

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

LUCAS SARTOR MAYER

**QUANTIFICAÇÃO PROTÉICA DE GRÃOS DE FEIJÃO POR MEIO DA
TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO
(FT-NIRS)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2019

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

LUCAS SARTOR MAYER

**QUANTIFICAÇÃO PROTÉICA DE GRÃOS DE FEIJÃO POR MEIO DA
TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO
(FT-NIRS)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**PATO BRANCO
2019**

LUCAS SARTOR MAYER

**QUANTIFICAÇÃO PROTÉICA DE GRÃOS DE FEIJÃO POR MEIO DA
TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO
(FT-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

Coorientador: Dr.^a Cíntia Boeira Batista Lafay

PATO BRANCO

2019

Mayer, Lucas Sartor

Quantificação protéica de grãos de feijão por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo (FT-NIRS) / Lucas Sartor Mayer.

Pato Branco. UTFPR, 2019

41 f. : il. ; 30 cm

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

Coorientador: 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. 37 – 39

1. Agronomia. 2. Predição de proteínas, Granulometria. *Phaseolus vulgaris*. I. Finatto, Taciane, orient. II. Lafay, Cíntia Boeira Batista, coorient. III. 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

**QUANTIFICAÇÃO PROTÉICA DE GRÃOS DE FEIJÃO POR MEIO DA TÉCNICA
DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (FT-NIRS)**

por

LUCAS SARTOR MAYER

Monografia apresentada 08 horas 00 min. do dia 02 de dezembro de 2019 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:

Dr.^a Cíntia Boeira Batista Lafay
UTFPR Câmpus Pato Branco

Dr.^a Andressa Pilonetto
UTFPR Câmpus Pato Branco

Prof.^a Dr.^a Taciane Finatto
UTFPR Câmpus Pato Branco
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 à minha família.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a minha professora Dra. Taciane Finatto, por me acolher e prestar todo o apoio necessário à realização deste trabalho, por suas orientações e conhecimentos, amizade e paciência.

Aos meus pais Maria Claracy Sartor, Clovis Francisco Mayer pelo apoio prestado ao longo de todos estes anos, pela paciência e colaboração.

A minha namorada, amiga e companheira Vacilania Pacheco, pelas inúmeras horas de ajuda e dedicação e colaboração, pelo carinho e paciência.

Ao meu irmão Rodrigo Sartor Mayer pelo apoio e pela confiança.

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

A todos meus amigos que de alguma forma contribuíram e se fizeram presentes em toda minha jornada acadêmica.

E a todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram para a minha formação acadêmica, social e pessoal.

Muito Obrigado!

“O assunto mais importante do mundo pode ser simplificado até ao ponto em que todos possam apreciá-lo e compreendê-lo. Isso é – ou deveria ser – a mais elevada forma de arte”.

Charles Chaplin

RESUMO

MAYER, Lucas Sartor. Quantificação protéica de grãos de feijão por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo (FT-NIRS). 41 f. TCC (Curso de Agronomia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2019.

O feijão é uma importante fonte de proteínas. Durante o armazenamento dos grãos de feijão ocorrem modificações na coloração do tegumento e textura dos grãos. Nas cultivares do grupo carioca, as alterações na coloração são mais visíveis, tornando-se escuros devido ao processo de oxidação das proteínas presentes no tegumento, o que pode gerar rejeição por parte dos consumidores. O objetivo do trabalho foi construir um modelo de predição de proteínas do tegumento do feijão utilizando a *Near Infrared Spectroscopy*, (NIRS), com duas granulometrias distintas: farinha e farelo, 10 cultivares de feijão carioca e 7 cultivares de feijão preto. A quantificação total de proteínas foi realizada pelo método de Bradford. As análises de predição foram realizadas em um espectrômetro FT-NIRS. Foram construídos os modelos de calibração e validação empregando os dados espectrais da NIRS e os valores de proteína obtidos por meio da análise de Bradford. Para as amostras de farinha e farelo foram utilizados dois métodos, o *cross validation* e o *test set*, a fim de comparar os dois modelos e avaliar a melhor predição dos teores de proteína. Os modelos foram ajustados por PLS, analisando os seguintes parâmetros estatísticos para *cross validation*: RMSEE e R^2 para calibração e 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. Tais parâmetros auxiliam na redução de erros, implicando em resultados com maior confiabilidade. Os dados referentes a concentração total de proteínas no tegumento dos grãos de feijão, foram submetidos à análise de variância e comparação de médias (Scott-Knott < 5%) pelo software Genes. Houve diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as cultivares de feijão tipo carioca e tipo preto, após o armazenamento por 360 dias, sendo que os genótipos de feijoeiro preto apresentaram valores superiores quando comparados com os do grupo carioca. Tanto a farinha como o farelo apresentaram valores de RPD (Proporção de erro padrão), na validação e na calibração, para o *cross validation*, acima de 2, sendo tais valores aceitáveis para predição. O modelo que se demonstrou mais eficiente para a predição de proteínas no tegumento foi o *cross validation*, com um R^2 superior a 0,80, e a farinha apresentou-se como sendo a granulometria mais eficiente para as análises, devido à homogeneidade das amostras. Houve redução do teor de proteínas nos primeiros 15 dias após armazenamento dos grãos, com um incremento até os 60 dias e uma drástica redução após os 120 dias.

Palavras-chave: Predição de proteínas, Granulometria. *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

MAYER, Lucas Sartor. Protein quantification of bean grains by the near infrared spectroscopy (FT-NIRS) technique. 41 f. TCC (Course of Agronomy) - Federal University of Technology – Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2019.

Beans are an important source of protein. During storage of bean grains changes occur in the integument color and grain texture. In cultivars of the carioca group, the changes in color are more visible, becoming dark due to the oxidation process of proteins present in the integument, which can cause rejection by consumers. The objective of this work was to construct a bean skin protein prediction model using the Near Infrared Spectroscopy (NIRS), with two distinct grain sizes: flour and bran, 10 carioca bean cultivars and 7 black bean cultivars. Total protein quantification was performed by the Bradford method. Prediction analyzes were performed on an FT-NIRS spectrometer. Calibration and validation models were constructed using NIRS spectral data and protein values obtained by Bradford analysis. For the flour and bran samples were used two methods, the cross validation and the test set, in order to compare both models and evaluate the best prediction of protein contents. The models were adjusted by PLS, analyzing the following statistical parameters for cross validation: RMSEE and R^2 for calibration and RMSECV and R^2 for validation. For the test set the statistical parameters evaluated were: RMSEE and R^2 in calibration, RMSEP and R^2 in validation. Such parameters help in reducing errors, resulting in results with greater reliability. Data regarding total protein concentration in the bean grain integument were submitted to analysis of variance and comparison of means (Scott-Knott <5%) by Genes software. There were significant differences ($P < 0.05$) between carioca and black bean cultivars after storage for 360 days, and the black bean genotypes presented higher values when compared to the carioca group. Both flour and bran presented values of RPD (Standard Error Ratio), in validation and calibration, for cross validation, above 2, being these values acceptable for prediction. The most efficient model for protein prediction in the integument was cross validation, with an R^2 greater than 0.80, and flour was the most efficient particle size for analysis due to the homogeneity of the samples. There was a reduction in protein content in the first 15 days after grain storage, with an increase up to 60 days and a drastic reduction after 120 days.

