

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

FRANCIELE PALUDO

**CONSTRUÇÃO DE MODELO PARA PREDIÇÃO PROTEICA DO
TEGUMENTO DE FEIJÃO CARIOCA POR MEIO DO *NEAR*
*INFRARED SPECTROSCOPY (NIRS)***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2018

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

FRANCIELE PALUDO

**CONSTRUÇÃO DE MODELO PARA PREDIÇÃO
PROTEICA DO TEGUMENTO DE FEIJÃO
CARIOCA POR MEIO DO *NEAR INFRARED
SPECTROSCOPY (NIRS)***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**PATO BRANCO
2018**

FRANCIELE PALUDO

**CONSTRUÇÃO DE MODELO PARA PREDIÇÃO
PROTEICA DO TEGUMENTO DE FEIJÃO
CARIOCA POR MEIO DO *NEAR INFRARED
SPECTROSCOPY (NIRS)***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Taciane Finatto

Coorientadora: Dr^a. Tatiane Timm Storch

Coorientadora: Dr^a. Cíntia Boeira Batista
Lafay

PATO BRANCO

2018

Paludo, Franciele

Construção de modelo para predição proteica do tegumento de feijão carioca por meio do *Near Infrared Spectroscopy* (NIRS)/ Franciele Paludo.

Pato Branco. UTFPR, 2018

51 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Prof^a. Dr^a. Taciane Finatto

Coorientadora: Dr^a. Tatiane Timm Storch

Coorientadora: Dr^a. Cíntia Boeira Batista Lafay

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de Agronomia. Pato Branco, 2018.

Bibliografia: f. 42 - 49

1. Agronomia. 2. Envelhecimento acelerado. I. Finatto, Taciane, orient. II. Storch, Tatiane Timm coorient. III. Lafay, Cíntia Boeira Batista coorient. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de Agronomia. IV. Título.

CDD: 630



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Departamento Acadêmico de Ciências Agrárias
Curso de Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC

CONSTRUÇÃO DE MODELO PARA PREDIÇÃO PROTEICA DO TEGUMENTO DE FEIJÃO CARIOCA POR MEIO DO *NEAR INFRARED* *SPECTROSCOPY (NIRS)*

por

FRANCIELE PALUDO

Monografia apresentada às 10 horas 00 min. do dia 05 de março de 2018 como requisito parcial para obtenção do título de ENGENHEIRO AGRÔNOMO, Curso de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo-assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Marisa de Cacia Oliveira
UTFPR

Prof^a. Dr^a. Cíntia Boeira Batista Lafay
UTFPR

Prof^a. Dr^a. Taciane Finatto
UTFPR
Orientador

Prof. Dr. Jorge Jamhour
Coordenador do TCC

A "Ata de Defesa" e o decorrente "Termo de Aprovação" encontram-se assinados e devidamente depositados na Coordenação do Curso de Agronomia da UTFPR Câmpus Pato Branco-PR, conforme Norma aprovada pelo Colegiado de Curso.

Dedico este trabalho aos meus pais Lucimara Rossatto Paludo, Gilisberto Luiz Paludo e a minha vó Catarina Rossatto (*in memoriam*), por possibilitarem e apoiarem na realização desse sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, suporte em todos os momentos e por permitir mais essa conquista.

Aos meus pais Lucimara Rossatto Paludo, Gilisberto Luiz Paludo e minha vó Catarina Rossatto (*in memorian*) pelo amor incondicional, pelo exemplo de vida e força, além de me ensinarem a acreditar no valor do conhecimento.

À minha orientadora Dr^a. Taciane Finatto, pela orientação, conhecimentos transmitidos, apoio, paciência, exemplo profissional e pela amizade construída, foi um grande privilégio tê-la como orientadora.

Ao grupo de trabalho do escurecimento do feijão carioca, pela disponibilidade em ajudar na realização do trabalho, amizade e companheirismo.

À banca examinadora Dr^a. Marisa de Cacia Oliveira e a Dr^a. Cíntia Boeira Batista Lafay pelas valiosas sugestões, conhecimentos transmitidos e amizade construída.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná e a Central de Análise que possibilitaram as análises.

Aos professores Dr. Edimir Andrade e Dr^a. Marina Daltoe por disponibilizarem o laboratório e os equipamentos.

Ao senhor Otávio Semler pela grande ajuda nos experimentos a campo, disponibilidade e pela amizade construída.

Ao grupo do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia vegetal pela amizade, momentos de descontração e prazerosa convivência.

As Equipe Lindamara Basso e Equipe Unilus do Projeto Rondon, Operação Serra do Cachimbo e a Aeronáutica Brasileira que possibilitaram a realização da operação, só tenho a agradecer pela conquista desse sonho.

Aos meus primos e tias que sempre me acolheram, apoiaram e acompanharam a minha caminhada.

Aos amigos que sempre estavam presentes, pelas risadas, conforto em momento difíceis e palavras de encorajamento. Em especial a Marina Souto Ferreira, Thiago Duarte e Eliane Carneiro Bueno dos Santos que se tornam minha família.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para minha formação pessoal, social e acadêmica e para a conclusão de mais uma etapa na minha vida.

Muito obrigada!

“É tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado,
para sempre, à margem de nós mesmos.”

Fernando Pessoa

RESUMO

PALUDO, Franciele. Construção de modelo para predição proteica do tegumento de feijão carioca por meio do *Near Infrared Spectroscopy* (NIRS). 51 f. TCC (Curso de Agronomia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2018.

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) tem grande importância nutricional, cultural e na segurança alimentar, sendo um alimento brasileiro tradicional. O consumidor prefere grãos de feijão carioca com tegumento de fundo claro, rejeitando quando o grão apresenta fundo escuro. Após a colheita, o escurecimento do tegumento ocorre devido a ação de enzimas como as polifenoloxidasas e peroxidases. Uma metodologia clássica para a quantificação total de proteínas é o Bradford, que consiste na ligação da proteína com o corante, sendo um procedimento rápido, estável e destrutivo. O Near Infrared Spectroscopy (NIRS), é uma metodologia rápida, sem a utilização de produtos químicos e não destrutivo. O objetivo geral do trabalho foi a construção de um modelo de predição proteica para o feijão carioca utilizando duas granulometrias distintas: farelo e farinha, utilizando o NIRS. Para obtenção dos grãos, foi implantado o experimento a campo no município de Pato Branco – PR, na área experimental da UTFPR Pato Branco, utilizando 10 genótipos de feijão carioca, sendo: BRS MG Madrepérola; Pérola; TAA Dama; IAC Milênio; ANFC 9; IPR Tangará; BRS Requinte; IPR Curió; BRS Imperador; BRS Estilo. Na maturidade fisiológica, os grãos foram acondicionados em bandejas plásticas transparentes, armazenados em ambiente controlado com temperatura de 40 ± 5 °C e umidade de 75% por até quatro meses, sendo coletados nos dias 0, 15, 30, 60, 90 e 120. O NIRS exige valores de referência para desenvolver um modelo de calibração, neste caso, foi utilizado a metodologia de Bradford (1976) que quantificar proteínas totais, a análise estatística foi análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey de 95% de significância. A preparação das amostras para o NIRS constituiu da trituração do grão inteiro em farinha e farelo. No espectrômetro, as amostras foram acomodadas em uma cubeta de quartzo giratória na quantidade de 20 g. Para as amostras foram utilizados dois métodos de predição o Cross Validation e o Test Set para comparação dos dois modelos e avaliação da melhor predição dos teores de proteína. Quando observados, separadamente, os resultados da análise de Bradford, a análise de variância indicou interação significativa para tempo de armazenamento x cultivar. Aos 60 e 90 dias de armazenamento, ocorreu maior variabilidade entre as cultivares, sendo assim, os tempos que melhor expressaram o potencial de escurecimento do tegumento avaliado pelo teor proteico. As cultivares IAC Milênio e ANFC 9 não diferiram estatisticamente em nenhum tempo de armazenamento, com isso os teores proteicos do tegumento se mantiveram, mostrando serem cultivares estáveis. Os limites utilizados para gerar modelos de PLS foram: primeiro quartil à $16,78 \text{ mg g}^{-1}$ e terceiro quartil com $17,63 \text{ mg g}^{-1}$. A granulometria da farinha de feijão foi mais eficiente para a construção de algoritmos de predição, por gerar espectros possivelmente mais homogêneos. Dentre o grupo da farinha o modelo de predição que apresentou melhores índices foi o Test Set. O modelo não está finalizado devido à limitação intrínseca na variabilidade proteica nas cultivares estudadas.

Palavras-chave: Escurecimento do tegumento. Enzimas oxi-redutases. Bradford.

ABSTRACT

PALUDO, Franciele. Construction of a model for protein prediction in carioca bean tegument by Near Infrared Spectroscopy (NIRS). 51 f. TCC (Agronomy Course) - Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2018.

Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) has a great nutritional, cultural and food safety importance, being a traditional Brazilian food. Consumers prefer the carioca beans grains with light background tegument, and reject the grains when presenting a dark background. After the harvest, tegument darkening occurs due to the enzymes action, such as polyphenoloxidases and peroxidases. A classical method for total proteins quantification is Bradford, which consists of the protein-dye binding, representing a fast, stable and destructive procedure. Near Infrared Spectroscopy (NIRS) is a rapid, non-chemical and non-destructive methodology. The study general objective was the construction of a protein prediction model for carioca beans with two distinct granulometries: bran and flour, using NIRS. To obtain the grains, the field experiment was carried out in Pato Branco - PR municipality, in UTFPR experimental area, using 10 carioca beans genotypes: BRS MG Madrepérola; Perola; TAA Dama; IAC Milênio; ANFC 9; IPR Tangará; BRS Requite; IPR Curió; BRS Imperador; BRS Estilo. At physiological maturity stage, grains were stored in transparent plastic trays, in a controlled chamber under 40 ± 5 °C temperature and 75% humidity for until four months, being harvested at 0, 15, 30, 60, 90 and 120 days. NIRS requires reference values to develop the calibration model. In this case, Bradford (1976) methodology was used to quantify the total proteins. Statistical tests consisted in analysis of variance followed by Tukey test at 95% significance. NIRS sample preparation implicated in whole grain crushing until to obtain the flour and bran. In the spectrometer, 20 g of samples were accommodated in a rotating quartz cuvette. Two methods of prediction were used: Cross Validation and Test Set. The methods were compared and it was evaluated the best protein contents prediction. Observing separately the Bradford results, analysis of variance indicated significant interaction between time of storage x cultivar. At 60 and 90 days of storage, the highest variability occurred among the cultivars. These times were the ones wich better expressed the potential for tegument darkening, evaluated by the protein content. The cultivars IAC Milênio and ANFC 9 did not differ statistically in any time of storage, the tegument protein content remained constant and the cultivars were considered stable. The limits used to generate PLS models were: first quartile at 16.78 mg g⁻¹ and third quartile at 17.63 mg g⁻¹. The flour bean granulometry was the most efficient for construction of the prediction algorithms, since possibly generated more homogeneous spectra. Among the flour group, the prediction model that presented the best indexes was Test Set. The model is not finished due to intrinsic limitation in the protein variability of the studied cultivars.

