mixed in a Heidolph-DiAx 900 homogenizer under maximum speed for 1 min. Equal volumes of the emulsion were transferred to two centrifuge tubes and then centrifuged at 3000 rpm for 5 min. The calculation was done by dividing the height of the emulsified layer by the total height. The result was expressed as a percentage of the total height.

The least gelation capacity (LGC) of cowpea flour was determined according to Coffmann and Garcia (1977). Sample suspensions of 5-20% (w/v) were prepared in 10 mL of

distilled water. The tubes containing the suspensions were heated for 30 min in a water bath (90°C) and then cooled in tap water for 15 min. Tubes were further cooled for 2 h at 4°C. The least gelation capacity was determined as the concentration at which the sample did not fall or slip when the tube was inverted.

2.4 *In vitro* Digestibility tests

In vitro protein digestibility was determined by a multienzymatic method described by Akesson and Stahmann (1964) with modifications of Mauron (1973). Samples of extruded and non extruded flour were first digested with pepsin (enzyme to substrate ratio 1:10) at 37 °C for 3 h. Then, the samples were neutralized with 0.2 M NaOH solution (pH 8.0) and, after addition of pancreatin (1:5) the digestion was carried for 4 h at 37 °C. The digestion was interrupted with trichloroacetic acid and after centrifugation at 5000 rpm for 10 min, the supernatant was assayed according to the method described by Lowry et al (1951) using tyrosine as standard. The extent of hydrolysis was calculated using 1% (w/v) casein solution as control, following the equation:

$$\% \text{ Digestibility} = \frac{\text{tyrosine concentration in hydrolyzed} - \text{tyrosine concentration in flour}}{\text{tyrosine concentration in hydrolyzed} - \text{tyrosine concentration in casein solution}} \times 100$$

In vitro starch hydrolysis was determined according to Zabidi and Aziz (2009) with modifications. 200 mg of sample was incubated with 1 mL of α -amylase from the *Aspergillus niger* in a water bath at 80-90 °C for 15 min with agitation. Then, 200 μ L of amyloglucosidase (Sigma-Aldrich) solution was added and incubated at 55 °C for 120 min under continuous agitation. The reducing sugars were determined as described by Miller (1959). Flour starch digestion was expressed as a percentage of the reducing sugar obtained after hydrolysis, using 1% (w/v) starch solution as control, following the equation:

$$\% \text{ Digestibility} = \frac{[\text{reducing sugar}] \text{ in hydrolyzed} - [\text{reducing sugar}] \text{ in flour}}{[\text{reducing sugar}] \text{ in hydrolyzed} - [\text{reducing sugar}] \text{ in starch solution}} \times 100$$

2.5 Antinutritional factors

2.5.1 Trypsin and α -amylase inhibitors

The trypsin inhibitory activity was determined according to Kunitz modified by Arnon (1970). Sample of cowpea extract (1% w/v) were incubated with 0.1 mL trypsin 0.5 mg mL^{-1} solution and 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer pH 7.6 at $37 \text{ }^\circ\text{C}$ for 10 min. After that 1 mL of a casein solution 1% (w/v) was added to the solution and the reaction mixture was incubated for 10 min. The reaction was interrupted by adding of 1.5 mL of TCA 10% (v/v) solution. Trypsin inhibitory unit (TIU) was defined as the difference between the units observed in the maximum activity and the activity of the samples containing the inhibitors.

The activity of α -Amylase inhibitor was determined according to Deshpande et al (1982), using starch as the substrate for the enzyme. One unit of α -amylase inhibitor was defined as the amount of inhibitor that inhibits one unit of α -amylase.