Keywords: Protein prediction. Granulometry. *Phaseolus vulgaris*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Concentração total de proteínas dos grãos, das cultivares de feijão tipo carioca (marrom) e feijão tipo preto (cinza) submetidas a armazenamento por 360 dias. Barras com mesma letra não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.....28
- Figura 2 – Espectros das análises de proteínas totais do tegumento de feijão gerados pelo equipamento FT-NIRS..... 29
- Figura 3 – Comparações gráficas entre os valores de referência/calibração e os valores previstos pelo NIRS do conjunto de validação para farelo de grãos de feijão tipo carioca e preto. (A) calibração modelo *cross validation*; (B) validação modelo *cross validation*; (C) calibração modelo *test set*; (D) validação modelo *test set*.....30
- Figura 4 – Comparações gráficas entre os valores de referência/calibração e os valores previstos pelo NIRS do conjunto de validação para farinha de grãos de feijão tipo carioca e preto. (A) calibração modelo *cross validation*; (B) validação modelo *cross validation*; (C) calibração modelo *test set*; (D) validação modelo *test set*.....32
- Figura 5 – Histograma representando o número de amostras avaliadas com X concentração de proteína total em grãos (mg g^{-1}), das cultivares de feijão tipo carioca e tipo preto submetidas a armazenamento por 0, 15, 30, 60, 120 e 360 dias.....33
- Figura 6 – Níveis de concentração total de proteínas em grãos (mg g^{-1}), das cultivares de feijão tipo carioca BRS Estilo, BRS MG Madrepérola, BRS Pérola, BRS Requite, BRS Tangara, IAC Imperador, IAC Milênio e TAA Dama, submetidas a armazenamento por 0, 15, 30, 60, 120 e 360 dias..... 34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Regiões espectrais (cm^{-1}) utilizadas pela NIRS (*Near Infrared Spectroscopy*) para construir modelos de predição para concentração total de proteínas (mg g^{-1}) em farinha e farelo de grãos de feijão. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.....27
- Tabela 2 – Dados estatísticos para o conjunto de calibração e validação dos modelos *cross validation* e *test set* para farelo de grãos de feijão tipo carioca e preto. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019..... 30
- Tabela 3 – Dados estatísticos para o conjunto de calibração e validação dos modelos *cross validation* e *test set* para farinha de grãos de feijão tipo carioca e preto. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019..... 31

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

BSA	Albumina de soro bovina
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
NIRS	<i>Near infrared spectroscopy</i> - Espectroscopia de infravermelho na região do próximo
PLS	<i>Partial least squares</i> - regressão por mínimos quadrados parciais
POLITEC	Polo de Tecnologia do Sudoeste
R ²	<i>Coefficient of Multiple Determination</i> – Coeficiente de determinação múltipla
RMSECV	<i>Root Mean Square Error of cross validation</i>
RPD	<i>Ratio of standard error of Performance to standard Deviation</i> – Proporção de erro padrão de desempenho para desvio padrão
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i> – Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Unidade de temperatura – graus Celsius
cm ⁻¹	Unidade de comprimento – centímetro (s)
g	Unidade de massa – grama (s)
M	Unidade de massa – molar
min.	Unidade de tempo – minuto (s)
MF	Matéria fresca
mg	Unidade de massa – miligrama (s)
mL	Unidade de volume – mililitro (s)
NL ₂	Nitrogênio líquido
nm	Unidade de comprimento – nanômetro (s)
pH	Potencial hidrogeniônico
rpm	Unidade de velocidade – rotações por minuto
µL	Unidade de volume – microlitro (s)
µg g ⁻¹	Unidade de concentração – micrograma (s) por grama (s)
UV	Unidade de comprimento de onda - ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Registrado
%	Percentual
α	Primeira letra do alfabeto grego - alfa
-	Unidade matemática – negativo (s)
°	Unidade de medida – temperatura

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 GERAL.....	17
2.2 ESPECÍFICOS.....	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1 O CULTIVO DE <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	18
3.2 ORIGEM DO FEIJÃO.....	18
3.3 COMPOSIÇÃO PROTEICA DO FEIJÃO.....	19
3.4 TESTE DE REFERÊNCIA BRADFORD.....	21
3.5 ESPECTROSCOPIA DE REFLETÂNCIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS).....	21
3.6 GERAÇÃO DE RESÍDUOS QUÍMICOS.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 ANÁLISE DE REFERÊNCIA.....	25
4.2 ANÁLISE DE PREDIÇÃO.....	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
6 CONCLUSÕES.....	35
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é representante da classe Dicotiledônea, família *Leguminosae* e gênero *Phaseolus*. Atualmente é cultivado em 100 países, com destaque para Brasil, maior produtor, e para Myanmar (Índia) como o segundo maior produtor (FAO, 2016).

O feijão desempenha um papel fundamental na nutrição humana, especialmente em locais do globo terrestre em que o consumo de proteína animal é escasso, principalmente à população de baixa renda, e aos novos estilos de alimentação vegetariana e vegana. O consumo de leguminosas está associado a diminuição ao risco de doença coronariana, diabetes tipo II e obesidade. Em geral, os legumes são boas fontes de carboidratos de liberação lenta e são ricos em proteínas, fibras alimentares, vitaminas e minerais, como o ferro (FRASSINETTI *et al.*, 2015).

O feijão contém quantidades significativas de compostos polifenólicos, tais como ácidos fenólicos, flavonóides e ligninas. Os pigmentos de antocianinas presentes em algumas cultivares de feijão, como a delfinidina e a cianidina, possuem atividades antioxidantes e antirradicais muito fortes (FRASSINETTI *et al.*, 2015).

Novas cultivares de feijão estão sendo criadas, a partir de programas de melhoramento, que visam não somente a alta produtividade e a resistência às pragas e doenças, como também que estas possuam boas características culinárias e maiores teores de proteínas e minerais. As melhorias mais comuns foram a resistência a doenças, como antracnose e ferrugem, algumas outras cultivares apresentaram melhoras nutricionais como alto teor de proteína, ferro e zinco, também, alto rendimento e rápido crescimento (MOJICA; DE MEJÍA, 2015).

A técnica da espectroscopia de infravermelho na região do próximo (FT-NIRS), vem sendo empregada com grande frequência na área alimentícia. Quando associado os dados espectrais gerados na FT- NIRS e outros parâmetros físico-químicos, orgânicos, entre outros, por meio de ferramentas quimiométricas, é possível a identificação e quantificação de compostos orgânicos. Contudo, a

construção dos modelos de calibração e validação requer um método de referência (GONTIJO NETO *et al.*, 2009).

Segundo Gonjito Neto *et al.* (2009), a FT-NIRS quando associado ao método de calibração multivariada (PLS), é uma opção viável para a determinação do teor de proteína total na cultura do milho. O método apresenta algumas vantagens quando comparado com os métodos tradicionais, tais como, facilidade de manipulação, é uma técnica não destrutiva, tempo de preparo e análise reduzidos, além de não gerar resíduos na análise e na preparação das amostras, o que acarreta um baixo custo por análise, tornando-o de grande importância para programas de melhoramento genético. Desta forma, a aplicação da técnica FT-NIRS para a cultura do feijão, torna-se um assunto de relevância para a comunidade científica e de grande valia para a agricultura.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Construir um modelo de predição de quantificação de proteínas do tegumento e grão inteiro do feijão utilizando a técnica de FT-NIRS, com duas granulometrias distintas: farinha e farelo.

2.2 ESPECÍFICOS

- Obter grãos de feijão de diferentes cultivares coletadas em diferentes tempos de armazenamento e sob diferentes condições de cultivo.
- Determinar a concentração de proteína total no tegumento e no endosperma pelo método de Bradford.
- Construir modelos de calibração e validação.
- Avaliar os modelos obtidos por meio de ferramentas estatísticas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O CULTIVO DE *PHASEOLUS VULGARIS* L.

O feijoeiro comum, *Phaseolus vulgaris* L., pertence à classe *Dicotyledoneae*, família *Fabaceae*, tribo *Phaseoleae*, subfamília *Papilionoideae*. As plantas cultivadas são herbáceas anuais, com hábito de crescimento determinado ou indeterminado (GRAHAM; RANALLI, 1997). O feijão é uma das leguminosas com maior importância na alimentação mundial, com produtividade de aproximadamente 12 milhões de toneladas por ano. Os países que compõem a América Latina e a região situada ao sul do deserto do Saara (África), são os líderes de produção (BELLUCCI *et al.*, 2014).

As leguminosas são consideradas como fonte de nutrientes e proteínas, e também reconhecidas como “carne de pobre”. Isto porque o teor de proteína no feijão, combinado com o teor de proteínas do cereal arroz, é aproximadamente igual ao da carne bovina; dependendo de cada cereal a diferença pode variar de 20 a 30% (GENOVESE; LAJOLO, 2001; DE ALMEIDA COSTA *et al.*, 2006).

A combinação de grãos ricos em proteínas e cereais parece ser a melhor estratégia para combater a desnutrição, o que mostra sua importância para o consumo em países subdesenvolvidos, onde a desnutrição representa um grande problema nutricional (HAYAT *et al.*, 2013). Em alguns locais do sul do Brasil e na Argentina, o feijão é cultivado com baixa tecnologia, e muitas vezes não se aplica os insumos na dose que a cultura necessita, conseqüentemente o rendimento é menor (GRAHAM; RANALLI, 1997).

3.2 ORIGEM DO FEIJÃO

A hipótese mais aceita sobre a origem do feijoeiro é que a planta é originária da região das encostas nos Andes, ao norte do Peru e Equador, local onde se deu a dispersão das sementes para o norte e sul desta região, América Central e

América do Sul, que resultaram nos *pools* gênicos mesoamericano e andino (BELLUCCI *et al.*, 2014).