Keywords: Darkening of the tegument. Oxy-reductase enzymes. Bradford.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Representação gráfica do conjunto total de dados da análise de Bradford utilizada para desenvolver modelos de *Cross Validation* e *Test Set*. (a) Boxplot e (b) Histograma (Paludo, 2018)..... 36
- Figura 2 – Representação gráfica após a remoção dos *outliers* do conjunto de dados selecionada para desenvolver modelos de *Cross Validation* e *Test Set*. (a) Boxplot e (b) Histograma (Paludo, 2018)..... 37
- Figura 3 – Espectros individuais do conjunto de dados da farinha e farelo de dez genótipos de feijão carioca com suas triplicatas (Paludo, 2018)..... 37

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Representação dos tratamentos químicos utilizados no experimento a campo, para análise dos grãos na pós-colheita. Fonte: (Paludo, 2018).....30
- Tabela 2 – Regiões espectrais utilizadas pelo NIRS (*Near Infrared Spectroscopy*) para construir modelos de predição para a farinha e farelo de grãos de feijão carioca (Paludo, 2018). .32
- Tabela 3 – Resumo da análise da variância para a concentração de proteínas pelo método de Bradford de dez cultivares de feijão carioca armazenados em condição controlada durante quatro meses (Paludo, 2018).....33
- Tabela 4 – Medidas dos valores proteicos em mg g⁻¹ das dez cultivares de feijão carioca armazenados em ambiente controlado por quatro meses para expressão máxima do escurecimento do tegumento (Paludo, 2018).....34
- Tabela 5 – Parâmetros estatísticos que representam a qualidade preditiva do modelo desenvolvido com as metodologias *Cross Validation* e *Test Set* com as granulometrias de farelo e farinha de dez genótipos de feijão carioca e suas triplicatas (Paludo, 2018).....38

LISTA DE SIGLAS, ACRÔNIMOS E ABREVIATURAS

| | |
|--------------------|----------------------------------------------------------------|
| "W | Oeste |
| 'S | Sul |
| cfa | <i>Chartered Financial Analyst</i> |
| CONAB | Companhia Nacional de Abastecimento |
| FAO | <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> |
| g | Grama |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| Kcal | Quilo calorias |
| kDa | Quilo Dalton |
| Kg | Quilograma |
| m | Metros |
| M | Molar |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| mg | Miligrama |
| mm | Milímetro |
| nm | Nanômetro |
| MRL | Regressão Linear Múltipla |
| NIRS | <i>Near Infrared Spectroscopy</i> |
| POD | Peroxidase |
| PPO | Polifenoloxidase |
| RPM | Rotação por minuto |
| µl | Microlitro |
| PLS | Mínimos quadrados parciais |
| RMSEE | Erro quadrático médio da estimativa |
| SEE | Soma dos quadrados dos erros |
| Res | Somatória quadrática do residual |
| RMSECV | Erro quadrático médio da validação cruzada |
| RMSEP | Erro quadrático médio da previsão |
| RPD | Desvio residual de predição |
| SD | Desvio padrão |
| SEP | Erro padrão de predição |
| Bias | Valor médio do desvio |
| PRESS | Soma de tempo residual preditiva dos quadrados |
| R | Rank |
| MLR | Regressão linear múltipla |
| Nº | Número |
| <i>P. vulgaris</i> | <i>Phaseolus vulgaris</i> |
| R ² | Coefficiente de determinação |
| Mb | Megabases |
| cm | Centímetro |
| ha | Hectare |
| UTFPR | Universidade Tecnológica Federal do Paraná |
| S | Sanilac |
| T | Tendergren |
| PR | Paraná |

| | |
|-----|------------------------------------------|
| MPA | <i>Multi Purpose Analyzer</i> |
| P< | Probabilidade de significância menor que |
| GL | Graus de Liberdade |
| SQ | Soma de Quadrados |
| QM | Quadrado Médio |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|----|---------------------------------------------|
| % | Porcentagem |
| ® | Símbolo que representa uma marca registrada |
| ± | Mais ou menos |
| °C | Graus Celsius |
| = | Igualdade |
| → | Vetor |
| ∑ | Somatório |
| √ | Raiz |
| - | Subtração |
| + | Adição |
| . | Multiplicação |
| < | Menor que |

SUMÁRIO

| | |
|----------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 16 |
| 2 OBJETIVOS..... | 18 |
| 2.1 GERAL..... | 18 |
| 2.2 ESPECÍFICOS..... | 18 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 19 |
| 3.1 O FEIJÃO..... | 19 |
| 3.1.1 Caracterização..... | 19 |
| 3.1.2 Importância socioeconômica..... | 20 |
| 3.1.3 Composição Proteica..... | 21 |
| 3.1.4 Escurecimento do tegumento do feijão carioca..... | 22 |
| 3.1.5 Técnicas para quantificação e análise de proteínas..... | 24 |
| 3.1.6 Quimiometria..... | 26 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS..... | 30 |
| 4.1 Análise de referência..... | 31 |
| 4.2 Análise de predição..... | 31 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 33 |
| 6 CONCLUSÕES..... | 40 |
| 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 41 |
| REFERÊNCIAS..... | 42 |

1 INTRODUÇÃO

O feijão comum, tanto do grupo carioca ou preto, é uma excelente alternativa para a produção pelos agricultores familiares, sendo uma fonte de renda e contribuindo para a subsistência da família, bem como para grandes agricultores que utilizam tecnologias mais avançadas conseguindo, assim, aumento da produção (BARBOSA; GONZAGA, 2012). Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO, 2014), o Brasil é o terceiro maior produtor de feijão do mundo, ficando atrás apenas da Myanmar e Índia. Comparando a produção de feijão por regiões do mundo a Ásia produz 44%, depois vem as Américas com 29,9% e a África com 23,3%.

O feijão é um alimento tradicional na mesa dos brasileiros, tendo grande importância na segurança alimentar, nutricional e cultural (BARBOSA; GONZAGA, 2012). O consumo *per capita* nacional de feijão comum é, em média, de 15 kg por habitante ao ano, ocorreu redução do consumo devido as mudanças no hábito alimentar da população, com maior demanda por produtos industrializados (MEIRA; SOUZA, 2015).

Uma das limitações do feijão carioca é o escurecimento do tegumento durante o armazenamento, o que leva à rejeição pelos consumidores, os quais associam o tegumento de fundo escuro com um grão mais velho, duro e menos saboroso. Por outro lado, feijões com tegumento de fundo claro são associados a um grão mais novo, macio e saboroso. Durante o período de armazenamento, são ativados alguns processos metabólicos que ocasionam o escurecimento do tegumento (BASSINELLO et al., 2003).

As variações no teor de proteína bruta, em grãos de feijão, encontradas na literatura situam-se na faixa de 16% a 36,28% (BARAMPAMA; SIMARD, 1993; BORDIN et al., 2003; BURATTO et al., 2009; MESQUITA et al., 2007; PINHEIRO et al., 2010). O teor de proteína no grão de feijão varia de acordo com a cultivar e o ambiente em que é cultivado, sendo resultado da interação entre genótipo e ambiente (BURATTO et al., 2009).

As causas exatas do por que ocorre o escurecimento ainda não são totalmente claras, conforme Araújo, Ramalho e Abreu (2012) sugerem a ocorrência de uma combinação de genótipo, ambiente e alterações químicas. Conforme Hikeezi et al., (2013) as principais oxido-redutases responsáveis pelo processo de

escurecimento, em vegetais são as polifenoloxidasas – PPO (EC. 1.14.18.1) e peroxidases – POD (EC. 1.11.1.7).

O método de quantificação de proteínas totais por Bradford consiste na ligação da proteína com o corante *Coomassie Brilliant Blue G-250*. É um procedimento rápido e estável com pouca ou nenhuma interferência de cátions. Uma cor azulada é desenvolvida com a ligação proteína-corante, sendo que quanto maior a concentração de proteína na amostra, mais intensa é a cor (BRADFORD, 1976).

O *Near infrared Spectroscopy* (NIRS) ou seja, infravermelho próximo é uma metodologia rápida, sem a utilização de produtos químicos, fácil de utilizar o equipamento e não destrutiva. O método é considerado secundário, pois, exige valores de referência para desenvolver um modelo de calibração para a molécula estudada. A precisão dos resultados do NIRS depende, em grande medida da precisão das análises de bancada, mas é uma metodologia considerada reprodutível (MANLEY, 2014).

Percebendo a importância econômica da cultura do feijão carioca, bem como os efeitos benéficos nutricionais dos grãos e a sua sensibilidade ao escurecimento do tegumento, o estudo das proteínas ativadoras do escurecimento no tegumento do feijão carioca e o desenvolvimento de uma curva de predição proteica no NIRS é de grande importância a fim de alcançar uma melhor apreciação por parte do consumidor, o que trará ganhos econômicos devido ao maior consumo além, dos benefícios para a indústria, pois, com a curva do NIRS desenvolvida é possível avaliar um único grão sem destruí-lo de forma rápida, precisa e sem custos adicionais.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Construir um modelo de predição proteica para o tegumento de feijão carioca, com duas granulometrias distintas: farelo e farinha, utilizando o *Near Infrared Spectroscopy*.

2.2 ESPECÍFICOS

- Produzir grãos de feijão carioca de diferentes cultivares.
- Submeter os grãos ao armazenamento controlado em condições não adequadas para o grão.
- Coletar os grãos em diferentes tempos de armazenamento controlado.
- Analisar a concentração de proteínas solúveis totais no tegumento pelo método de Bradford, obtendo assim, valores de referência para a construção do modelo utilizando o NIRS.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O FEIJÃO

3.1.1 Caracterização

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) pertence à Classe Equisetopsida, Subclasse Magnoliidae, Super ordem Rosanae, Ordem Fabales, Família Fabaceae e gênero *Phaseolus* (TROPICOS, 2017). *P. vulgaris* é uma espécie diploide que apresenta seu número básico 22 cromossomos ($n=x=11$). Seu genoma totaliza 521.1 Mb e 27.197 locos contendo 31.638 transcritos codificadores de proteínas (SCHMUTZ et al., 2014). É uma planta cuja forma de vida é subarborescente, contém estípulas lanceoladas a ovais, pecíolo com comprimento entre 2,5 a 18 cm, folíolos basais inteiros, assimétricos, ovais, ápices acuminado, base obtusa, folíolos terminais, inteiros, simétricos, oval a amplo oval, ápice acuminado, base obtusa, com folhas trifoliadas. Inflorescência bractéolas, ovais, os números de nós e entre nós pode variar conforme o hábito de crescimento da planta conforme descrição Snak, Miotto e Goldenberg (2011).