2.5.2 Haemagglutinating activity

Haemagglutination assays, using rabbit erythrocytes, were carried out following the method described by Moreira and Perrone (1977) with modifications. The extract cowpea flour (1% w/v) was diluted in 2-fold dilution series against a 0.15 mol L^{-1} NaCl solution. One millilitre of a 2% erythrocyte suspension was added to an equal volume of the sample and the mixture incubated at $37 \text{ }^\circ\text{C}$ for 30 min followed by 30 min at room temperature ($25 \text{ }^\circ\text{C}$). The tubes were centrifuged at 3000 rpm for 1 min and the last tube to show visible agglutination was considered the point of equivalence.

2.5.3 Phytic acid determination

The phytic acid content was determined by the method described by Latta and Eskin (1980) with modifications for resin DOWEX-AGX-4 according to Ellis and Morris (1986). A standard curve of phytic acid (Sigma, P8810) was done and the results were expressed as a percentage (g/100 g) of the sample.

2.5.4 Statistical analysis

All experiments were conducted in triplicate and mean values were reported. Statistica software (Statistica 6.0, Stat Soft Inc., Tulsa, OK, USA) was used to perform ANOVA followed by the Tukey test to determine the significant differences among the means. The level of significance used was 95%.

3 Results and discussion

3.1 Chemical composition

The chemical composition of the Cowpea flour before and after the extrusion is presented in Table 1. The extrusion process did not cause any significant change in the chemical composition except for the increase in the moisture content, probably as consequence of water addition before extrusion. Although the extrusion did not change protein content, the high temperature, pressure and mechanical force of the process are expected to change physical and chemical properties of the proteins (Alonso et al, 2000b). In this study, the temperature and screw speed used in the extrusion process were far below the levels reported to cause degradation or formation of complexes between lipids and amylose (De Pilli et al 2008). Indeed, the results showed that the contents remained unchanged.

3.2 Water solubility, water absorption index and oil absorption capacity

The water solubility (WS) is used mainly to measure the starch degradation because an increase in this index indicates an increase of the soluble molecules in the extruded flour, although solubility of other substances present in the flour may also increase (Hernández-Díaz et al 2007). There was a 3.1% increase in the WS of the extruded flour. The water absorption index (WAI) reflects changes in the molecules, such as those changes occurred during the process of protein denaturation which result in retention of water. The WAI found in the extruded flour was 2.5 times higher than in the raw flour. The results for the oil absorption capacity (OAC) were similar to both raw and extruded Cowpea flour. These results are similar to those of several authors (Alonso et al 2000a; Alonso et al 2001; Rocha-Guzmán et al 2008) who have studied other bean flours.

3.3 Least gelation capacity, foam properties and emulsifying capacity

The least gelation capacity is a measure of the minimum amount of flour required to form a gel in a given volume of water. As can be seen at Table 2, the raw flour was not able to form a gel and the extruded flour formed gel at a minimal concentration of 10% (w/v). The gelation phenomenon resulted from the formation of a three-dimensional network of modified carbohydrates, partially denatured protein molecules and lipids (Adebowale & Lawal 2003). Changes occurred during the extrusion process may have exposed reactive functional groups that interacted and resulted in gel formation. This change in the structure depends on the amount and types of proteins and non-protein components in the sample (Adebowale & Lawal 2003).

The foaming capacity (FC) present in the raw flour disappeared after extrusion (Table 2). The high temperature used in the extrusion process probably affected the molecular and physicochemical characteristics of the components responsible for the foam formation. The

effect of the temperature in the reduction of the foaming capacity has been reported by other varieties of beans (Obatolu & Cole 2000; Njintang et al 2001).

It is known that the emulsifying properties of flours are influenced by the quality and quantity of soluble proteins (Njintang et al 2001; Siddiq et al 2010). The protein denaturation caused by the extrusion process may have resulted in the aggregation and alteration of the physical properties of the proteins in such a manner that they affected the emulsifying capacity. This can explain the 7.8% reduction in the extruded emulsifying activity (Table 2).