Bitocchi *et al.* (2012) demonstram evidências de uma origem mexicana do feijoeiro, o que é compatível com a distribuição conhecida da maioria dos parentais de *Phaseolus vulgaris*. Assim, os *pools* gênicos da América do Sul tiveram origem através de diferentes eventos de migração das populações do México central.

A domesticação é um processo complexo que modifica partes de uma planta selvagem tornando a uma cultura. No feijoeiro comum, ocorreram várias alterações morfológicas e fisiológicas, como diferenças no hábito de crescimento, dormência de sementes, sensibilidade ao fotoperíodo, forma, cor e tamanho. Estas alterações estruturais são compartilhadas entre a maioria das espécies de culturas, e denominadas síndrome de domesticação, o que as tornam geneticamente diferentes de seus ancestrais selvagens e conferem melhor adaptação a diferentes agroecossistemas (GEPTS; PAPA, 2002).

3.3 COMPOSIÇÃO PROTEICA DO FEIJÃO

As sementes de feijão têm sua composição influenciada por fatores ambientais e genéticos. As características relacionadas a qualidade nutricional das sementes são alvos de melhoria através de cruzamentos. As técnicas que medem a composição das sementes do feijão são, em geral, destrutivas e que exigem um grande volume de amostras de sementes (HACISALIHOGU; LARBI; setTLES, 2009).

O feijão contém uma ampla diversidade de fitoquímicos, antioxidantes, flavonoides, antocianinas, proantocianidinas, flavonóis, ácidos fenólicos e isoflavonas (HAYAT *et al.*, 2013). Aproximadamente 16 a 33% do feijão é constituído de proteínas e seu principal constituinte são os carboidratos (HERMIDA; RODRIGUEZ; RODRIGUEZ-OTERO, 2006). As proteínas possuem diversas funções em nosso organismo.

Com base em sua função, as proteínas podem ser classificadas como: de armazenamento, de metabolismo de carboidratos, de defesa, de resposta ao

estresse, de desintoxicação, de crescimento e desenvolvimento, de transporte de proteína e de metabolismo de nitrogênio (HERMIDA; RODRIGUEZ; RODRIGUEZ-OTERO, 2006).

As proteínas presentes em maior quantidade no feijão são as globulinas, que consistem em 50 a 70% do total de proteínas, classificadas em 7S e 11S (TANG; SUN, 2011a). As proteínas 7S referem-se a faseolina, uma glicoproteína que contém açúcares neutros e é responsável por cerca de 40 a 50% do total de nitrogênio presente na semente. Estas apresentam força iônica e equilíbrio de dissociações dependentes do pH, enquanto as proteínas 11S referem-se a fração da globulina, que consiste em apenas 10% do total de nitrogênio na semente, e é menos suscetível à dissociação (TANG; SUN, 2011b).

As Lectinas constituem cerca de 10 a 12% do total de proteínas no feijão, são elas: lectina verdadeira, fitohemaglutininas, inibidores de α -amilase e arcelinas. Lectinas são inibidores de α -amilase e de arcelinas em plantas, atuando em mecanismos de defesa do estresse biótico e em resposta ao estresse hídrico, salinização e fermentos, porém elas são termossensíveis e são inativadas com o processo de cozimento (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2009).

No grão de feijão ainda estão presentes a prolamina, responsável por 2 a 4% do teor de nitrogênio da semente, e o conjunto de aminoácidos livres, representando 5 a 9% do teor de nitrogênio (HAYAT *et al.*, 2013). Na literatura científica não há relatos sobre a composição química apenas do tegumento do grão de feijão.

Os grãos devem ser cozidos para tornar as sementes palatáveis, inativar os antinutrientes lábeis ao calor e permitir a digestão e a assimilação de proteínas e amido. As condições de preparação causam mudanças na estrutura das células que influenciam as preferências e requisitos do consumidor. A cor é a primeira qualidade notada pelo consumidor, e é usada como um indicador para a aceitação ou rejeição de grãos crus e cozidos, representa uma propriedade física fundamental de qualquer alimento, uma vez que tem sido amplamente demonstrado que ela se correlaciona bem com indicadores físicos, químicos e sensoriais da qualidade do produto. As antocianinas são uma classe de flavonoides presentes no tegumento do feijão e responsáveis pela cor preta. Uma vez que as antocianinas são

solúveis em água, elas são facilmente removidas das sementes durante a imersão e o cozimento, e o produto cozido não aparece mais preto, o que afeta a aceitação do consumidor, principalmente para feijões pretos enlatados (MENDOZA *et al.*, 2014). Existem diversos métodos de quantificação de proteínas, o mais usual deles é o método de Bradford (1996).

3.4 TESTE DE REFERÊNCIA BRADFORD

O método de Bradford quantifica o conteúdo de proteínas, em microgramas, é um método bem difundido para determinar o teor de proteína em cervejas e batatas. Devido à sua praticidade, o método de Bradford tem se mostrado eficaz para a análise de baixas concentrações de proteínas (CHANG; ZHANG, 2017).

Este método não é absoluto, pois o teor de proteínas é expresso baseado na proteína padrão, como a albumina de soro bovina (BSA). O método tem como vantagem a exigência de uma pequena quantidade de amostra, porém devido a diferenças na composição das proteínas, ele tem o seu uso limitado (CHANG; ZHANG, 2017).

A proteína se liga ao corante *Coomassie Brilliant Blue G-250*, quando isto acontece o corante que tem a cor avermelhada muda para a cor azul, e sua máxima absorção é movida de 465 para 595 nm. Esta mudança se dá na mesma intensidade da concentração de proteínas da amostra. O corante que se liga a proteína muda seu espectro de absorção em relação ao corante não ligado, e a absorbância é medida por espectrofotômetro (CHANG; ZHANG, 2017).

3.5 ESPECTROSCOPIA DE REFLETÂNCIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS)

A NIRS foi descoberta em 1881, após a descoberta da radiação na região próxima do infravermelho. Em 1949 a técnica foi incorporada na indústria alimentícia, para classificar ovos, por Karl Norris da USDA (*United States Department of Agriculture* - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos). Em

1968, a NIRS foi utilizada para determinar umidade e concentração de proteínas em grãos de cereais (ALMEIDA, 2013). Atualmente, é amplamente utilizada para determinação de inúmeros parâmetros em amostras biológicas, uma técnica de alta precisão com cálculos computacionais complexos envolvidos em análises multivariadas. No início dos anos setenta foi possível determinar o teor proteico de alguns alimentos e desde então, esta técnica tem avançado de modo a permitir uma análise simultânea dos mais variados parâmetros como umidade, lipídios, amido e fibra (GOUVEIA, 2013).

A NIRS tem se mostrado uma técnica de análise rápida, com pouca necessidade, ou nenhuma, de preparo da amostra, o que dispensa o uso de reagentes químicos, tornando-o muito eficaz para determinação dos componentes em alimentos (HERMIDA; RODRIGUEZ; RODRIGUEZ-OTERO, 2006).

Análises não destrutivas são possíveis de serem realizadas em frutas, vegetais e grãos, com o auxílio da NIRS, o que as torna de baixo custo. Contudo, para análises de sementes de feijão as amostras devem ser trituradas com intuito de se obter homogeneidade na amostra (HACISALIHOGU; LARBI; setTLES, 2009).

As vantagens da técnica NIRS em comparação com métodos laboratoriais comuns são: velocidade de análise, nenhuma/pouca necessidade de preparação da amostra, baixo custo por teste, análise de múltiplos constituintes, requisitos de tamanho de amostra pequena, não destrutiva (MENDOZA *et al.*, 2014).

Hermida, Rodriguez, e Rodriguez-Otero (2006), desenvolveram com sucesso, modelos de calibração para estimar níveis de umidade, proteína, amido, gordura e peso de semente.

Os modelos de calibração dependem dos espectros gerados na NIRS. Algoritmos podem ser usados de modo a reduzir a complexidade dos modelos de calibração, tornando-os mais lineares e simples possíveis (GOUVEIA, 2013). A calibração é o processo pelo qual se relacionam as amostras lidas pelo espectrofotômetro com as amostras de referência, realizadas em laboratório (ZEAITER; ROGER, 2005).

Os constituintes orgânicos, como as proteínas, são muito complexos, e assim geram vários picos de absorbância no espectro da NIRS, este fato faz com que sejam necessárias análises de regressão multivariadas, conhecidas como

ferramentas quimiométricas, a fim de auxiliar na construção dos modelos de calibração (HACISALIHOGU; LARBI; setTLES, 2009).