O hábito de crescimento é uma característica importante agronomicamente, pois determina o manejo da cultura, desta forma, é possível encontrar o hábito de crescimento indeterminado e determinado. A forma indeterminada é caracterizada por possuir caule principal com um crescimento contínuo, as inflorescências são axilares e a floração tem início da base para o ápice da planta. Na forma determinada, o caule e os ramos laterais terminam em uma inflorescência e possui um número limitado de nós, a floração tem início do ápice para a base da planta. As principais cultivares com potencial produtivo apresentam hábito de crescimento indeterminado, ou seja, as plantas continuam crescendo após a floração. Dentre esses dois grupos existem quatro tipos, dos quais os três primeiros são produzidos no Brasil, sendo eles, Tipo I – plantas de crescimento determinado, subarborescente, com porte ereto e pequeno, ciclo precoce, maturação das vagens uniformes, mas pouco produtivos. Tipo II – crescimento indeterminado,

subarbusivo, porte ereto e caule pouco ramificado. Tipo III – plantas com hábito de crescimento indeterminado, prostrado ou semiprostrado, com ramificações bem desenvolvidas e abertas, o estágio de floração é amplo, favorecendo a redução de perdas totais ocasionadas pelos fatores climáticos, plantas rústicas e de alta produção. Tipo IIII – hábito de crescimento indeterminado, trepador, não é produzido no Brasil (FANCELLI; DOURADO NETO, 2007).

Para o feijoeiro podem ser feitas até três safras, sendo as seguintes: safra das águas, chamada assim devido a grande quantidade de chuvas que acontece durante o período de plantio nos meses de agosto a dezembro; safra da seca, que ocorre no período de dezembro a março, quando há menos chuvas; e a última, safra irrigada, que acontece nos meses de abril a junho (DA SILVA; WANDER, 2013).

Segundo a Instrução Normativa Nº 12, de 28 de março de 2008 (MAPA, 2008) o feijão carioca é classificado como tipo I (classes branco, preto e as cores carioca, vermelho, jalo, entre outros), que é proveniente da espécie *P. vulgaris*. O tipo de feijão carioca surgiu em 1969, sendo considerados grãos de coloração castanho-claro, podendo conter estrias de coloração marrom. O hilo é branco, apresentando ao redor um halo de coloração creme. As sementes têm em média 0,96 cm de comprimento, 0,60 cm de largura e 0,51 cm de espessura e forma oblonga conforme classificação de Almeida, Leitão Filho e Miyasaka (1971).

3.1.2 Importância socioeconômica

O feijão é cultivado em grande parte por pequenos agricultores em todo o território nacional, tendo grande importância na subsistência. Contudo, há também a produção em grande escala com emprego de tecnologias cada vez mais novas, que vão desde o uso de agroquímicos até o uso de máquinas para a produção e colheita (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

Segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO, 2014), o Brasil é o terceiro maior produtor de feijão do mundo, ficando atrás apenas da Myanmar e Índia. Comparando a produção de feijão por regiões do mundo a Ásia produz 44%, depois vem as Américas com 29,9% e a África com 23,3%. A estimativa nacional de rendimento médio das três safras foi de 4.555

quilogramas por hectare, com 3.236.101 hectares plantados na safra de 2017 conforme IBGE (2017).

O feijão tipo carioca foi semeado no estado do Paraná em 246,9 mil hectares nas três safras de 2017, obtendo uma produtividade de 1.494 kg por hectare, sendo a produção de 368,8 mil toneladas. Os maiores estados produtores de feijão carioca são Minas Gerais, Paraná e Goiás, sendo que Paraná teve um aumento na produção de 39% na safra 2017 (CONAB, 2017).

O consumo *per capita* nacional de feijão comum é, em média, de 15 kg por habitante ao ano, ocorreu redução do consumo devido as mudanças no hábito alimentar da população, havendo maior demanda por produtos industrializados (MEIRA; SOUZA, 2015). Mesmo com decréscimo de consumo, o feijão é um dos alimentos mais importantes da dieta dos brasileiros, pois, tem alto valor nutritivo, disponibilizando carboidratos como fibras alimentares, minerais como o ferro, vitaminas principalmente do complexo B, lipídios e uma reconhecida fonte de proteínas (BORÉM; CARNEIRO, 2013; MESQUITA et al., 2007).

O feijão também contém aminoácidos essenciais que são aqueles que o corpo humano não produz como a isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, histidina e valina, sendo que lisina está presente em maior quantidade e metionina em menor, no entanto, o arroz é rico em aminoácidos sulfurados como a metionina, desta forma o prato típico brasileiro complementa a alimentação saudável (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

O consumo regular do feijão traz muitos benefícios à saúde, podendo até suprir a deficiência de ferro que causa anemia e a de proteínas. Compreendendo toda a importância do feijão, são realizados programas governamentais para estimular o consumo e a produção do mesmo, além de pesquisas para melhorar cada vez mais as características agrônomicas e o estímulo de produção nas pequenas, médias e grandes propriedades rurais, mostrando a sua importância socioeconômica (DA SILVA; WANDER, 2013).

3.1.3 Composição Proteica

Proteínas são compostos orgânicos formados por aminoácidos com alto peso molecular (macromoléculas). As funções são variadas, enquanto algumas possuem atividades catalíticas (enzimas), outras servem como elementos

estruturais, receptores de sinais, transportadores que carregam elementos específicos tanto para dentro da célula como para fora, de armazenamento, anticorpos, protetoras, contrateis, hormônios, entre outras (NELSON; COX, 2011; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Quando é feito o fracionamento das proteínas do feijão, são identificados quatro principais grupos, sendo eles: albuminas e glutelinas (cerca de 22,4%), prolaminas (em torno de 1,7%) e globulinas, das quais a faseolina é a mais abundante (cerca de 40 a 50%) (BONETT et al., 2007; MONTOYA et al., 2008). O grupo das albuminas participa dos processos metabólicos essenciais como constituição de enzimas e contém aminoácidos sulfurados que são importantes nutricionalmente (PARK; KIM; BAIK, 2010).

A faseolina é uma proteína de reserva do grão de feijão, pertencente à família das globulinas fração 7S, com estrutura trimétrica mista com domínios em alfa-hélice e beta-barril (ISHIMOTO; CHRISPEELS, 1996). O estudo da mesma é importante para identificar a origem do feijão, pois existem variações genéticas na sua quantidade e peso molecular de suas subunidades. Os subtipos mais estudados e encontrados são a faseolina S (Sanilac) e T (Tendergren) (MONTOYA et al., 2008b). A faseolina S é encontrada em grãos pequenos de cultivares de origem na América Central, principalmente. Já a faseolina T está presente em grãos volumosos e de origem dos Andes, sendo esses dois locais o centro de domesticação do *P. vulgaris* (SHARMA; KAUL; DHAR, 2006).

As variações nos teores de proteína bruta em grãos de feijão encontradas na literatura situam-se na faixa de 16% a 36,28% (BARAMPAMA; SIMARD, 1993; BORDIN et al., 2003; BURATTO et al., 2009; MESQUITA et al., 2007; PINHEIRO et al., 2010). O teor de proteína no grão de feijão varia de acordo com a cultivar e o ambiente em que é cultivado, sendo então a interação entre genótipo e ambiente (BURATTO et al., 2009).

3.1.4 Escurecimento do tegumento do feijão carioca

Uma das limitações do feijão carioca é o escurecimento do tegumento durante o armazenamento, o que leva à rejeição pelos consumidores, os quais associam o tegumento de fundo escuro com um grão mais velho, duro e menos saboroso. Por outro lado, feijões com tegumento de fundo claro são associados a

um grão mais novo, macio e saboroso. Durante o período de armazenamento, são ativados alguns processos metabólicos que ocasionam o escurecimento do tegumento (BASSINELLO et al., 2003).

As causas exatas do por que ocorre o escurecimento ainda não são totalmente claras, conforme Araújo, Ramalho e Abreu (2012) seria uma combinação de genótipo, ambiente e alterações químicas. Estudos mostram que alta temperatura, umidade relativa do ar, presença de luz e oxigênio durante o armazenamento são agravantes para o escurecimento do tegumento do feijão carioca (BRACKMANN et al., 2002; JUNK KNIEVEL; VANDENBERG; BETT, 2007).

Ocorre na natureza três tipos de fenótipos para o escurecimento do tegumento, sendo eles, o grão que não apresenta escurecimento, o de escurecimento lento e de escurecimento regular, considerado de baixa qualidade, já que por sua vez, ele apresenta características desfavoráveis aos olhos dos consumidores (ELSADR et al., 2011).

Conforme Hikeezi et al., (2013) as principais óxido-redutases responsáveis pelo processo de escurecimento em vegetais são as polifenoloxidasas – PPO (EC. 1.14.18.1) e peroxidases – POD (EC. 1.11.1.7). As PPO são enzima que contém cobre no centro ativo e que catalisa dois tipos de reações, ambas envolvendo oxigênio. A primeira reação corresponde à hidroxilação de monofenóis formando orto-difenóis e a segunda á oxidação de orto-difenóis formando ortoquinonas. As quinonas formadas, subsequentemente, sofrem uma série de reações não enzimáticas para formar pigmentos escuros denominados genericamente de melaninas (MAYER, 2006). Dentre os fatores que determinam a velocidade da ação das PPO, está a concentração de enzimas e de fenóis nos tecidos, já que os mesmos são substratos para as enzimas (DAWLEY; FLURKEY, 1993).

As PPO apresentam várias funções nas plantas tais como defesa, em casos em que os tecidos são danificados por injúrias mecânicas, ataque de herbívoros e insetos e infecção por patógenos. Quando a compartimentalização do tecido vegetal é perdido, as PPO de plastídios reage com os substratos fenólicos do vacúolo, levando à formação das quinonas (VAUGHN; LAX; DUKE, 1988).

As POD tem o mesmo modo de ação das PPO, no entanto, reage com peróxido de hidrogênio, resultando em quinonas que são compostos instáveis que ao reagirem com o oxigênio polimerizam-se formando melaninas (CHITARRA,

2007). As POD tem função na biossíntese da lignina e também no mecanismo de resistência das plantas (FENNEMA, 2000).

A oxidação enzimática de compostos fenólicos pelas enzimas polifenoloxidasas e peroxidases resultam no escurecimento do tegumento (WHITEHEAD; SWMARDT, 1982). Segundo Silva (2007) o escurecimento do tegumento do feijão carioca é mais precoce devido à quantidade de polifenóis no grão, especialmente o tanino. No entanto, a análise de tanino é demorada, de alto custo e ocorre a destruição do grão. A alternativa seria utilizar o método de colorimetria do grão ou a quantificação proteica pelos diversos métodos conhecidos.

Rios, Abreu e Corrêa (2002), ao estudarem a relação entre compostos fenólicos, enzimas peroxidases e polifenoloxidasas e o escurecimento do tegumento em diferentes cultivares de feijão, verificaram que o teor de compostos fenólicos aumentou durante o período do armazenamento (oito meses), bem como o escurecimento do tegumento dos grãos em todas as cultivares analisadas. Os mesmos autores concluíram, ainda, que com o aumento do teor dos compostos fenólicos durante o armazenamento, a coloração do tegumento dos grãos tornou-se mais escura como resultado do aumento da atividade das enzimas polifenoloxidasas e peroxidases, devendo-se ressaltar que os autores utilizaram, em sua pesquisa, o grão inteiro.

Neste contexto, devido à grande perda econômica que o escurecimento do tegumento causa, estudos sobre a forma como ocorre essa propriedade do feijão são muito importantes, a fim de obter-se variedades menos suscetíveis ao escurecimento do tegumento no período em que estão armazenadas.