3.4 Trypsin, α -amylase inhibitors and haemagglutinating activity

Despite the high thermal stability of the trypsin inhibitors, the combination of heat and humidity in the extrusion process considerably reduced the inhibitory activity of these inhibitors (Table 3). These results are similar to those found by Martín-Cabrejas et al (1999) and Anton et al (2008). Although trypsin inhibitor remains active after extrusion, the values were lower than those found by Genovese and Lajolo (1998) in commercial soybean products for human consumption. Therefore, the extruded flour of cowpea obtained in this work could be used in foodstuffs formulation, considering its trypsin inhibitor content.

The extrusion process was very effective at destroying the α -amylase inhibitors and lectin (haemagglutination) activity (Table 3). These results demonstrated that these antinutritional factors were more sensitive to the heat than the trypsin inhibitors. Similar results were reported by Martín-Cabrejas et al (1999) and Alonso et al (2000a) for peas and other beans.

3.5 Phytic Acid

The extrusion process caused a significant reduction ($p < 0.05$) of phytic acid content in the extruded flour (Table 3). A similar result was found by Alonso et al (2000a) for kidney

bean. The partial reduction of phytic acid content has been explicated by El-Hady and Habiba (2003) who reported that because these compounds are quite stable during thermal treatments, they are only partially hydrolyzed. Although several authors indicate phytic acid as an anti-nutritional factor, recent studies pointed out that this compound is an important additive with antioxidant properties that can be used in the manufacture of bread, pasta, meat, fish paste, fruits and fresh vegetables (Oatway et al 2001). In addition, the amount of phytic acid remaining in the extruded Cowpea flour was 5% lower than that found in corn and other cereals (García-Esteva et al 1999; Fukuji et al 2008).

3.6 *In vitro* Digestibility tests

The protein digestibility value of the extruded Cowpea flour increased by 55.9% than the raw flour (Table 3). This increase may be due to the protein denaturation which increases the exposure of the sites that are susceptible to the enzymatic hydrolysis (Ruiz-Ruiz et al 2008). Additionally, the partial inactivation of trypsin inhibitors in the extruded flour naturally improved the protein digestibility (Ruiz-Ruiz et al, 2008). This result is higher than the 21.9% increase obtained by Alonso et al (2000a) and the 8.2% increase obtained by El-Hady and Habiba (2004) using extruded flour *Phaseolus vulgaris* (kidney bean).

Starch digestibility is based on the amount of starch susceptible to the α -amylase and amyloglucosidase action and depends on the structural characteristics of the starch grain. The crystalline structure of the starch in the cowpea bean protects the glucosidic bonds by physically limiting the action of the hydrolytic enzymes (Ruiz-Ruiz et al 2008). In this case, the extrusion process probably resulted in very slight modification of the crystalline structure of the starch, and consequently the digestibility remained unchanged (Table 3).

4 Conclusion

The results obtained in this work showed that the extrusion process affected the moisture, functional properties, digestibility of starch and protein, and the activity of antinutritional factors of the hard-to-cook flour of the Cowpea. The extruded flour had improved solubility and water absorption and was able to form a gel. These changes indicate this flour has the potential for application in the preparation of breads, powder for soup and cream. The destruction of the activity of trypsin and α -amylase inhibitors, lectins, and phytates in addition to the increase in the digestibility of protein contributed to improving the nutritional quality of the Cowpea flour after the extrusion process. All these changes indicate that extrusion represents a variable alternative for increasing the use of hard-to-cook cowpea.

5 References

- Abu, J. O., Minnaar, A. (2008). Gamma irradiation of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) seeds: effect on colour, cooking quality and pasting characteristics. *International Journal of Food Science and Technology*, 1-7.
- Adebowale, K. O., Lawal, O. S. (2003). Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrates. *Food Chemistry*, **83**, 237-246.
- Affrifah, N. S., Chinnan, M. S. (2006). The effect of drying conditions on the development of the hard-to-cook defect in steam-treated cowpeas. *International Journal of Food Science and Technology*, **41**, 867-877.
- Akeson, W. R., Stahmann, M. A. (1964). A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *Journal of Nutrition*, **83**, 257-261.
- Alonso, R., Aguirre, A., Marzo, F. (2000a). Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chemistry*, **68**, 159-165.