A quimiometria utiliza métodos estatísticos e matemáticos para organizar e melhorar um conjunto de dados de mais de uma variável ao mesmo tempo, correlacionando-as (BARROS NETO; SCARMINIO; BURNS, 2006).

O pré-processamento dos dados é uma etapa de suma importância, pois melhora a condição do conjunto de dados para a análise, e pode-se reduzir o número de variáveis utilizadas, tornando assim o modelo menos complexo (MANLEY, 2014).

A regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), é o mais comum método multivariado que a NIRS utiliza, neste método os dados são processados de forma direta e as variáveis latentes são extraídas do modelo, tendo como objetivo determinar a linearidade entre as variáveis (KUHN; JOHNSON, 2013).

A validação cruzada (*cross validation*) e o (*test set*) são duas metodologias distintas que podem ser usadas na construção dos modelos (ZEAITER; ROGER, 2005).

O *cross validation* se baseia na habilidade de previsão de um modelo construído por parte de um conjunto de dados seguido pela previsão do restante do conjunto de dados, que é realizada pelo modelo construído. Um número determinado de amostras é deixado de fora no processo de construção do modelo e a seguir essas amostras são previstas pelo modelo construído, ou ainda por um caso conhecido como "*leave one out*" (deixe um fora), onde uma amostra é deixada de fora no processo de construção do modelo e a seguir essa amostra é prevista pelo modelo construído. O *test set* por sua vez utiliza 70% das amostras para a calibração, ou seja, para a previsão dos resultados e os 30% restantes para a validação. Em ambos os casos, o processo é repetido até que todas as amostras tenham sido previstas e a raiz quadrada da soma do quadrado dos erros da validação cruzada (RMSECV – *Root Mean Square Error of cross validation*) é calculada (VALDERRAMA, 2015).

A porcentagem de variância entre os valores verdadeiros, valores de referência, com os valores preditos é denominada de coeficiente de determinação, expressa como sendo o R^2 . O R^2 descreve como os pontos de dados se encaixam

no modelo estatístico. Quanto maior for o valor de R^2 (varia de 0 a 1), mais próximo de 100%, ou seja, mais os valores preditos se aproximam dos valores verdadeiros, indicando o ajuste do modelo (BRUKER, 2006; XIAOBO *et al.*, 2010).

Os indicadores utilizados para a validação por *test set* e *cross validation* são: Rank, RPD (*Ratio of standard error of Performance to standard Deviation* – Proporção de erro padrão de desempenho para desvio padrão), R^2 (*Coefficient of Multiple Determination* – Coeficiente de determinação múltipla) (BRUKER, 2006; XIAOBO *et al.*, 2010). A técnica NIRS consome apenas energia elétrica para as análises, evitando assim a geração dos resíduos químicos dos laboratórios.

3.6 GERAÇÃO DE RESÍDUOS QUÍMICOS

A Ciência Química trouxe inúmeros benefícios à sociedade. Porém, o seu uso inadequado é relacionado com graves danos e riscos ambientais causados pela geração de resíduos. Os compostos químicos geram uma infinidade de resíduos nas atividades industriais e laboratoriais. Estes resíduos merecem atenção especial devido à sua complexidade (PENATTI; GUIMARÃES; SILVA, 2008).

As instituições de ensino e pesquisa, em quase todas as atividades contribuem para a geração de pequenas quantidades de resíduos, muitos deles altamente tóxicos. Como agravante, na maioria das universidades, o descarte dos resíduos gerados em atividades rotineiras é inexistente, e o descarte inadequado continua a ser praticado. Desta forma, as universidades e instituições de pesquisa apresentam um importante papel no desenvolvimento e implementação de programas e técnicas como a NIRS, visando um melhor aproveitamento das matérias-primas, reduzindo custos, melhorando a rapidez e a eficiência das análises e ainda prevendo múltiplos traços de constituintes e de qualidade simultaneamente.

4 MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no laboratório de Fisiologia Vegetal, na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco e no Laboratório Central de Análises, situado no Polo de Tecnologia do Sudoeste (POLITEC).

Foram utilizadas 10 cultivares de feijão tipo carioca, sendo elas: BRS Estilo, BRS MG Madrepérola, BRS Pérola, BRS Requite, BRS Tangara, IAC Imperador, IAC Milênio, IPR Andorinha, IPR Colibri e TAA Dama; e 7 cultivares de feijão tipo preto: ANFP 110, BRS Campeiro, BRS Esplendor, BRS Esteio, BRS Intrepido, IPR Tuiuiu e IPR Uirapuru.

As amostras das cultivares utilizadas são oriundas de diferentes ambientes e tempos de armazenamento, esta escolha foi feita para representar a variabilidade presente na espécie. As cultivares de feijão carioca BRS Estilo, BRS MG Madrepérola, BRS Pérola, BRS Requite, BRS Tangara, IAC Imperador, IAC Milênio e TAA Dama, foram avaliadas aos 0, 15, 30, 60, 120 e 360 dias de armazenamento. As demais cultivares IPR Andorinha, IPR Colibri (carioca) e ANFP 110, BRS Campeiro, BRS Esplendor, BRS Esteio, BRS Intrepido, IPR Tuiuiu e IPR Uirapuru (preto), as amostras foram avaliadas apenas com 360 dias de armazenamento.

Em cada lote de semente obtido, parte dos grãos foram utilizados para análise de Bradford e parte para a análise em NIRS. Foram construídos dois modelos de predição, sendo um modelo utilizando como referência o grão inteiro (cotilédones e tegumento), e outro apenas para o tegumento. A análise que utiliza apenas o tegumento, visa identificar a flutuação de composição proteica entre cultivares de feijão carioca, pois durante o processo de armazenamento ocorrem modificações enzimáticas que alteram a cor promovendo escurecimento enzimático.

4.1 ANÁLISE DE REFERÊNCIA

Optou-se por utilizar, como referência, o método de Bradford, pelo fato de tal método ser o que apresenta o melhor custo/benefício. Para o procedimento de

quantificação total de proteínas pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), foram descascados, com auxílio de um bisturi cirúrgico, aproximadamente 60 grãos (1 grama de tegumento). As amostras foram maceradas com nitrogênio líquido (NL₂), e em seguida acrescentados 10 mL do tampão fosfato de potássio 0,2M pH 7,5. Uma alíquota de 2,0 mL de solução foi transferida, em triplicata, para microtubos, e centrifugada por 10 min, a uma rotação de 12.000 rpm, a 4°C.

Após centrifugação, foram transferidas 25 µL da solução centrifugada, em adição a 225 µL de solução tampão e 500 µL de reagente de Bradford (Sigma-Aldrich®) para novos microtubos. Após 5 min de reação, foram realizadas leituras em espectrofotômetro, modelo UV-1800 (Shimadzu®), em cubeta de quartzo, no comprimento de onda de 595 nm. A concentração de proteínas na amostra é estimada a partir de uma curva padrão, obtida da análise da absorbância, a 595 nm, de uma solução de albumina de soro bovina (BSA), que é lida como o branco. Os resultados foram expressos em mg de proteína por g de matéria fresca (mg⁻¹ MF).

4.2 ANÁLISE DE PREDIÇÃO

Para as análises de predição, NIRS, foram trituradas amostras de grãos de feijão das diferentes cultivares, em triplicata, em um moinho triturador (Finex®), obtendo 20 g de farinha e 20 g de farelo com peneira de número de mesh 2 mm. As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos e armazenadas em ultra freezer (-80 °C).

As amostras foram mantidas à temperatura ambiente 24 horas antes da leitura no equipamento. As avaliações foram realizadas em um espectrômetro FT-NIRS modelo MPA (*Multi Purpose Analyzer*) da empresa Bruker®. As leituras foram realizadas em triplicata. Para as amostras sólidas de feijão (farinha e farelo), foi utilizada uma resolução óptica de 16 cm⁻¹ e 34 acumulações espectrais usando um suporte para sólidos (vidro de quartzo) com rotação.

A construção de modelos PLS foi executada com o auxílio do software Opus versão 7.2. Foram construídos os modelos de calibração e validação empregando os dados espectrais de NIRS e os valores de proteína obtidos por meio da análise de Bradford. Para as amostras de farinha e farelo foram utilizados dois

métodos, o *cross validation* e o *test set*, a fim de comparar os dois modelos e avaliar a melhor predição dos teores de proteína. Para gerar o modelo de predição utilizou-se a ferramenta matemática da segunda derivada. A construção dos modelos PLS foi realizada com o software que correlaciona todos os resultados obtidos com as análises de referência com os espectros gerados pelo equipamento.