3.1.5 Técnicas para quantificação e análise de proteínas

O método de quantificação de proteínas solúveis totais, por Bradford, consiste na ligação da proteína com o corante *Coomassie Brilliant Blue G-250*, com mudança máxima de absorção do corante a partir de 465 a 595 nm, sendo o aumento da absorção a 595 nm que é monitorado. É um procedimento rápido e estável com pouca ou nenhuma interferência de cátions. A concentração de proteínas na amostra é proporcional à intensidade da coloração azul obtida como resultado da ligação proteína-corante (BRADFORD, 1976).

O *Near Infrared Spectroscopy* (NIRS), ou seja, espectroscopia infravermelho próximo foi descoberto por Frederick William Herschel, um músico e astrônomo profissional. É uma metodologia rápida, sem a utilização de produtos químicos, equipamento de fácil manuseio e não destrutivo. O método é considerado secundário, pois, exige valores de referência para desenvolver um modelo de calibração para a molécula estudada. A precisão dos resultados do NIRS, depende em grande medida, da precisão das análises de bancada, mas é uma metodologia considerada reprodutível (MANLEY, 2014).

O NIRS é constituído de uma câmara de leitura ótica e um software para tratamentos matemáticos que, permite a identificação, qualificação e quantificação de compostos orgânicos nos alimentos (CAMPESTRINI, 2005).

A região do comprimento de onda que o NIRS compreende é de 800 a 2500 nm, entre o visível de 380 a 780 nm e 316 a 12 nm. Os espectros gerados tem informações sobre as ligações orgânicas, sendo C-H, O-H e N-H. Devida a combinação de um grande número de espectros gerados e muitos picos sobrepostos, acaba sendo muito complexo a visualização dos resultados, desta forma, o NIRS gera uma regressão linear múltipla (MLR), removendo informações indesejadas como o ruído espectral ou efeito de tamanho de partícula sem perder informações importantes, o pré – tratamento das amostras tem a mesma finalidade. Para a calibração do NIRS é recomendado mais de cem amostras (MANLEY, 2014).

Alguns trabalhos utilizando o NIRS foram conduzidos para diferentes espécies vegetais. Assim, Ribeiro, Ferreira e Salva (2011) utilizaram o método para avaliar a bebida de café em relação à acidez, amargor, sabor, limpeza, corpo e qualidade global. Krähmer et al., (2015) determinaram os parâmetros de qualidade bioquímica em cacau. Bazoni et al., (2017) utilizaram a metodologia para avaliar as alterações físico-químicas de soja armazenada. Hacisalihoglu, Larbi, e Settles (2009) utilizaram o NIRS para avaliar a massa da semente, quantidade de proteína e amido presente no grão do feijão.

Conforme Santos; Santos e Korndorfer (2012), o NIRS traz muitos benefícios para diversas indústrias e laboratórios, no entanto, apresenta como dificuldade o alto custo inicial para a aquisição do aparelho, o tratamento dos dados que é o processo mais demorado, a grande quantidade de material para proceder a calibração do aparelho e as técnicas clássicas de bancada ainda são necessários na parte de calibração.

3.1.6 Quimiometria

Quimiometria segundo Barros Neto, Scarminio e Bruns (2006), utiliza dos conhecimentos da estatística e matemática para organizar, planejar e melhorar o conjunto de dados químicos multivariados. Um conjunto é multivariado quando se analisa mais de uma variável ao mesmo tempo, correlacionando as mesmas. Com o desenvolvimento de instrumentos com capacidade de armazenar grandes conjuntos de dados, também se criou a necessidade de instrumentos matemáticos para tratar esse conjunto.

Segundo Xiaobo et al., (2010) selecionar variáveis fornece preditos de forma mais rápida e econômica, também para o método de PLS gera resultados mais adequados. A seleção das variáveis visa identificar subconjuntos de comprimentos de ondas que produza o menor erro. Boxplot e histograma são representações gráficas que demonstram o comportamento dos dados, portanto com o histograma é possível verificar a dispersão dos dados ao redor de um mesmo valor central, com isso podemos identificar a variabilidade do conjunto de dados. Contribuindo na tomada de decisão o gráfico de densidade é sumarizado com o histograma, pois ele captura densidades de frequência de forma geral, desta forma, indicando uma estimativa de frequência de observações na região da linha. O boxplot representa os limites mínimo e máximo do conjunto de dados, também define os percentis de 25% e 75%, inclusive utilizando esta metodologia é possível conhecer os *outliers* (valores discrepantes) (FILHO, 2017).

Para Beebe, Pell e Seasholtz (1998) a etapa de pré-processamento dos dados individuais ainda brutos tem por objetivo descartar informações que não são importantes do ponto de vista químico e melhorar a condição do conjunto de dados para a posterior análise do *software*. Um exemplo é a centralização na média, que permite que para cada variável seus valores tenham média zero. Para centrar os dados na média, obtêm-se, para cada coluna, o valor médio e, em seguida, subtrai-se este valor de cada variável dessa mesma coluna, conforme a equação 1. Outra vantagem do pré – processamento centrado na média é a redução do número de variáveis utilizadas, o modelo torna-se menos complexo (MANLEY, 2014).

$$\vec{Y} = X.\vec{b} \quad (1)$$

O NIRS emprega alguns métodos multivariados, o mais comum é a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), onde é feito o processamento

diretamente dos dados, extraindo as variáveis latentes (variáveis não observáveis). Esta regressão tem por objetivo determinar uma linearidade que sumarie a correlação entre as variáveis Y e X (KUHNS; JOHNSON, 2013).

Para o desenvolvimento do modelo existem duas metodologias que se diferem e podem ser utilizadas para a identificação do modelo que melhor prediz a quantidade da molécula orgânica estudada, sendo *Cross Validation* e *Test Set*, na qual, as duas precisam da etapa de calibração e validação. A calibração (b) é definida como um processo para criar um modelo que relaciona amostras preditas, ou seja, lidas pelo espectrofotômetro em absorvância (Y) com amostras de referência feito com testes de bancada (X), (ZEAITER; ROGER, 2005), conforme equação 2.

$$b = (X^T \cdot X)^{-1} \cdot X^T \cdot Y \quad (2)$$

O coeficiente de correlação varia de -1 a +1, sendo uma medida de relação linear entre as variáveis, informando o quanto uma variável é alterada pela mudança na outra variável. Explicando o fato de variáveis de valores baixos estarem relacionados com outras variáveis de valores baixos e assim se agrupando e alterando o comportamento dos dados, o contrário também é verdadeiro (BRUKER, 2006).

O R^2 indica o coeficiente de determinação, ou seja, a porcentagem de variância presente nos valores verdadeiros (Y) com os valores preditos (X). Quanto mais os valores preditos se aproximam dos valores verdadeiros, maior é o R^2 que se aproximando de 100%, portanto é um indicador de ajuste do modelo. Representado pela equação 3 (BRUKER, 2006; XIAOBO et al., 2010).

$$R^2 = \left(1 - \frac{\sum(Differ_i)^2}{\sum(Y_i - Y_m)^2}\right) \times 100 \quad (3)$$

Outro indicador é o Erro quadrático médio da estimativa (RMSEE), sendo a soma dos quadrados dos erros (SEE), o número de amostras (M) e o Rank (R). Para a soma dos quadrados dos erros é utilizado a fórmula da somatória quadrática do residual (Res). Este indicador é utilizado no *Test Set* (BRUKER, 2006; XIAOBO et al., 2010). Estão representados pelas equações 4 e 5.

$$RMSEE = \sqrt{\frac{1}{M - R - 1} \cdot SSE} \quad (4)$$

$$SSE = \sum [Res_i]^2 \quad (5)$$

Para o *Cross Validation* (calibração e validação) é utilizado o indicador de erro quadrático médio da validação cruzada (RMSECV), portando é o erro médio calculado para cada variável latente analisada individualmente e calculada, o PRESS (Soma de tempo residual preditiva dos quadrados) é a soma de todas as diferenças quadráticas entre a concentração verdadeira e prevista. A diferença entre a concentração verdadeira da amostra i e a concentração predita chama-se *Differ*, as equações 6, 7 e 8 estão representadas a seguir (BRUKER, 2006):

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{M} \cdot \sum_{i=1}^M (Differ_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{M} \cdot PRESS} \quad (6)$$

$$Press = \sum_{i=1}^M (Differ_i)^2 \quad (7)$$

$$Differ = y_i^{trus} - y_i^{pred} \quad (8)$$

Para *Test Set* (validação) é utilizado o erro quadrático médio da previsão (RMSEP) que determina a medida de concordância entre o valor predito e o valor verdadeiro, segue equação 9 (BRUKER, 2006).

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{M} \sum (Differ_i)^2} \quad (9)$$

O Desvio residual de predição (RPD) determina a razão entre o desvio padrão e o erro padrão predito. O Desvio padrão (SD) é o grau em que os valores dos componentes de um conjunto de amostras estão dispersos em torno do valor médio da componente, sendo a raiz quadrada da variância. Para M o número de espectros e y_m o valor médio da componente. O erro padrão de predição (SEP) indica o desvio padrão de todos os valores de medição corrigidos de polarização a partir do valor verdadeiro, conforme equações 10, 11, 12 e 13 (BRUKER, 2006).

$$RPD = \frac{SD}{SEP} \quad (10)$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum y_i^{trus} - y_m^2}{M - 1}} \quad (11)$$

$$y_m = \frac{\sum_i y_i^{trus}}{M} \quad (12)$$

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_i (Differ_i - Bias)^2}{M - 1}} \quad (13)$$

Bias representa o valor médio do desvio, portanto um desvio sistemático dos valores preditos do valor verdadeiro representado pela equação 14 (BRUKER, 2006).

$$Bias = \frac{\sum_i Differ_i}{M} \quad (14)$$

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado a campo no ano de 2016 no município de Pato Branco – PR, na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, localizada a 26°11'S e 52°40'W, e com altitude próxima a 700 m. O solo é caracterizado como Latossolo Vermelho Distrófico. O clima do local é cfa, com temperaturas médias de 18 °C nos meses mais frios e acima de 22 °C para os meses mais quentes, com chuvas bem distribuídas.

Foram utilizadas 10 cultivares de *P. vulgaris* L. do tipo carioca, sendo: BRS MG Madrepérola; Pérola; TAA Dama; IAC Milênio; ANFC 9; IPR Tangará; BRS Requite; IPR Curió; BRS Imperador; BRS Estilo.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições. As parcelas foram constituídas de seis metros de comprimento com quatro linhas espaçadas a 0,45 m entre si, a densidade de semeadura foi de 288 plantas por parcela, com 12 plantas por metro linear. Os tratamentos aplicados após a semeadura estão indicados na tabela 1. O manejo da cultura foi de acordo com a Comissão Técnica Sul-Brasileira de Feijão (CTSBF, 2012).