- Alonso, R., Orué, E., Zabalza, M. J., Grant, G., Marzo, F. (2000b). Effect of extrusion cooking on structure and functional properties of pea and kidney bean proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, 397-403.
- Alonso, R., Rubio, L. A., Muzquiz, M., Marzo, F (2001). The effect of extrusion cooking on mineral bioavailability in pea and kidney bean seed meals. *Animal Feed Science and Technology*, **94**, 1-13.
- Anton, A. A., Ross, K. A., Lukow, O. M., Fulcher, R.G., Arntfield, S.D. (2008). Influence of added bean flour (*Phaseolus vulgaris* L.) on some physical and nutritional properties of wheat flour tortillas. *Food Chemistry*, **109**, 33-41.
- Arnon, R. (1970). Papain. *Methods in Enzymology*, **19**, 226-244.
- Association of Official Analytical Chemists (2000). Official Methods of Analysis. AOAC, Washington DC.
- Coffmann, C. W., Garcia, V. V. (1977). Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. *Journal of Food Technology*, **12**, 473-484.
- De Pilli, T., Jouppila, K., Ikonen, J., Kansikas, J., Derossi, A., Severini, C. (2008) Study on formation of starch–lipid complexes during extrusion-cooking of almond flour. *Journal of Food Engineering*, **87**, 495–504.
- Deshpande, S. S., Sathe, S. K., Salunkhe, D. K., Comforth, D. P. (1982). Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of Food Science*, **47**, 1846-1850.
- El-Hady, E. A. A., Habiba, R. A. (2003). Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *LWT - Food Science and Technology*, **36**, 285-293.
- Ellis, R., Morris, E. R. (1986). Appropriate resin selection for rapid phytate analysis by ion-exchange chromatography. *Cereal Chemistry*, **63**, 58-59.

- Fukuji, T. S., Ferreira, D. L., Soares, A. L., Prete, C. E. C., Ida, E. I. (2008). Ácido fítico de híbridos de milho e alguns produtos industrializados. *Acta Scientiarum Agronomy*, **30**, 31-35.
- García-Esteba, R. M., Guerra-Hernández, E., García-Villanova, B. (1999). Phytic acid content in milled cereal products and breads. *Food Research International*, **32**, 217-221.
- Genovese, M. I., LAJOLO, F. M. (1998). Atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max*) consumidos no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **18**, 309-312.
- Hernández-Díaz, J. R., Quintero-Ramos, A., Barnard, J., Balandrán-Quintana, R. R. (2007). Functional Properties of Extrudates Prepared with Blends of Wheat Flour/Pinto Bean Meal with Added Wheat Bran. *Food Science and Technology International*, **13**, 301-308.
- Latta, M.; Eskin, M. (1980). A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **28**, 1313-1315.
- Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *Journal of Biological Chemistry*, **193**, 265-275.
- Martín-Cabrejas, M. A., Jaime, L., Karanja, C., Downie, A. J., Parker, M. L., Lopez-Andreu, F. J., Maina, G., Esteban, R. M., Smith, A. C., Waldron, K. W. (1999) Modifications to Physicochemical and Nutritional Properties of Hard-To-Cook Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by Extrusion Cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 1174-1182.
- Mauron, J. (1973). The analysis of food proteins: amino acid composition and nutritive value. In: Porter JWG, Rolls BA, editors. Proteins in human nutrition. London: Academic Press, p.139-154.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, **31**, 426-428.
- Moreira, R. A., Perrone, J. C. (1977). Purification and partial characterization of a lectin from *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology*, **59**, 783-787.