Os modelos foram ajustados por PLS, analisando os seguintes parâmetros estatísticos para *cross validation*: RMSEE e R^2 para calibração e 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. Tais parâmetros auxiliam na redução de erros, implicando em resultados com maior confiabilidade e validação. O modelo foi escolhido por maior R^2 , menor RMSEE e RMSEP, sendo resultado das otimizações obtidas pelo software Opus.

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 1.

Tabela 1 – Regiões espectrais (cm^{-1}) utilizadas pela NIRS (*Near Infrared Spectroscopy*) para construir modelos de predição para concentração total de proteínas (mg g^{-1}) em farinha e farelo de grãos de feijão. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.

CALIBRAÇÃO		
	<i>cross validation</i>	<i>test set</i>
Farinha	9411,7 – 7498,5	9411,7 – 6094,5
Farelo	6109,9 – 5446,4	5461,9 – 4243
VALIDAÇÃO		
	<i>cross validation</i>	<i>test set</i>
Farinha	9411,7 – 7498,5	9411,7 – 7498,5
Farelo	6109,9 – 5446,4	5461,9 – 4613,3

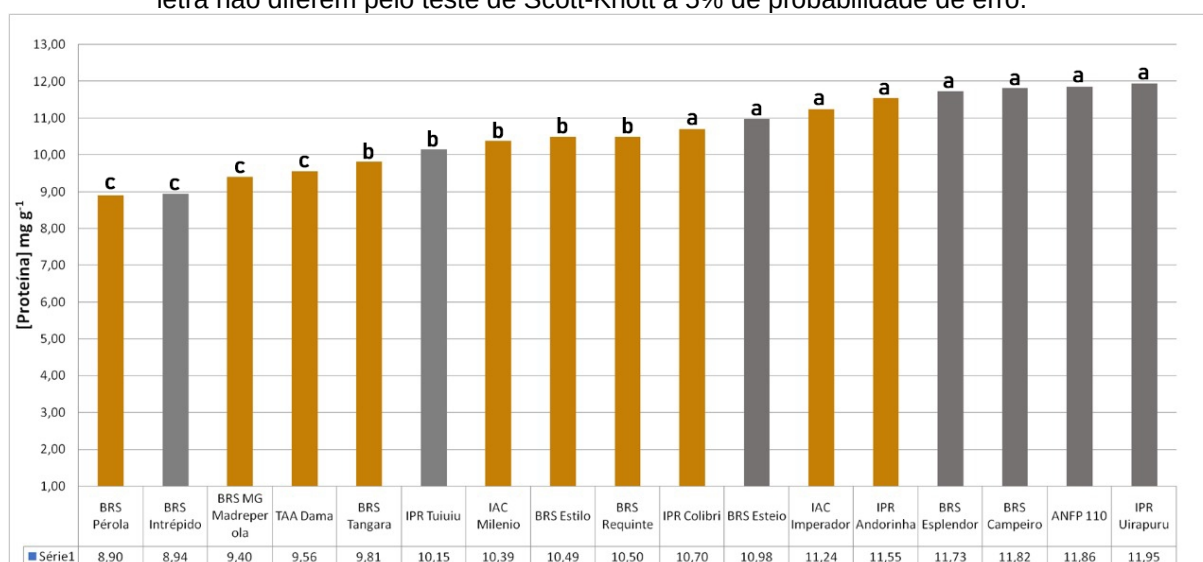
Fonte: Autoria Própria (2019).

Os dados referentes a concentração total de proteínas no tegumento dos grãos de feijão, do tipo carioca e preto, foram submetidos à análise de variância e comparação de médias (Scott-Knott) a 5% de probabilidade de erro pelo software Genes (CRUZ, 1998).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância relativa à concentração total de proteínas (mg g^{-1}) do tegumento dos grãos de feijão revelou que há diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as cultivares de feijão tipo carioca e tipo preto, após o armazenamento por 360 dias (Figura 1). Os genótipos de feijoeiro comum do grupo preto apresentaram valores superiores quando comparados com os genótipos de feijoeiro do grupo carioca.

Figura 1 – Concentração total de proteínas dos grãos, das cultivares de feijão tipo carioca (marrom) e feijão tipo preto (cinza) submetidas a armazenamento por 360 dias. Barras com mesma letra não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

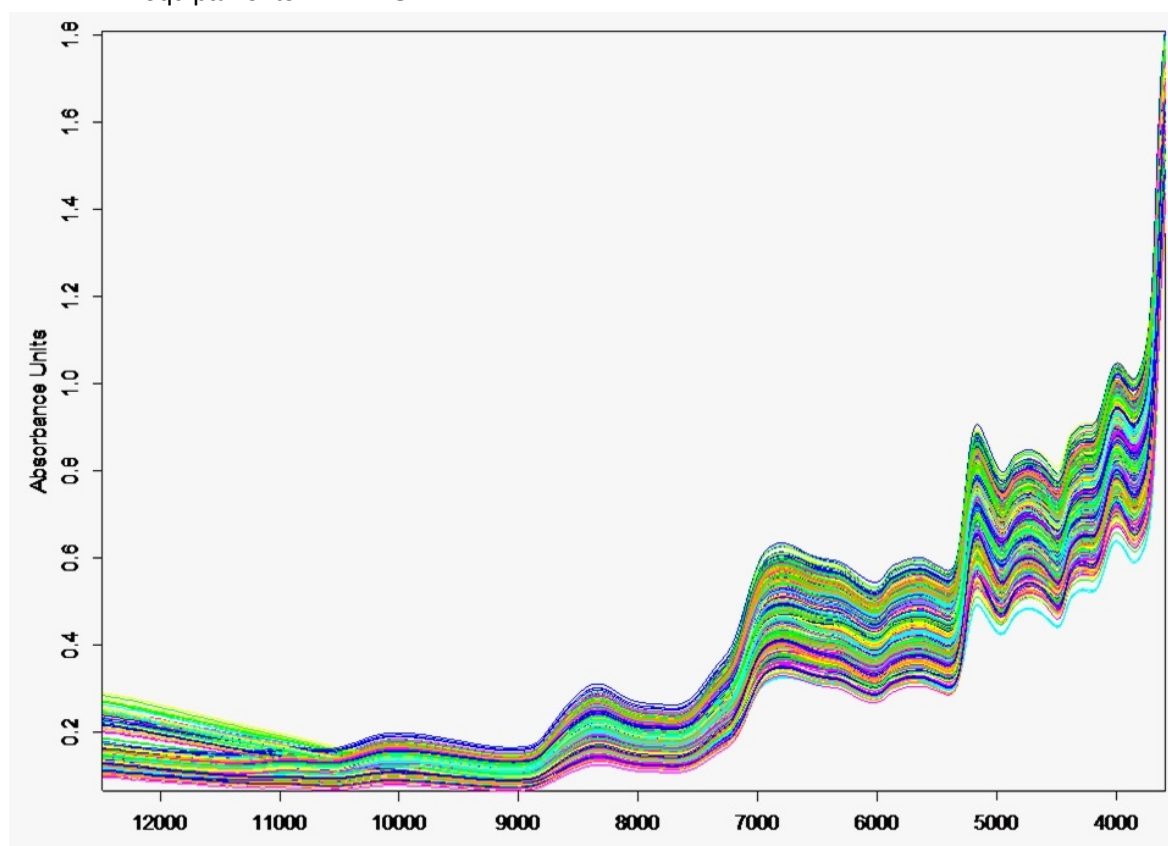


Fonte: Autoria Própria (2019).

Não foram encontradas na literatura científica, avaliações específicas referentes ao conteúdo de proteínas no tegumento, de nenhuma variedade do gênero *Phaseolus*. De maneira geral, os teores de proteínas encontrados no tegumento dos grãos das diferentes cultivares, dentro de seus respectivos grupos (tipo carioca e preto) mostraram pouca diferença. Segundo Thung e Oliveira (1998), isso acontece quando se analisa cultivares de mesma região de cultivo, como é o caso das cultivares estudadas. Além disso, o teor de proteínas, bem como outros nutrientes presentes tanto nas plantas quanto nas sementes de feijoeiro, obtidas com diferentes práticas culturais, são proporcionalmente afetados (EDJE; MUGHOGHO; AYONOADU, 1975; THUNG; OLIVEIRA, 1998; ANDRADE *et al.*, 2004).

Na figura 2 encontram-se os espectros gerados pelo equipamento FT-NIRS referente a concentração de proteínas totais presentes no tegumento de feijão preto e carioca.