Tabela 1 – Representação dos tratamentos químicos utilizados no experimento a campo, para análise dos grãos na pós-colheita. Fonte: (Paludo, 2018).

| Produto (Nome comercial) | Princípio ativo | Dose utilizada | Plantas daninhas/ Pragas | Classe |
|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|
| Flex® | Fomesafem | 1.000 mL/ha | Folha larga | Herbicida |
| Fusilade® 250 EW | Fluazifope-P-Butílico | 750 mL/ha | Gramíneas | Herbicida |
| Engeo Pleno® + Nimbus® | Tiametoxam + óleo mineral | 125 mL/ha + 500 mL/100 L (calda) | <i>Diabrotica speciosa</i> | Inseticida e óleo mineral (adjuvante) |

Na maturidade fisiológica, foi realizada a colheita e os grãos resultantes do experimento foram acondicionados em bandejas plásticas transparentes, armazenadas em ambiente controlado com temperatura de 40 ± 5 °C e umidade de 75% durante quatro meses. A intenção foi, acelerar o metabolismo das sementes para demonstrar os efeitos do escurecimento do tegumento com a finalidade da pesquisa. Para o controle de pragas de grãos armazenados foi utilizado o Gastoxin® na dose de uma pastilha, com tempo de concentração de cinco dias.

As coletas das amostras foram feitas com 15, 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento controlado, sendo o tempo O (zero) amostras recém colhidas do campo sem armazenamento, obtendo assim, o padrão. Após coletado as amostras,

era feito a identificação das mesmas e conservadas em *ultrafreezer* à -80 °C. Foram utilizadas 240 amostras com 3 repetições de cada cultivar de feijão carioca totalizando 720, para a análise de proteína solúvel pelo método de Bradford, bem como para gerar os espectros do NIRS, desta forma, representando a variabilidade proteica encontrada 15,25 mg g⁻¹ até 27,64 mg g⁻¹.

4.1 ANÁLISE DE REFERÊNCIA

A concentração de proteínas solúveis totais foi analisada pela metodologia de Bradford (1976), utilizando 1 g do tegumento, sendo a albumina sérica bovina (BSA) a proteína padrão. Para a retirada do tegumento do grão foi utilizado um bisturi, já que a análise se deteve apenas ao tegumento.

As análises foram feitas em triplicata e submetidas à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Foi utilizado o programa WinStat 1.0, com nível de significância de 95%.

4.2 ANÁLISE DE PREDIÇÃO

A preparação das amostras para gerar os espectros do NIRS constituiu da trituração do grão inteiro em duas granulósidades, sendo elas farinha e farelo com um número de *mash* de 2 mm. Para isso utilizou o moinho triturador da Finex. No equipamento espectrômetro modelo FT-NIR modelo MPA (*Multi Purpose Analyzer*) da Bruker, as amostras foram acomodadas em uma cubeta de quartzo giratória na quantidade de 20 g e gerado espectros em triplicata, as condições de leitura do equipamento foram de 16 cm⁻¹ de resolução e 34 acumulações espectrais.

O primeiro passo foi verificar qual a melhor região de dados para utilizar na modelagem, pois, não são necessários utilizar todos, escolhendo uma faixa amostral de concentrações de proteínas para desenvolvimento da melhor modelagem. Desta forma, gerou-se um boxplot e um histograma de todos os dados. Percebendo que continha regiões com poucas amostras e que não representariam bons resultados, gerou-se novamente um boxplot e histograma, mas sem os *outliers* encontrando assim, a região ideal.

Para a construção de modelos PLS foi executado no programa computacional Opus versão 7.2. Para as amostras de farinha e farelo foram utilizados dois métodos de predição o *Cross Validation* e o *Test Set* para comparação dos dois modelos e avaliação da melhor predição dos teores de proteína, considerando que possuíamos pouca variabilidade proteica entre as amostras. O *Cross Validation* consiste em um único grupo de espectros para a calibração e para a validação, utilizando 2 amostras para *leading out*. O trabalho foi desenvolvido em triplicata, desta forma, foram utilizadas 142 amostras sem *outliers*, que gerou um total de 426 espectros. Pelo método do *Test Set* há a separação manual dos espectros em dois grupos espectrais, sendo 30% dos espectros para a validação e 70% para a calibração do modelo. Para a farinha foram 99 amostras gerando 297 espectros, sendo que 76 amostras ou 227 espectros foram para o grupo de calibração e 24 amostras ou 70 espectros para o grupo de validação e para o farelo foram 124 amostras gerando 370 espectros no total com 95 amostras ou 284 espectros para calibração e 29 amostras ou 86 espectros para validação. O pré-tratamento espectral individual utilizado foi centrado na média para os dois modelos. Para gerar o modelo de predição utilizou-se a ferramenta matemática da segunda derivada.

Os modelos foram ajustados por PLS, analisando os seguintes parâmetros estatísticos para *Cross Validation*: RMSEE e R^2 para calibração RMSECV e R^2 na validação. Para o *Test Set* os parâmetros estatísticos avaliados foram: RMSEE e R^2 na calibração, RMSEP e R^2 na validação. O modelo foi escolhido por maior R^2 menor RMSEE e RMSEP, sendo resultado das otimizações obtidas pelo software.

As regiões espectrais individuais utilizadas pelos métodos de *Cross Validation* e *Test Set* para a construção dos modelos de predição da granulometria da farinha e farelo estão na tabela 2.

Tabela 2 – Regiões espectrais utilizadas pelo NIRS (*Near Infrared Spectroscopy*) para construir modelos de predição para a farinha e farelo de grãos de feijão carioca (Paludo, 2018)

| | Farinha/Farelo | |
|-------------------|-------------------------|-----------------|
| | <i>Cross Validation</i> | <i>Test Set</i> |
| Calibração | 9411.7 – 7498.5 | 9411.7 – 6094.5 |
| | 6109.9 – 5446.4 | 5461.9 – 4243 |
| Validação | 9411.7 – 7498.5 | 9411.7 – 6094.5 |
| | 6109.9 – 5446.4 | 4613.3 – 4243 |

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Quando observada a análise de variância (ANOVA) obtida por meio dos dados da análise de referência (Bradford) considerando as variáveis cultivar, tempo de armazenamento controlado e a interação entre as cultivares e tempo de armazenamento controlado, é possível perceber que ocorreu diferença significativa ($P < 0,05$) apenas para interação das variáveis (Tabela 3).

Tabela 3 – Resumo da análise da variância para a concentração de proteínas pelo método de Bradford de dez cultivares de feijão carioca armazenados em condição controlada durante quatro meses (Paludo, 2018).

| | GL | SQ | QM |
|------------------------|-----|----------|-----------------------|
| Cultivar | 9 | 11.2806 | 1.2534 ^{ns} |
| Tempo de armazenamento | 5 | 110.5410 | 22.1082 ^{ns} |
| Repetição | 3 | 4.2341 | 1.4113 ^{ns} |
| Interação | 45 | 46.8420 | 1.0409 [*] |
| Resíduo | 177 | 126.9059 | 0.7169 |
| Total | 239 | 299.8038 | - |
| Média | | 17.6862 | |
| CV (%) | | 4.7876 | |

* Diferiram significativamente e ^{ns} Não diferiram significativamente

Quando comparadas as médias das cultivares pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) em cada tempo de armazenamento controlado (Tabela 4), observou-se que no tempo 0, ou seja, o tempo sem armazenamento, as cultivares TAA Dama e Pérola apresentaram diferença significativa, mostrando que entre as dez cultivares, elas começaram expressando maior teor de proteínas com 18,23 mg g⁻¹ e 18,56 mg g⁻¹ respectivamente e a cultivar IPR Curió, o menor teor de proteínas com 16,26 mg g⁻¹.

Aos 15 dias de armazenamento controlado, a cultivar ANFC 9 apresentou o maior teor proteico com 17,72 mg g⁻¹ e TAA Dama o menor teor proteico com 15,77 mg g⁻¹ sendo, essas as duas cultivares que apresentaram diferença significativa em relação ao teor de proteína presente no tegumento.

Aos 60 dias foi o tempo de armazenamento de maior variabilidade entre as cultivares, sendo assim, o tempo que melhor expressou o potencial de escurecimento do tegumento avaliado pelo teor proteico. Neste tempo, a cultivar que expressou maior conteúdo proteico foi o BRS Estilo com 20,51 mg g⁻¹, o grupo de cultivares que obtiveram um valor médio foi IPR Curió, IAC Milênio, BRS Requite, TAA Dama e Pérola variando entre 17,93 à 18,56 mg g⁻¹, o grupo com maiores

teores proteicos foi BRS Imperador, BRS MG Madrepérola, ANFC 9 e IPR Tangará variando entre 18,83 à 18,60 mg g⁻¹ (Tabela 4). Aos 30, 90 e 120 dias de armazenamento controlado as cultivares se comportaram de forma igual, não havendo diferença significativa.

Tabela 4 – Medidas dos valores proteicos em mg g⁻¹ das dez cultivares de feijão carioca armazenados em ambiente controlado por quatro meses para expressão máxima do escurecimento do tegumento (Paludo, 2018).

| | Dias de armazenamento | | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|
| | 0 | 15 | 30 | 60 | 90 | 120 |
| IPR Curió | 16,26 b B | 17,04 ab AB | 16,86 a AB | 17,93 b AB | 18,03 a A | 17,65 a AB |
| BRS Estilo | 17,18 ab B | 17,02 ab B | 17,61 a B | 20,51 a A | 18,15 a B | 17,55 a B |
| BRS Imperador | 18,05 ab AB | 16,81 ab B | 17,5 a AB | 18,80 ab A | 18,40 a AB | 17,34 a AB |
| BRS MG Madrepérola | 17,78 ab AB | 16,44 ab B | 16,32 a B | 18,83 ab A | 18,66 a A | 17,82 a AB |
| IAC Milênio | 17,64 ab A | 16,40 ab A | 17,01 a A | 18,04 b A | 18,02 a A | 17,43 a A |
| BRS Requite | 18,13 ab AB | 16,36 ab C | 16,95 a BC | 18,02 b ABC | 18,29 a A | 18,42 a AB |
| ANFC 9 | 17,69 ab A | 17,72 a A | 17,38 a A | 18,60 ab A | 18,29 a A | 17,31 a A |
| TAA Dama | 18,23 a AB | 15,77 b C | 16,55 a BC | 18,56 b A | 18,31 a A | 17,26 a ABC |
| Pérola | 18,56 a A | 16,76 ab B | 17,43 a AB | 18,42 b AB | 18,43 a AB | 17,64 a AB |
| IPR Tangará | 17,46 ab AB | 16,47 ab B | 17,41 a AB | 18,77 ab A | 18,49 a A | 17,51 a AB |
| Média (mg g ⁻¹) | 17.7026 | 16.6827 | 17.1058 | 18.6510 | 18.3792 | 17.5960 |
| CV (%) | 2.4111 | 3.1581 | 2.6486 | 8.9228 | 1.7087 | 4.9578 |

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferiram significativamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

O teor proteico encontrado pela análise de Bradford, foi aumentando até os 60 dias, após ocorreu a diminuição, correspondendo aos trabalhos de Siqueira (2013) e Rios, Abreu e Corrêa (2002) que relataram que independente do genótipo ocorrem uma tendência de aumento da atividade enzimática, mostrando que ocorreu atividades enzimáticas no tegumento durante o armazenamento.

A variação no teor proteico está relacionada também ao cultivo do feijoeiro, adubação do solo, clima e as características genéticas da sementes (RIBEIRO et al., 2007). Como o experimento foi conduzido em mesma área, com mesmo manejo e submetidos ao mesmo clima, sugere que a variação proteica encontrada seja devido à genética do grão, resultados encontrados também por Ribeiro, Storck e Poersch (2008) e Siqueira et al., (2016).