- Njintang N. Y., Mbofung, C. M. F., Waldron, K. W. (2001). In Vitro Protein Digestibility and Physicochemical Properties of Dry Red Bean (*Phaseolus vulgaris*) Flour: Effect of Processing and Incorporation of Soybean and Cowpea Flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 2465-2471.
- Oatway, L., Vasanthan, T., Helm, J. H. (2001). Phytic acid. *Food Reviews International*, **17**, 419-431.
- Obatolu, V. A., Cole, A. H. (2000). Functional property of complementary blends of soybean and cowpea with malted or unmalted maize. *Food Chemistry*, **70**, 147-153.
- Okezie, B. O., Bello, A. B. (1988). Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. *Journal of Food Science*, **53**, 450-454.
- Onwuliri, A. V., Obu, A. J. (2002). Lipids and other constituents of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* grown in northern Nigeria. *Food Chemistry*, **78**, 1-7.
- Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Bello-Pérez, A., Delgado-Licon, E., Ochoa-Martínez, A., Prado-Ortiz, M. J. (2008). Physical properties of extruded products from three Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Plant Foods for Human Nutrition*, **63**, 99-104.
- Ruiz-Ruiz, J., Martínez-Ayala, A., Drago, S., González, R., Batancur-Ancona, D., Chel-Guerrero, L. (2008). Extrusion of a hard-to-cook bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and quality protein maize (*Zea mays* L.) flour blend. *Food Science and Technology*, **41**, 1799-1807.
- Siddiq, M., Ravi, R., Harte, J. B., Dolan, K. D. (2010). Physical and functional characteristics of selected dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *LWT – Food Science and Technology*, **43**, 232-237.
- Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Toda, J., Wada, T., Ishii, K. (1972). Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agricultural and Biological Chemistry*, **36**, 719-727.

Zabidi, M. A., Aziz, N. A. A. (2009). In vitro starch hydrolysis and estimated glycaemic index of bread substituted with different percentage of chempedak (*Artocarpus integer*) seed flour. *Food Chemistry*, **117**, 64-68.

Table 1. Chemical composition (g 100 g⁻¹) of the Cowpea flour.

Nutrient	Raw	Extruded
Moisture	11.11 ^b ± 0.06	12.18 ^a ± 0.15
Ash	3.46 ^a ± 0.23	3.38 ^a ± 0.01
Protein	20.86 ^a ± 0.08	20.97 ^a ± 0.23
Lipids	0.90 ^a ± 0.002	0.91 ^a ± 0.013
Carbohydrates	63.67 ^a ± 0.48	62.56 ^a ± 0.57

Results are the means of three determinations ± SD. Data followed by the same character in the same line are not significantly different (P>0.05).

Table 2. Functional properties from raw and extruded Cowpea flour.

Determination	Raw flour	Extruded flour
WS (g 100g ⁻¹)	33.88 ^b ± 0.046	34.93 ^a ± 0.0001
WAI (g g ⁻¹)	2.16 ^b ± 0.01	5.39 ^a ± 0.26
OAC (g g ⁻¹)	1.93 ^a ± 0.01	2.11 ^a ± 0.01
Gelation	-	10.0%
FC (%)	51.16 ± 0.01	-
EC (%)	54.21 ^a ± 1.37	50.00 ^b ± 0.0001

Results are the means of three determinations ± SD. Data followed by the same character in the same line are not significantly different (P>0.01).

Table 3. Antinutritional factors content and digestibility of raw and extruded Cowpea flour.

Determination	Raw flour	Extruded flour
Trypsin inhibitors (IU mg ⁻¹)	2.97 ^a ± 0.04	1.28 ^b ± 0.16
α-Amylase inhibitors (IU 100 mg ⁻¹)	20.39 ± 4.62	-
Haemagglutination activity	Presence	Absence
Phytic acid (mg g ⁻¹)	11.66 ^a ± 0.75	7.79 ^b ± 0.45
Protein digestibility (%)	28.39 ^b ± 2.13	44.24 ^a ± 0.33
Starch digestibility (%)	72.07 ^a ± 1.71	76.56 ^a ± 0.50

Results are the means of three determinations ± SD. Whiting lines, means with same superscript are not significantly different (p>0.05).