Figura 2 – Espectros das análises de proteínas totais do tegumento de feijão gerados pelo equipamento FT-NIRS.



Fonte: Autoria Própria (2019).

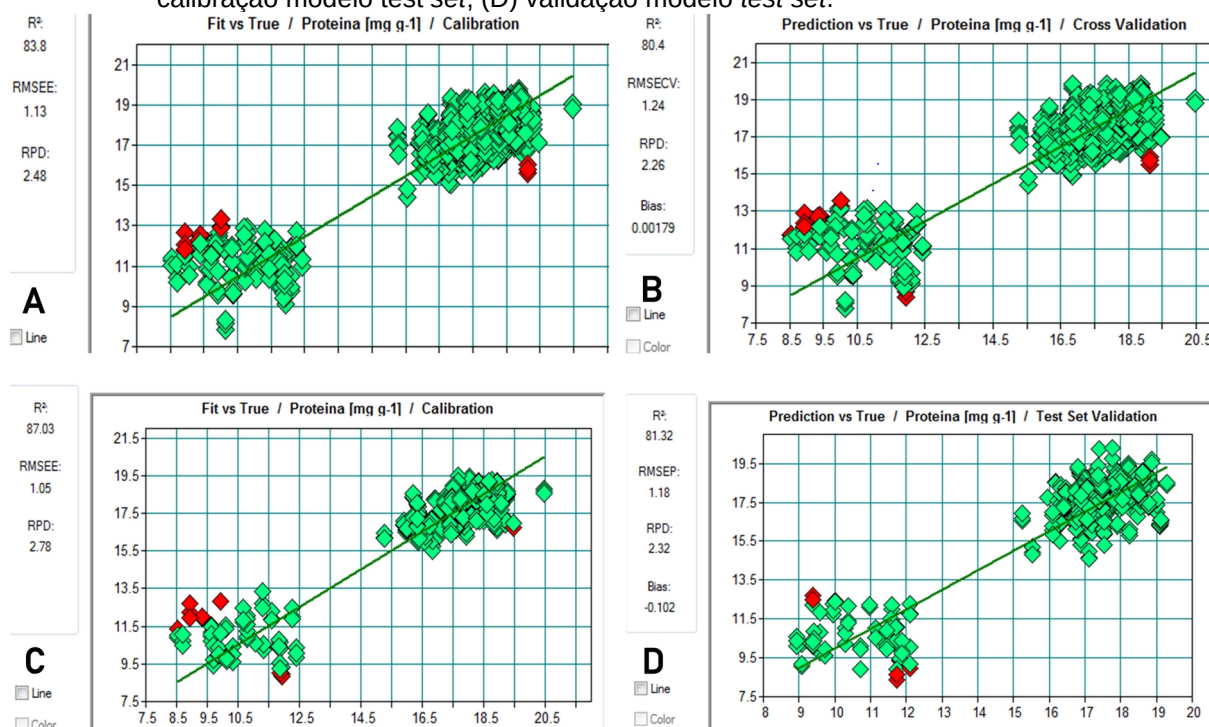
Para as análises do farelo dos grãos de feijão das diferentes cultivares, o modelo de calibração *test set* apresentou um valor de R^2 e RPD superior em relação ao modelo *cross validation*, e valores de RMSEE menor que o modelo de calibração do *cross validation*, o que indica que o modelo *test set* está melhor calibrado que o *cross validation* (Tabela 2, Figura 3). Já para a validação, o modelo de *test set* apresentou maior valor de R^2 e de RPD, e valor de RMSEP menor, sendo assim o melhor modelo de predição para o farelo.

Tabela 2 – Dados estatísticos para o conjunto de calibração e validação dos modelos *cross validation* e *test set* para farelo de grãos de feijão tipo carioca e preto. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.

CALIBRAÇÃO				
Modelo	Bias	RPD	R ²	RMSEE
<i>cross validation</i>	-	2.48	83.80	1.13
<i>test set</i>	-	2.78	87.03	1.05
VALIDAÇÃO				
Modelo	Bias	RPD	R ²	RMSECV/EP
<i>cross validation</i>	0.00179	2.26	80.40	1.24
<i>test set</i>	-0.102	2.32	81.32	1.18

Fonte: Autoria Própria (2019).

Figura 3 – Comparações gráficas entre os valores de referência/calibração e os valores previstos pelo NIRS do conjunto de validação para farelo de grãos de feijão tipo carioca e preto. (A) calibração modelo *cross validation*; (B) validação modelo *cross validation*; (C) calibração modelo *test set*; (D) validação modelo *test set*.



Fonte: Autoria Própria (2019).

Na figura 2 os pontos em verde representam as unidades amostrais e os pontos em vermelho representam as *outliers*, ou pontos que estão fora do padrão amostral; e a linha verde representa a linha de tendência. As amostras do intervalo de tempo de armazenamento de 0, 15, 30, 60 e 120 dias ficaram aglomeradas no

canto direito superior e as amostras do canto esquerdo inferior representam o conjunto amostral submetido a armazenamento por 360 dias. Optou-se por não remover os *outliers* para não reduzir a grandeza amostral, uma vez que a cada *outlier* removido, o software cria outro automaticamente.

Para as análises de farinha dos grãos de feijão das diferentes cultivares, o modelo de calibração *test set* também apresentou um valor de R^2 superior em relação ao modelo *cross validation*. Contudo, apresentou valores de RPD maiores que o modelo de calibração do *cross validation* (Tabela 3, Figura 4). Já para a validação, o modelo *cross validation* apresentou maior valor de R^2 e de RPD. Isso significa que para a farinha o melhor modelo de predição é o *cross validation*.

Segundo Xiaobo *et al.* (2010), o valor ideal para R^2 é próximo de 100%, que é quando os valores preditos se aproximam dos valores verdadeiros.

Tabela 3 – Dados estatísticos para o conjunto de calibração e validação dos modelos *cross validation* e *test set* para farinha de grãos de feijão tipo carioca e preto. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.

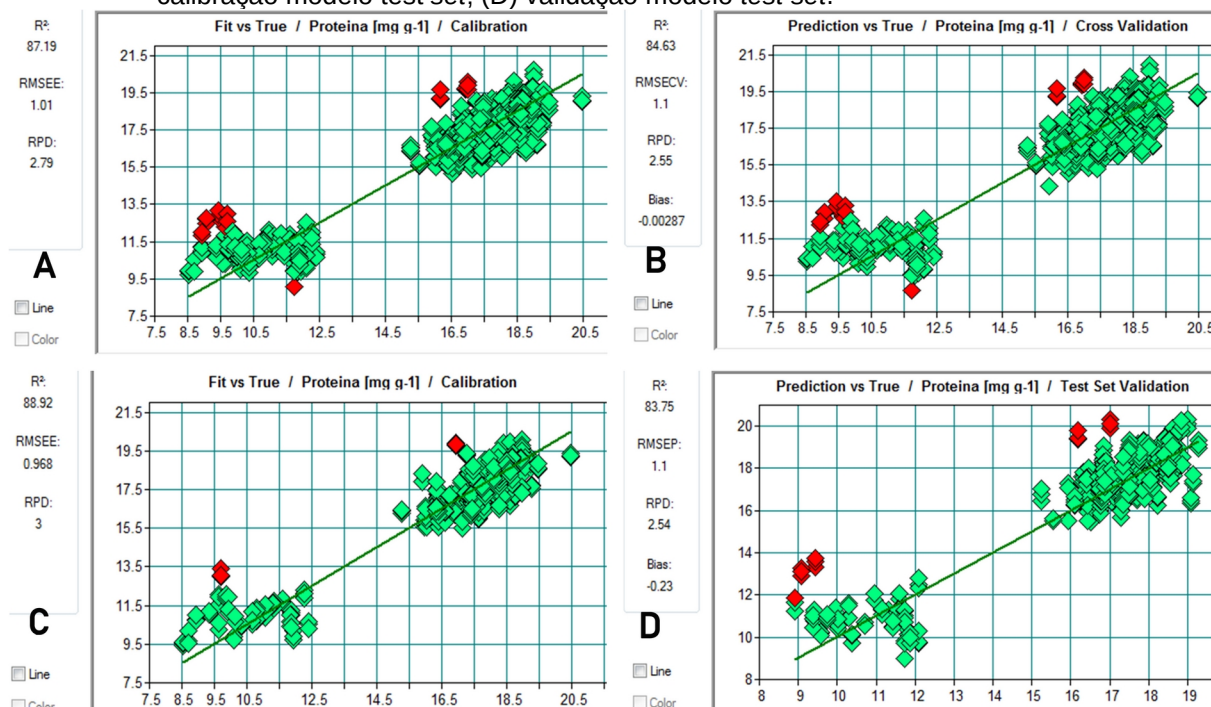
CALIBRAÇÃO				
Modelo	Bias	RPD	R^2	RMSEE
<i>cross validation</i>	-	2.79	87.19	1.01
<i>test set</i>	-	3.00	88.92	0.97
VALIDAÇÃO				
Modelo	Bias	RPD	R^2	RMSECV/EP
<i>cross validation</i>	-0.00287	2.55	84.63	1.1
<i>test set</i>	-0.23	2.54	83.75	1.1

Fonte: Autoria Própria (2019).