Outro fator que pode estar relacionado ao aumento proteico é o fato das PPO estarem envolvidas na defesa da planta, quando a semente é submetida a uma situação de estresse ela tem como resposta metabólica o aumento da atividade

da enzima para que seu organismo volte ao normal (VAUGHN; LAX; DUKE, 1988 e SOARES; MACHADO, 2007).

Conforme a tabela 4, quando comparado à media de cada cultivar em relação aos tempos, as cultivares IAC Milênio e ANFC 9 não diferiram de forma significativa em nenhum tempo de armazenamento, com isso os teores proteicos do tegumento se mantiveram estáveis. Pérola expressou o maior teor proteico no tempo zero e o menor teor nos 15 dias de armazenamento, depois se mantendo estável.

Os 15 dias de armazenamento controlado foram onde as sementes apresentaram menores teores proteicos. E os tempos 60 e 90 onde as cultivares apresentaram maior expressão proteica.

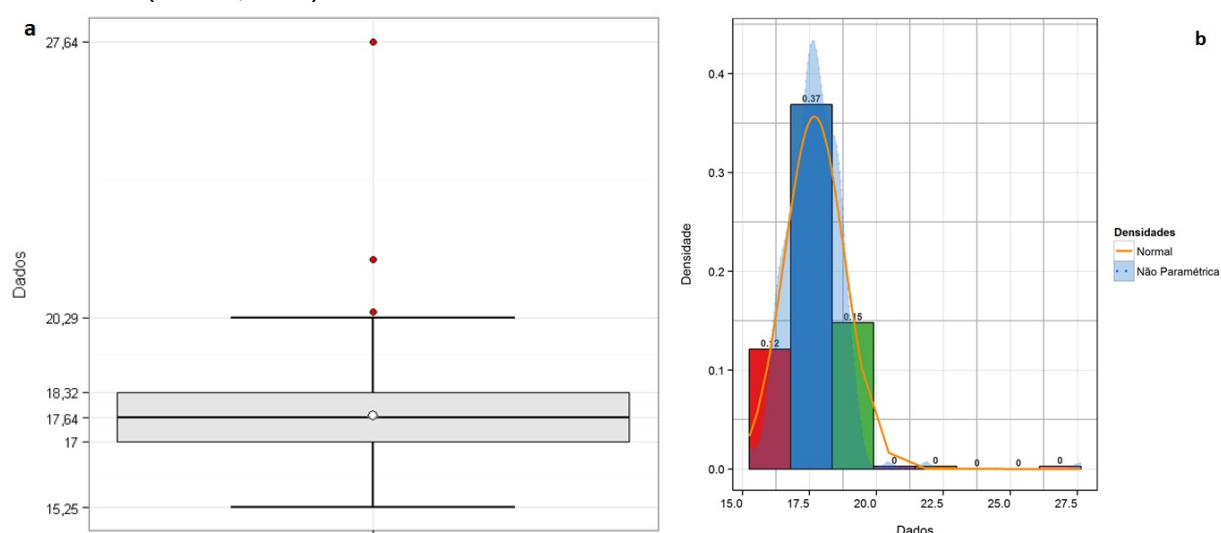
A atividade metabólica da semente é reduzida quando o teor de água e temperatura diminuem, com isso, a semente deteriora menos, pois, as enzimas e processos bioquímicos não estão em ação (MARCOS FILHO, 2015). Como o feijão é uma semente ortodoxa, ele suporta o dessecamento, ou seja, o armazenamento sem umidade, diminuindo o seu metabolismo e assim que receber umidade e temperatura adequada, sua atividade metabólica volta a funcionar adequadamente, germinando e desenvolvendo uma planta adulta. Quando submetemos as sementes em condição de alta temperatura e umidade causamos um estresse metabólico, justificando os primeiros 15 e 30 dias de armazenamento controlado, onde as sementes mostraram pouca resposta, apenas, ANFC9 que apresentou aumento do metabolismo aos 15 dias, pois a ação metabólica ainda estava baixa, aos 60 e 90 dias de armazenamento controlado foi onde as sementes apresentaram respostas ao estresse aumentando a atividade do seu metabolismo.

No período onde as sementes mantiveram ação metabólica intensa mas não germinaram, como ocorreu no experimento, o metabolismo age de forma desordenada, favorecendo a deterioração das sementes (MARCOS FILHO, 2015). Justificando a resposta das sementes ao longo do armazenamento, aumentando ou diminuindo o seu teor proteico.

Obtendo o conjunto de dados pela análise de referência (Bradford) foi possível identificar o comportamento dos dados, utilizando o boxplot (Figura 1), desta forma, essa representação gráfica incluiu o conjunto de dados da análise de Bradford completo e representou *outliers* na faixa de 20,45 a 27,63 mg g⁻¹ de proteína na amostra, sendo o primeiro quartil com 17,00 mg g⁻¹ e o terceiro quartil com 18,31 mg g⁻¹ demonstrando que essa seria a faixa ideal para trabalhar com o

conjunto total de dados no NIRS. No entanto, quando comparado o mesmo conjunto total de dados no histograma (Figura 1), apresentou uma curva leptocurtica, ou seja, pouca dispersão dos dados, sendo uma curva assimétrica com calda para a direita, desta forma, não desenvolveria um modelo representativo. Sumarizando o gráfico de densidade indica uma estimativa de frequência de observações na região da linha, ou seja, os dados mais frequentes se concentram na região dos 16,00 a 18,00 mg g⁻¹.

Figura 1 – Representação gráfica do conjunto total de dados da análise de Bradford utilizada para desenvolver modelos de *Cross Validation* e *Test Set*. (a) Boxplot e (b) Histograma (Paludo, 2018).



Em seguida, foi gerado um novo boxplot (Figura 2) sem os *outliers*, gerando uma faixa ideal entre primeiro quartil à 16,78 mg g⁻¹ e terceiro quartil com 17,63 mg g⁻¹. Quando comparado com o histograma (Figura 2) apresentou amostras menos concentradas, desenvolvendo uma curva simétrica e na linha da densidade, demonstrou maior frequência na mesma faixa de amostras do boxplot, portanto estes foram os limites utilizados para gerar modelos de PLS.

Após a seleção do conjunto de dados da análise de Bradford, os dados foram plotados no programa Opus.Lab e assim, foram cruzadas as leituras do NIRS e do Bradford, gerando assim os espectros. É necessário verificar se existe a necessidade de tratar os dados iniciais, pois, pode ocorrer muitos picos sobrepostos, deixando a visualização do resultado complexa (MANLEY, 2014). Observando os espectros individuais sem *outliers* (Figura 3) com um total de 426 espectros, apresentaram-se similares, portanto o único pré-tratamento foi o centrado na média,

que consiste em cada variável obter valores de média zero (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998).

Figura 2 – Representação gráfica após a remoção dos *outliers* do conjunto de dados selecionada para desenvolver modelos de *Cross Validation* e *Test Set*. (a) Boxplot e (b) Histograma (Paludo, 2018).

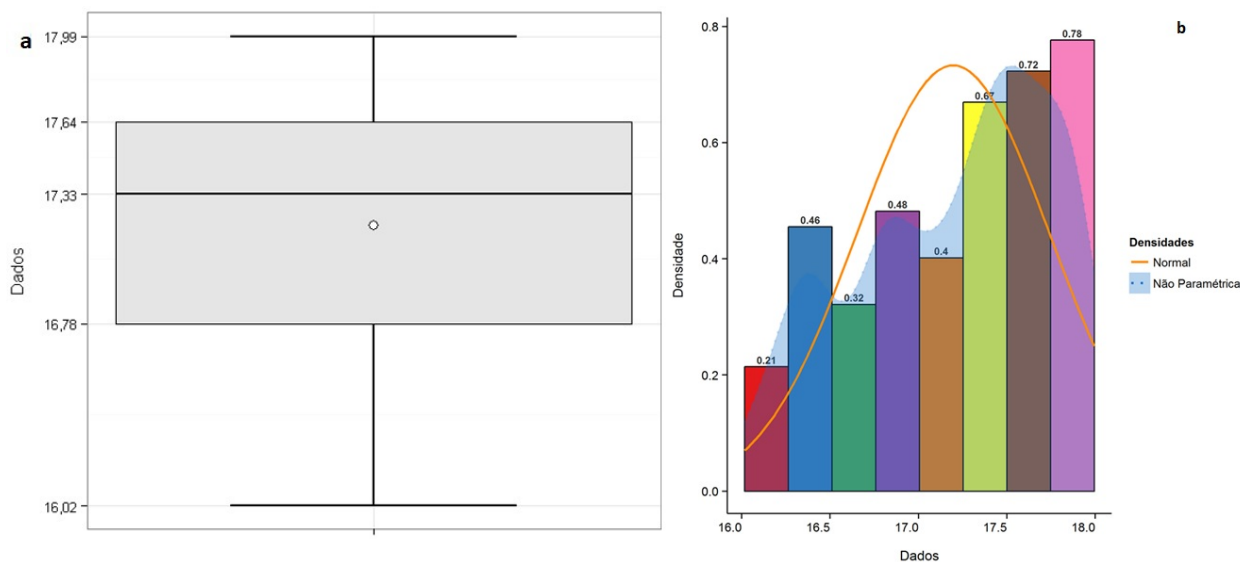
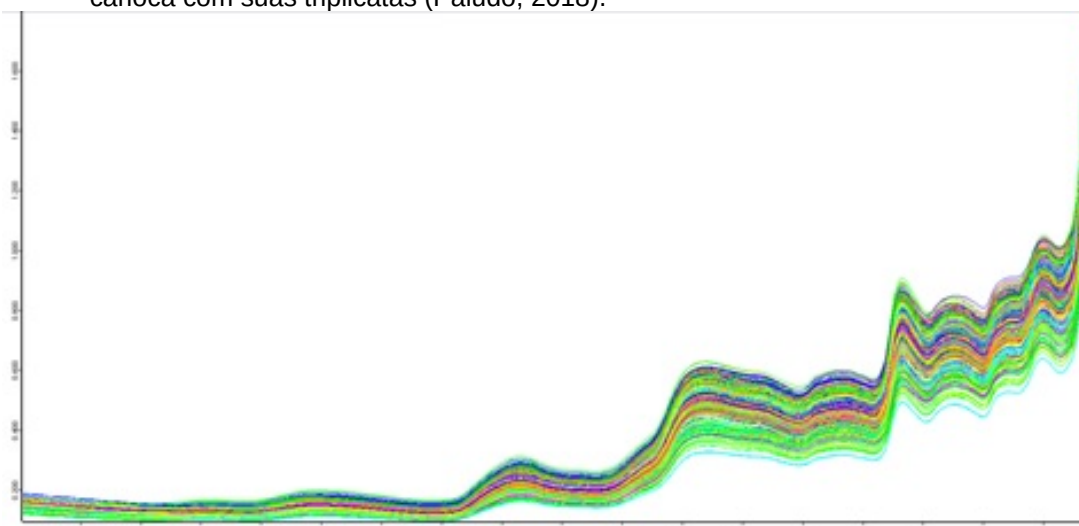


Figura 3 – Espectros individuais do conjunto de dados da farinha e farelo de dez genótipos de feijão carioca com suas triplicatas (Paludo, 2018).



Conforme Ranzan et al., (2014) os parâmetros estatísticos são necessários para identificar a qualidade preditiva dos modelos, sendo considerando os mais determinantes RMSECV para *Cross Validation* nas etapas de validação e calibração, pois, essa metodologia utiliza o mesmo grupo de amostras para calibrar e validar o modelo gerado. Para o *Test Set*, o RMSEP na etapa de validação é o mais importante, pois, os grupos de amostras são distintos nesta metodologia e o

erro na validação valida o modelo gerado. O R^2 identifica a porcentagem de variância presente nos valores verdadeiros (Y) com os valores preditos (X), sendo utilizado para as duas metodologias.

Tabela 5 – Parâmetros estatísticos que representam a qualidade preditiva do modelo desenvolvido com as metodologias *Cross Validation* e *Test Set* com as granulometrias de farelo e farinha de dez genótipos de feijão carioca e suas triplicatas (Paludo, 2018).

| <i>Cross Validation</i> | | | | |
|-------------------------|-----------|------------------------------|------------|-----------------------------|
| | Validação | | Calibração | |
| | R^2 | RMSECV (mg g ⁻¹) | R^2 | RMSEE (mg g ⁻¹) |
| Farelo | 0.34 | 0.388 | 0.53 | 0.333 |
| Farinha | 0.52 | 0.392 | 0.63 | 0.351 |
| <i>Test Set</i> | | | | |
| | Validação | | Calibração | |
| | R^2 | RMSEP (mg g ⁻¹) | R^2 | RMSEE (mg g ⁻¹) |
| Farelo | 0.45 | 0.274 | 0.43 | 0.409 |
| Farinha | 0.60 | 0.231 | 0.64 | 0.353 |

Ao compararmos o modelo de predição *Cross Validation* da farinha e do farelo (Tabela 5), observa-se que a farinha obteve R^2 maior na validação e na calibração, com 0.52 e 0.63 respectivamente, para o farelo os valores foram menores, sendo R^2 com 0.34 na validação e 0.53 para a calibração. No modelo do *Test Set* na validação a farinha apresentou valor de R^2 maior (0.60) quando comparado com o farelo com 0.45. Conforme Xiaobo et al., (2010) quanto mais os valores preditos se aproximam dos valores verdadeiros mais perto de 100% é o valor ideal de R^2 . Santos (2017) avaliou o teor proteico total na soja e encontrou o valor de 0.78 para o coeficiente de determinação, neste trabalho a farinha se aproximou mais desses valores, chegando à 0.64 no modelo do *Test Set*, um valor aceitável, levando em consideração a pouca variabilidade proteica encontrada.

Para o *Test Set* (validação) é utilizado o erro quadrático médio da previsão – RMSEP que determina a medida de concordância entre o valor predito e o valor verdadeiro e para *Cross Validation* é utilizado o indicador de erro quadrático médio da validação cruzada – RMSECV (BRUKER, 2006). Conforme Manley (2014) e Ranzan et al., (2014), a figura de mérito RMSEP para o *Test Set* na validação e o RMSECV no *Cross Validation* são importantes para determinar a precisão da análise. Para Santos (2017) os mesmos indicativos absorvem os erros globais da análise de referência. Almeida (2009), afirma que quanto menor o valor melhor o modelo predito. Sendo assim, os valores encontrados para o modelo de predição

Cross Validation para o RMSECV foi menor no farelo com 0,388 e maior na farinha com 0,392. Para o *Test Set* o indicativo RMSEP o farelo foi maior com 0,274 e menor para a farinha com 0,231 (Tabela 5).

Outra figura de mérito utilizada, foram as variáveis latentes, quanto mais baixa a classificação melhor, pois quanto maior, mais ruído a amostra apresenta. A classificação é feita de 1 à 10, aonde o próprio *software* determina (ALMEIDA, 2009). Neste trabalho, foi designado 9 para todas as avaliações. As variáveis R^2 e RMSEP ou RMSECV apresentaram valores muito similares sugerindo que a validação cruzada *leave-one-out* se encaixa no PLS obtendo regressão com precisão.

Analisando, o *Test Set* apresentou sendo o melhor modelo de predição como já visto, os resultados foram o R^2 maior e o erro na validação (RMSEP) menor tanto para farinha quanto para farelo neste modelo. Para determinar qual granulometria se ajustaria melhor para este modelo, foi utilizado a figura de mérito RPD – desvio residual de predição que estipula a proporção de erro padrão por desvio padrão, ele designa se o modelo predito está adequado para ser usado (MANLEY, 2014). Na literatura existem valores de referência que indicam se o modelo é adequado ou não, segundo Saeys et al., (2005) os valores abaixo de 1,5 não são predições aconselháveis, entre 1,5 e 2,0 existe a possibilidade de reconhecer valores altos e baixos, representando um modelo mais adequado. Para Manley (2014), valores maiores que 3,0 são úteis para selecionar amostras, sendo uma boa classificação, acima de 5,0 pode ser utilizado para o controle de qualidade de produtos na indústria e acima de 8 é excelente, tendo qualquer aplicação.

Com isso, foi avaliado o RPD da farinha e do farelo para o *Test Set*, a farinha apresentou 1,82 para a validação e 1,66 para a calibração, sendo valores aceitáveis para predição. O farelo apresentou valores abaixo de 1,5 com 1,42 para a validação e 1,32 para a calibração, não desenvolvendo uma boa predição.

No trabalho de Shenk et al., (2001) evidenciou que quando os espectros são feitos com amostras inteiras a precisão do equipamento fica reduzida devido à heterogeneidade da amostra, desta forma, quando moído a amostra se torna homogênea e melhora a precisão da análise pelo equipamento. Confirmando os resultados a farinha apresentou melhores índices, demonstrando ser a melhor granulometria para o desenvolvimento do modelo de predição.

6 CONCLUSÕES

Foram encontradas diferenças significativas no teor de proteínas solúveis totais expresso na análise de referência (Bradford) entre as cultivares e tempos de armazenamento controlado.

Obtendo os dados na análise de referência (Bradford), foi desenvolvido um modelo de predição proteica utilizando o NIRS para o feijão carioca com duas granulometrias distintas (farelo e farinha), no entanto, o modelo não está finalizado devido à limitação intrínseca na variabilidade proteica nas cultivares estudadas.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho deve ser continuado utilizando maior quantidade de cultivares, desta forma melhorando os modelos de predição, pois, esse modelo gerado ainda não está adequado para ter uma aplicabilidade, sendo classificado como um modelo em construção.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D'Artagnan de; LEITÃO FILHO, Hermógenes; MIYASAKA, Shiro. Características do feijão carioca, um novo cultivar. **Bragantia**, v. 30, p. 33-38, 1971. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v30n1/15.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

ALMEIDA, Filipa Margarida Neves. **Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (FT-NIR) na caracterização de farinhas para alimentação pueril**. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009. Disponível em: <<https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/395139422094/Tese%20FINAL%20Filipa%20Almeida.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

ARAÚJO, Lilian Cristina Andrade de; RAMALHO, Magno Antonio Patto; ABREU, Ângela de Fátima Barbosa. Estimates of genetic parameters of late seed-coat darkening of carioca type dry beans. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, n. 2, p. 156–162, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v36n2/03.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

BARAMPAMA, Zacharie; SIMARD, Ronald E. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) grown in burundi. **Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 159–167, 1993. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030881469390238B>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

BARBOSA, Flávia Rabelo; GONZAGA, Augusto César de Oliveira. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. 2. ed. Santo Antônio de Goiás, 2012. 247 p. Disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br/transferecia/informacoestecnicas/publicacoesonline/seriedocumentos_272.pdf>. Acesso em: 05 nov. 2017.

BARROS NETO, Benício de; SCARMINIO, Ieda S.; BRUNS, Roy E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1401 – 1406, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v29n6/41.pdf>>. Acesso em: 06 jan. 2018.

BASSINELLO, Zaczuk Priscila et al. **Aceitabilidade de três cultivares de feijoeiro comum**. Goiás, 2003. 6 p. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAF/21536/1/comt_66.pdf>. Acesso em: 05 nov. 2017.

BAZONI, Carlos H. V. et al. Near-infrared spectroscopy as a rapid method for evaluation physicochemical changes of stored soybeans. **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 1–6, Setembro 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022474X17301315>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

BEEBE, Kenneth R.; PELL, Randy J.; SEASHOLTZ, Mary Beth. **Chemometrics: A practical guide**. New York: Wiley, 1998. 360 p. ISBN 9780471124511.

BONETT, Lucimar Pereira et al. Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 11, n. 3, p. 235–246, 2007. Disponível em: <<http://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/2044/1786>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

BORDIN, Luciano et al. Sucessão de cultivo de feijão-arroz com doses de adubação nitrogenada após adubação verde, em semeadura direta. **Bragantia**, v. 62, n. 3, p. 417–428, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v62n3/v62n3a08.pdf>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

BORÉM, Aluízio; CARNEIRO, José Eustáquio S. In: **Feijão**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2013. cap. A Cultura, p. 600. ISBN 978-85-7269-205-2.

BRACKMANN, Auri et al. Conservação de três genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo carioca em armazenamento refrigerado e em atmosfera controlada. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 911–915, 2002. ISSN 1678-4596. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v32n6/12733.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248–254, maio 1976. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

BRUKER, Optik GmbH. **OPUS Spectroscopy Software: User manual quant**. 6. ed. 2006.

BURATTO, Juliana Sawada et al. Variabilidade genética e efeito do ambiente para o teor de proteína em grãos de feijão em grãos de feijão. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 31, n. 4, p. 593–597, 2009. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/910/910>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

CAMPESTRINI, Evandro. Utilização de equipamento NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy) nos estudos de valores nutricionais (composição química e digestibilidade) de alimentos para não ruminantes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 5, p. 240–251, 2005. Disponível em: <http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/025V2N5P240_251_SET2005.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2017.

CHITARRA, Maria Isabel F. **Processamento mínimo de frutos e hortaliças**. Viçosa, 2007.

Conab, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira, grãos**. Brasília, 2017. 1–158 p. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_09_12_10_14_36_boletim_graos_setembro_2017.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2017.

CTSBF, Comissão Técnica Sul-Brasileira de Feijão. **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira**. Florianópolis, 2012. 157 p. Disponível em: <<http://www.epagri.sc.gov.br/wpcontent/uploads-/2013/10/informacoestecnicascultivo-feijao.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

DA SILVA, Fátima Osmira; WANDER, Elenor Alcido. **O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro**. Santo Antônio de Goiás, 2013. 63 p. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/transferencia-/informacoestecnicas/publicacoesonline/seriedocumentos287.pdf>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, Kirk L; FENNEMA, Owen R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p. ISBN 9788536322483.