Como explicado para a figura 3 (Farelo), na figura 4 (Farinha) os dados foram interpretados e tratados da mesma maneira.

Comparando o modelo de predição *cross validation* da farinha e do farelo, observou-se que a farinha obteve R^2 maior tanto na calibração quanto na validação (87.19; 84.63). Já o farelo alcançou valores inferiores a 84% (83.8 para a calibração e 80.4 na validação). Desta forma, o *cross validation* se apresentou como o melhor modelo de predição para a farinha, pois os resultados de R^2 , na validação foram mais elevados, e o erro na validação (RMSECV) foi menor para farinha (1.1) em comparação ao farelo (1.24).

Figura 4 – Comparações gráficas entre os valores de referência/calibração e os valores previstos pelo NIRS do conjunto de validação para farinha de grãos de feijão tipo carioca e preto. (A) calibração modelo *cross validation*; (B) validação modelo *cross validation*; (C) calibração modelo *test set*; (D) validação modelo *test set*.



Fonte: Autoria Própria (2019).

Tanto a farinha como o farelo apresentaram valores de RPD, na validação e na calibração, para o *cross validation*, acima de 2, sendo tais valores aceitáveis para predição. Por estar mais próximo de 3, na validação, a farinha demonstra ser a melhor granulometria para o desenvolvimento do modelo de predição. Manley (2014), afirma como sendo uma boa classificação valores maiores que 3.0, úteis para o desenvolvimento de modelos de predição.

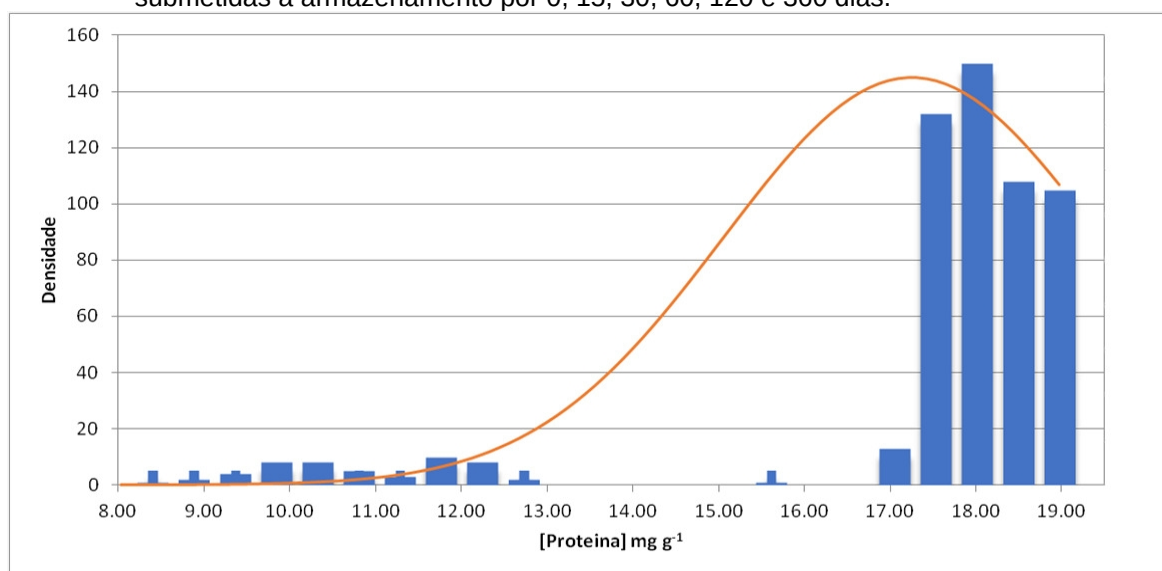
O valor de RPD é um parâmetro muito importante quando se trata de modelos de calibração, pois serve para indicar a precisão da previsão do modelo. Os valores de RPD que variam de 1.5 a 2.0 podem discriminar dos menores aos maiores valores das respostas das variáveis, valores entre 2.5 e 3.0, indicam uma precisão de previsão do modelo e, finalmente, valores acima de 3 indicam uma excelente precisão de previsão (KUMAR, 2015).

De acordo com os resultados apresentados no histograma abaixo (Figura 5), é possível perceber que praticamente não foram obtidas amostras com concentração total de proteínas no intervalo de 13 a 16 mg g⁻¹. As amostras com concentração abaixo de 13 mg g⁻¹ de proteínas são oriundas do tempo de

armazenamento de 360 dias, enquanto as amostras que obtiveram concentração total de proteínas superior a 16 mg g^{-1} são resultantes do intervalo de armazenamento de 0 a 120 dias. Vale ressaltar que neste trabalho nenhuma amostra foi analisada no intervalo de 120 a 360 dias, pois não foram obtidas amostras com este tempo de armazenamento.

O histograma abaixo representa a concentração de proteínas x o número de amostras com tal concentração.

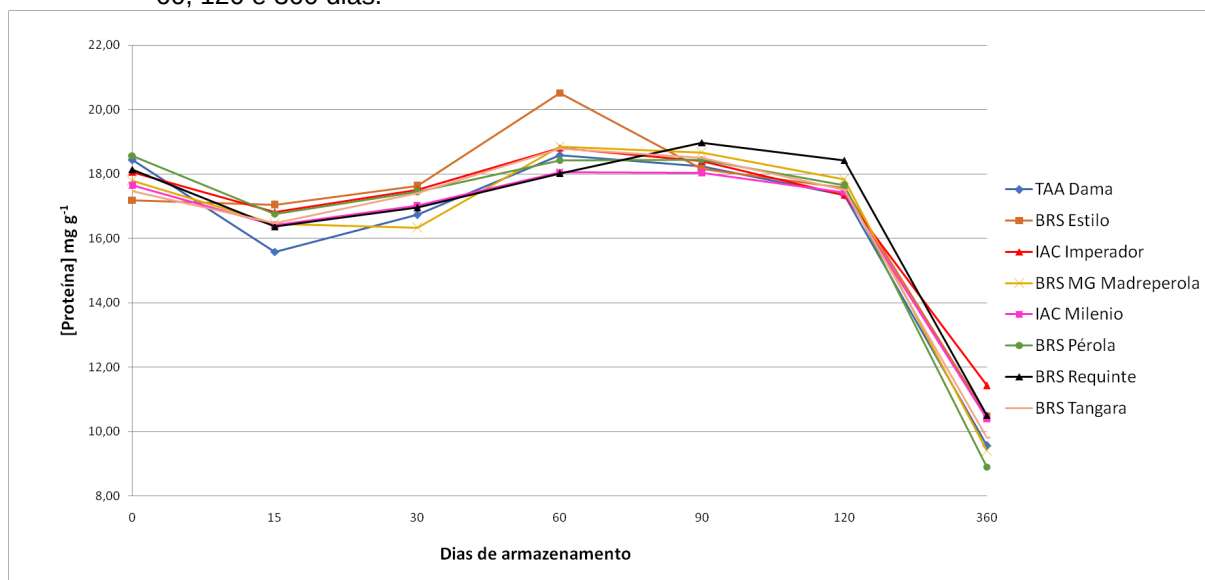
Figura 5 – Histograma representando o número de amostras avaliadas com X concentração de proteína total em grãos (mg g^{-1}), das cultivares de feijão tipo carioca e tipo preto submetidas a armazenamento por 0, 15, 30, 60, 120 e 360 dias.



Fonte: Autoria Própria (2019).