DAWLEY, Ruthellen M.; FLURKEY, Willian H. 4- hexylresorcinol, a potent inhibitor of mushroom tyrosinase. **Journal of food science**, v. 58, n. 3, p. 1069–110, maio 1993. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1993.tb04336.x/abstract>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

ELSADR, Hanny T. et al. Characterization of seed coat post harvest darkening in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Saskatoon, v. 123, n. 8, p. 1467–1472, Dezembro 2011. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00122-011-1683-8?no-access=true>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

FANCELLI, Luiz Antônio; DOURADO NETO, Durval. **Produção de feijão**. Piracicaba: Livroceres, 2007. 386 p.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT**. 2014. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/data/QC/visualize>>. Acesso em: 05 nov. 2018.

FENNEMA, Owen R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 2000. 1258 p.

FILHO, Adriano Azevedo. **Análise de distribuição**. 2017. Disponível em: <<https://rstudiopubsstatic.s3.amazonaws.com/726375475113c48254b968c9999c3ab35f1fe.html>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

HACISALIHOGU, Gokhan; LARBI, Bismark; SETTLES, Mark A. Near-infrared reflectance spectroscopy predicts protein, starch, and seed weight in intact seeds of

common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 2, p. 702–706, Dezembro 2009. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9019294>>. Acesso em: 15 nov. 2017.

HIKEEZI, Doreen M. et al. Polyphenol oxidase activity in white tanplant-type sorghums: An important determinant of the relatively dark colour of their porridges. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 5, p. 941–946, maio 2013. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijfs.12045/full>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

IBGE, Instituto Brasileiro de Georeferencia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - setembro 2017**. 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

INSTRUÇÃO Normativa no 12, de 28 de março de 2008. Regulamento técnico do feijão. Brasília, 2008. Disponível em: <<http://www.cidasc.sc.gov.br/classificacao/files/2012/08/INM00000012.pdf>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

ISHIMOTO, Masao; CHRISPEELS, Maarten J. Protective mechanism of the mexican bean weevil against high levels of alpha-amylase inhibitor in the common bean. **Plant Physiology**, v. 111, n. 2, p. 393–401, 1996. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC157848/pdf/1110393.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

KNIEVEL, Donna C. Junk ; VANDENBERG, Albert; BETT, Kirstin E. An accelerated postharvest seed-coat darkening protocol for pinto beans grown across different environments. **Crop science**, v. 47, n. 2, p. 694–700, 2007. Disponível em: <<https://dl.sciencesocieties.org/publications/cs/abstracts/47/2/694?access=0view=pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

KRÄHMER, Andrea et al. Fast and neat – determination of biochemical quality parameters in cocoa using near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 181, p. 152–159, agosto 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615002745>> Acesso em: 13 nov. 2017.

KUHN, Max; JOHNSON, Kjell. **Applied Predictive Modeling**. New York: Springer, 2013. 600 p. ISBN 978-1461468486.

MANLEY, Marena. Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials. **Chemical Society Reviews**, n. 43, p. 8200–8214, 2014. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2014/CS/C4CS00062E>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

MARCOS FILHO, Júlio. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. **ABRATES**. Londrina, p. 659. ISBN 978-85-64895-03-4.

MAYER, Alfred M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? a review. **Phytochemistry**, v. 67, n. 21, p. 2318–2331, novembro 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942206004560?via3Dihub>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

MEIRA, Carlos Renato Bastos; SOUSA, Matheus Rodrigues Alves. **Conjuntura agropecuária do feijão**. 2015. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos-/150709162014conjunturaagropecuariadofeijao-junho2015.pdf>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

MESQUITA, Fabrício Rivelli et al. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): Composição química e digestibilidade proteica. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 3, n. 4, p. 1114–1121, 2007. ISSN 1413-7054. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v31n4/26.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

MONTOYA Carlos A. et al. Susceptibility of phaseolin to in vitro proteolysis is highly variable across common bean varieties (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 6, p. 2183–2191, fevereiro 2008. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf072576e>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

MONTOYA, Carlos A. et al. In vitro and in vivo protein hydrolysis of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) genetically modified to express different phaseolin types. **Food chemistry**, v. 106, n. 3, p. 1225–1233, fevereiro 2008b. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607007005>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artme, 2011. 1304 p. ISBN 9788536324180.

PARK, Sei Joon; KIM, Tae Wan; BAIK, Byung Kee. Relationship between proportion and composition of albumins, and in vitro protein digestibility of raw and cooked pea seeds (*Pisum sativum* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 10, p. 1719–1725, maio 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.4007/full>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

PINHEIRO, Carla et al. Diversity of seed mineral composition of *Phaseolus vulgaris* L. germplasm. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 319–325, 2010. ISSN 0889-1575. Disponível em: <<https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/2699/1/ARTIGO-Pinto20Ricardo.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

RANZAN, Cassiano. **Desenvolvimento de modelos quimiométricos utilizando o algoritmo de otimização colônia de formigas**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/101212/000930612.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

RIBEIRO, J. S.; FERREIRA, M. M. C.; SALVA, T. J. G. Chemometric models for the quantitative descriptive sensory analysis of arabica coffee beverages using near infrared spectroscopy. **Talanta**, v. 83, n. 5, p. 1352– 1358, fevereiro 2011. Disponível em: <<https://ac.els-cdn.com/S0039914010008611/-1-s2.0-S0039914010008611-main.pdf?tid=81517e00ca2d11e78ebe0000aab0f01acdnat=1510768425ef838ae665855b2fe392aa1be69f6f3c>>. Acesso em: 15 nov. 2017.

RIBEIRO, Nerinéia Dalfollo et al. Efeito de períodos de semeadura e das condições de armazenamento sobre a qualidade de grãos de feijão para o cozimento. *Bragantia*, v. 66, n. 1, p. 157 – 163, 2007. ISSN0006-8705. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S000687052007000100019script=sciabstractlng=pt>>. Acesso em: 09 jan.

RIBEIRO, Nerinéia Dalfollo; STORCK, Lindolfo; POERSCH, Nerison Luís. Classificação de lotes comerciais de feijão por meio da claridade do tegumento dos grãos. *Ciência Rural*, v. 38, n. 7, p. 2042 – 2045, 2008. ISSN 0103-8478. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n7/a39v38n7.pdf>>. Acesso em: 09 jan. 2008.

RIOS, Alessandro de Oliveira; ABREU, Celeste Maria Patto de; CORRÊA, Angelita Duarte. Efeitos da época de colheita e do tempo de armazenamento no escurecimento do tegumento de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 3, p. 550–558, 2002. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228594051_Efeitos_da_epoca_de_colheita_e_do_tempo_de_armazenamento_no_escurecimento_do_tegumento_do_feijao_Phaseolus_vulgaris_L>. Acesso em: 13 nov. 2017.

SAEYS, W. et al. Potential for Onsite and Online Analysis of Pig Manure using Visible and Near Infrared Reflectance Spectroscopy. **Biosystems Engineering**, v. 91, n. 4, p. 393 – 402, 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1537511005000838?via%3Dihub>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

SANTOS, Gustavo Alves; SANTOS, Ana Paula dos; KORNDORFER, Gaspar Henrique. Sistema por infravermelho próximo (NIR) para análise de nitrogênio foliar. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 83–90, março 2012. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/viewFile/13201/8351>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

SANTOS, Larissa Rocha dos. **Métodos alternativos para análise rápida de parâmetros de qualidade da soja**. 70 p. - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2017. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2192/1/CM_PPGTA_M_Santos%20%20Larissa%20da%20Rocha%20dos_2017.pdf>. Acesso em 10 dez. 2017.

SCHMUTZ, Jeremy et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature Genetics**, v. 46, n. 7, p. 707–713, julho 2014. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/ng.3008.pdf>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

SHARMA, Preeti; KAUL, Sanjana; DHAR, Manoj K. Can phaseolin patterns help resolve the phaseolus–vigna complex? **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 53, n. 8, p. 1573–1578, dezembro 2006. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10722-005-8522-1>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

SHENK, J. S; Workman, J.J; Westerhaus, M.O. **Application of NIR Spectroscopy to Agricultural Products**, in: Handbook of Near-Infrared Analysis, ed. Burns, D. A; Ciurezak, E. W. New York, 2001.

SIQUEIRA, Beatriz dos Santos. **Desenvolvimento dos fenômenos de escurecimento e endurecimento em feijão carioca: aspectos bioquímicos e tecnológicos**. 125 p. — Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013. Disponível em:

<<https://ppgcta.agro.ufg.br/up/71/o/SIQUEIRADesenvolvementodosfeC3%B4menosdeescurecimenBEATRIZtoendurecimentoenfej%C3%A3ocarioca2013-.pdf>>.

Acesso em: 09 jan. 2018.

SILVA, Graciele Simoneti da. **Controle genético do escurecimento precoce de grão de feijão tipo carioca**. 52 p. — Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007. Disponível em:

<http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/4314/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Controle%20gen%C3%A9tico%20do%20escurecimento%20precoce%20de%20gr%C3%A3os%20de%20fej%C3%A3o%20tipo%20carioca.pdf>. Acesso em: 09 jan. 2018.

SIQUEIRA, Beatriz S. et al. Analyses of technological and biochemical parameters related to the HTC phenomenon in carioca bean genotypes by the use of PCA. **LWT - Food Science and Technology**, n. 65, p. 939 – 945, 2016. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication-/283980581AnalysesoftechnologicalandbiochemicalparametersrelatedtotheHTCphenomenonincariocabeangenotypesbytheuseofPCA>>. Acesso em: 09 jan. 2018.

SNAK, Cristiane; MIOTTO, Silvia Teresinha Sfoggia; GOLDENBERG, Renato. *Phaseolinae (leguminosae, papilionoideae, phaseoleae)* no estado do Paraná, Brasil. *Rodriguésia*, v. 62, n. 3, p. 695–716, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rod/v62n3/2175-7860-rod-62-03-0695.pdf>>. Acesso em: 15 nov. 2017.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. v. 1, p. 9 – 19, 2007. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication-/283920514DefesadeplantasSinalizacaouimicaeespeciesreativasdeoxigenio>>. Acesso em: 09 jan. 2018.

TROPICOS. ***!Phaseolus vulgaris* L.** 2017. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/13031753>>. Acesso em: 15 nov. 2017.

VAUGHN, Kevin C.; LAX, Alan R.; DUKE, Stephen O. Polyphenol oxidase: the chloroplast oxidase with no established function. **Physiologia Plantarum**, v. 72, n. 3,

p. 659–665, março 1988. Disponível em:
<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.1988.tb09180.x/abstract>>.
Acesso em: 13 nov. 2017.

WHITEHEAD, Charles S.; SWARDT, G. H. de. Extraction and activity of polyphenoloxidase and peroxidase from senescing leaves of *Protea neriifolia*. **South African Journal of Botany**, v. 1, n. 4, p. 127–130, junho 1982. Disponível em:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022461816301619>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

XIAOBO, Zou et al. Variables selection methods in Near Infrared Spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 667, n. 1–2, p. 14–32, maio 2010. Disponível em:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267010003582>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

ZEAITER, M.; ROGER, Jean Michel; BELLON MAUREL, Veronique. Robustness of models developed by multivariate calibration: Part II: The influence of pre-processing methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 5, p. 437–445, 2005. Disponível em:
<<https://www.researchgate.net/publication-/244360712RobustnessofModelsDevelopedbyMultivariateCalibrationPartIITheInfluenceofPre-processingMethods>>. Acesso em: 06 jan. 2018.