A cultivar BRS Estilo foi a única que apresentou uma concentração total de proteínas acima da média, em relação às demais cultivares, para o tempo de armazenamento 60 dias (Figura 6). É possível observar que a concentração total de proteínas das cultivares apresenta comportamento semelhante, com redução do teor de proteínas nos primeiros 15 dias, apresentando, em seguida, um incremento na concentração (até os 60 dias de armazenamento). Este fato possivelmente está associado ao aumento da atividade enzimática no tegumento durante o armazenamento, independente do genótipo (SIQUEIRA, 2013). Após os 60 dias de armazenamento, a concentração de proteínas se mantém estável até os 120 dias, havendo uma drástica redução, de aproximadamente 45% a 50% do valor inicial de concentração, para todas as cultivares.

Figura 6 – Níveis de concentração total de proteínas em grãos (mg g^{-1}), das cultivares de feijão tipo carioca BRS Estilo, BRS MG Madrepérola, BRS Pérola, BRS Requite, BRS Tangara, IAC Imperador, IAC Milênio e TAA Dama, submetidas a armazenamento por 0, 15, 30, 60, 120 e 360 dias.



Fonte: Autoria Própria (2019).

6 CONCLUSÕES

A técnica espectroscopia no infravermelho próximo (FT_NIRS) associada ao método de calibração multivariada (PLS), demonstrou ser viável para a determinação do teor total de proteínas no tegumento de grãos de feijão do tipo carioca e preto.

De modo geral as cultivares de feijão com tegumento do tipo preto apresentaram valores superiores quando comparadas com as do tipo carioca.

O modelo *cross validation* apresentou maior valor de R^2 (84,63), demonstrando ser o melhor modelo de validação para a farinha. O modelo *test set* apresentou maior R^2 (81,32), demonstrando ser o melhor modelo de validação para o farelo. Por estar mais próximo de 3, o valor para RPD, na validação, a farinha demonstra ser a melhor granulometria para o desenvolvimento do modelo de predição.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por não haver registros na literatura científica, referentes ao foco deste trabalho, novas avaliações e pesquisas englobando variedades do gênero *Phaseolus*, podem trazer grandes avanços quanto ao uso da técnica NIRS na espécie, auxiliando no melhoramento genético, em encontrar diferenças entre as cultivares.

Novas cultivares podem ser inseridas em trabalhos futuros, com diferentes tempos de armazenamento, assim como novas análises de quantificação de proteína, para que o banco de dados seja expandido e os modelos tenham maior precisão de predição do teor de proteína no feijão.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P. B. A. de. Uso da espectroscopia NIR e calibração multivariada para prospecção de oleaginosas quanto as suas características de óleo e proteína. 2013. 47f. Dissertação (**Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - PPGCA**)- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.
- ANDRADE, CA de B. *et al.* Produtividade e qualidade nutricional de cultivares de feijão em diferentes adubações. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 5, p. 1077-1086, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542004000500015>.
- 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: 12 out. 2018.
- BELLUCCI, Elisa *et al.* Genomics of origin, domestication and evolution of *Phaseolus vulgaris*. In: **Genomics of plant genetic resources**. Springer, Dordrecht, 2014. p. 483-507.
- BITOCCHI, Elena *et al.* Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 14, p. E788–E796, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1108973109>.
- 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, 1976.
- BRUKER, Optik GmbH. **OPUS Spectroscopy Software**: User manual quant. 6. ed. 2006.
- CAMPOS-VEGA, Rocio *et al.* Chemical composition and in vitro polysaccharide fermentation of different beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food science**, v. 74, n. 7, p. T59–T65, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01292.x>.
- CHANG, Sam K.C.; ZHANG, Yan. Protein analysis. In: **Food analysis**. Springer, Cham, p. 315–331, 2017.
- CRUZ, Cosme Damião. Programa GENES: Aplicativo Computacional em Estatística Aplicada à Genética (GENES – Software for Experimental Statistics in Genetics). **Genetics and Molecular Biology**: São Paulo, v. 21, n. 1, 1998. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47571998000100022>.
- DE ALMEIDA COSTA, Giovana Ermetice *et al.* Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food chemistry**, v. 94, n. 3, p. 327–330, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.020>.
- DE FIGUEIREDO JARDIM, Wilson. Gerenciamento de resíduos químicos em laboratórios de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 671, 1998.

EDJE, O. T.; MUGHOGHO, L. K.; AYONOADU, U. W. U. Responses of dry beans to varying nitrogen levels. **Agronomy Journal**, Madison, v. 6, n. 2, p. 251-255, 1975.

FRASSINETTI, Stefania *et al.* Antimutagenic and antioxidant activity of a selected lectin-free common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in two cell-based models. **Plant foods for Human nutrition**, v. 70, n. 1, p. 35–41, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11130-014-0453-6>. Acesso em: 20 mai. 2019.

GENOVESE, Maria Inés; LAJOLO, Franco M. Atividade inibitória de tripsina do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): avaliação crítica dos métodos de determinação. **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 51, n. 4, p. 386–394, 2001.

GEPTS, Paul; PAPA, Roberto. Evolution during domestication. **Encyclopedia of life sciences**, p. 1–7, 2002.

GONTIJO NETO, Miguel Marques *et al.* Predição de proteína, matéria seca e fósforo em grãos de milho pela espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo. Embrapa Milho e Sorgo. **Embrapa Milho e Sorgo-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2009. ISSN 1217-1981.

GOUVEIA, Carla Susana Silva. **Avaliação de recursos genéticos agrícolas: análise nutricional e anti-nutricional de variedades regionais de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 107 p., 2013. Tese de Doutorado. Disponível em: <https://digituma.uma.pt/handle/10400.13/497>. Acesso em: 20 mai. 2019.

GRAHAM, Peter. H.; RANALLI, Paolo. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Field Crops Research**, v. 53, n. 1–3, p. 131–146, 1997.

HACISALIHOGU, Gokhan; LARBI, Bismark; setTLES, A. Mark. 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, 2009. DOI: 10.1021/jf9019294.

HAYAT, Imran *et al.* Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 54, n. 5, p. 580–592, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>.

HERMIDA, Mara; RODRIGUEZ, Natalia; RODRIGUEZ-OTERO, Jose L. Determination of moisture, starch, protein, and fat in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by near infrared spectroscopy. **Journal of AOAC International**, v. 89, n. 4, p. 1039–1041, 2006.

KUHN, Max; JOHNSON, Kjell. **Applied Predictive Modeling**. New York: Springer, 2013. 600 p. ISBN 978-146146848.

KUMAR, Satish *et al.* Postharvest performance of apple phenotypes predicted by near-infrared (NIR) spectral analysis. **Postharvest biology and technology**, v. 100, p. 16-22, 2015.

MANLEY, Marena. Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: nondestructive 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: 22 ago. 2018.

MENDOZA, Fernando A. *et al.* Evaluation of canning quality traits in black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by visible/near-infrared spectroscopy. **Food and bioprocess technology**, v. 7, n. 9, p. 2666–2678, 2014. DOI: 10.1007/s11947-014-1285-y.

MOJICA, Luis; DE MEJÍA, Elvira González. Characterization and comparison of protein and peptide profiles and their biological activities of improved common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mexico and Brazil. **Plant foods for human nutrition**, v. 70, n. 2, p. 105–112, 2015. DOI: 10.1007/s11130-015-0477-6.

PENATTI, Fabio Eduardo; GUIMARÃES, Solange T. Lima; SILVA, Paulo Marcos. Gerenciamento de resíduos químicos em laboratórios de análises e pesquisa: o desenvolvimento do sistema em laboratórios da área química. In: **Workshop Internacional em Indicadores de Sustentabilidade–WIPIS II**. São Carlos. 2008.

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.

TANG, Chuan-He; SUN, Xin. Structure–physicochemical function relationships of 7S globulins (vicilins) from red bean (*Phaseolus angularis*) with different polypeptide constituents. **Food hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 536–544, (2011a). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.08.009>.

TANG, Chuan-He; SUN, Xin. A comparative study of physicochemical and conformational properties in three vicilins from *Phaseolus* legumes: Implications for the structure–function relationship. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 315–324, (2011b). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.06.009>.

THUNG, Michael D.; OLIVEIRA, Itamar Pereira de. **Problemas abióticos que afetam a produção do feijoeiro e seus métodos de controle**. Santo Antônio de Goiás: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), 1998. 172 p.

VALDERRAMA, Patrícia *et al.* **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo**. Dissertação – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. Campinas, SP. 2005.

XIAOBO, Zou *et al.* Variables selection methods in Near Infrared Spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 667, n. 1–2, p. 14–32, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.03.048>.

ZEAITER, M.; ROGER, Jean Michel; BELLON MAUREL, Veronique. Robustness of models developed by multivariate calibration: Part II: The influence of pre-processing methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 5, p. 437–445, 2005.