

Artigo

Germinação e Desidratação de Leguminosas: Efeito na Composição Nutricional, Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante de Feijão Andu e Mangalô do Peru

Benevides, C. M. J.;* Costa, A. S. G.; Pinto, D.; Alves, R. C.; Nunes, A. M.;
Oliveira, M. B. P. P.

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (4), no prelo. Data de publicação na Web: 22 de julho de 2019

<http://rvq.sbq.org.br>

Germination and Dehydration of Legumes: Effect on the Nutritional Composition, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Andu and Mangalô Beans from Peru

Abstract: Legumes are important sources of nutrients and bioactive compounds. However, the processing of the grains before consumption can cause some loss of those compounds. The objective of this work was to evaluate the effect of germination and dehydration processes in the bioactive compounds, nutritional composition and antioxidant activity of *Cajanus cajan* L. (andu) and *Phaseolus lunatus* L. (mangalô) seeds from Peru. Macronutrients, fatty acids profile, total phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity (DPPH* inhibition and FRAP assays) were determined in seeds *in natura* and after germination and dehydration. The highest amounts of total phenolic and flavonoids and antioxidant activity were observed *in natura* seeds of andu beans. In what concerns to fatty acids, there was a clear predominance of polyunsaturated ones in all of the studied samples. A differentiated behavior in the macronutrients, fatty acids, bioactive compounds and antioxidant activity resulted from processing of the two legume seeds under study.

Keywords: Legumes; nutritive value; bioactive compounds; antioxidant activity.

Resumo

As leguminosas são importantes fontes de nutrientes e compostos bioativos. No entanto, o processamento prévio ao seu consumo pode provocar alterações nesses compostos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da germinação e desidratação nos compostos bioativos, na composição nutricional e na atividade antioxidante de sementes de *Cajanus cajan* L. (feijão andu) e *Phaseolus lunatus* L. (feijão mangalô) originárias do Peru. Foram determinados os macronutrientes, o perfil de ácidos graxos, os compostos fenólicos e flavonoides totais e a atividade antioxidante (ensaios de inibição do DPPH* e FRAP), nas sementes *in natura* e após a germinação e desidratação. A semente *in natura* do feijão andu apresentou maior teor de compostos fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante. Há uma clara predominância de ácidos graxos poli-insaturados em todas as amostras em estudo. Verificou-se um comportamento diferenciado nos teores dos macronutrientes, dos ácidos graxos, dos compostos bioativos e atividade antioxidante resultante do processamento das duas leguminosas em estudo.

Palavras-chave: Leguminosas; valor nutritivo; compostos bioativos; atividade antioxidante.

* Universidade do Estado da Bahia, Departamento Ciências da Vida, Cabula, CEP 41150-000, Salvador-BA, Brasil.

 cbenevides@uneb.br

DOI:

Germinação e Desidratação de Leguminosas: Efeito na Composição Nutricional, Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante de Feijão Andu e Mangalô do Peru

Clicia M. de J. Benevides,^{a,b} Anabela S. G. Costa,^b Diana Pinto,^b Rita C. Alves,^b Antónia M. Nunes,^b Maria Beatriz P. P. Oliveira^b

^a Universidade do Estado da Bahia, Departamento Ciências da Vida, Cabula, CEP 41150-000, Salvador-BA, Brasil.

^b Universidade do Porto, REQUIMTE/LAQV, Departamento de Ciências Químicas da Faculdade de Farmácia, R. Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313, Porto, Portugal.

* cbenevides@uneb.br

Recebido em 1 de fevereiro de 2019. Aceito para publicação em 26 de maio de 2019

1. Introdução

2. Material e Métodos

2.1. Análise nutricional

2.2. Determinação dos ácidos graxos (AG)

2.3. Determinação dos compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante (DPPH, FRAP)

2.4. Análise estatística

3. Resultados e Discussão

4. Conclusões

1. Introdução

A população, de uma maneira geral, tem dado cada vez maior importância aos cuidados de saúde, principalmente, no que se refere à alimentação. Por vários motivos, as proteínas vegetais têm estado em evidência com uma demanda crescente. As leguminosas são importantes componentes de dietas de várias regiões do mundo, devido às suas características peculiares, pobres em gordura e ricas em proteína, fibra dietética, micronutrientes e fitoquímicos.^{1,2} Devido à

importância das leguminosas na alimentação humana, a FAO (Food and Agriculture Organization) instituiu o ano de 2016 como o Ano Internacional das leguminosas, com o objetivo de aumentar o conhecimento sobre os benefícios nutricionais das leguminosas, como parte da produção sustentável de alimentos voltada para a segurança alimentar.³

O *Cajanus cajan* L. é conhecido popularmente como feijão guandu, andu, ervilha de pombo, entre outras designações.⁴ A espécie foi domesticada na Índia e posteriormente introduzida e cultivada na

amazônia peruana (Cuzco, Huánuco, Junín, Loreto). É um arbusto anual, cultivado principalmente na região tropical e subtropical do planeta, típico de clima seco, de grãos nutricionalmente ricos.^{5,6}

O gênero *Phaseolus* é nativo da América e o *Phaseolus lunatus* L., conhecido no Brasil como feijão-fava, feijão mangalô, fava, feijão-de-lima ou pallar é, no Peru, uma das cinco espécies cultivadas do gênero *Phaseolus* e a mais importante depois do feijão comum, *P. vulgaris* L.^{7,8} Trata-se de uma das principais leguminosas cultivadas na região tropical, com potencial para fornecimento de proteína para alimentação humana e animal.⁹

Os benefícios para a saúde, pelo consumo de leguminosas, estão relacionados com a presença de proteína, hidratos de carbono e uma ampla gama de fitoquímicos/metabólitos secundários, como compostos fenólicos e flavonoides, os quais podem ser usados como indicadores da capacidade antioxidante. De acordo com Chaieb e colaboradores¹⁰ os compostos fenólicos podem inibir ou retardar a oxidação nos alimentos e no organismo, devido ao seu potencial antioxidante, uma vez que atuam como eliminadores de radicais, agentes redutores e quelantes de íons metálicos.¹¹ Alguns estudos correlacionam a ingestão de compostos fenólicos com a diminuição da incidência de doenças como o câncer e isquemias coronarianas.^{12,13} Foi também reportado que os fenólicos reparam os danos do estresse-oxidativo nos tecidos, reduzindo significativamente a inflamação, o peso corporal/índice de massa corporal, a pressão arterial e a circunferência abdominal, fatores de risco para enfermidades cardiovasculares.¹⁴

Os flavonoides constituem uma ampla classe de compostos polifenólicos de origem vegetal, cuja síntese não ocorre na espécie humana.¹⁵ Os principais compostos bioativos em *C. cajan* são flavonóides, os quais possuem propriedades antiinflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antitumoral e antiviral.^{16,17} Ensaios *in vitro* e *in vivo* mostraram algumas evidências de propriedades anticâncer do feijão caupi,

tendo como parâmetros a inibição do dano oxidativo ao DNA e efeitos antiproliferativos contra células cancerígenas.^{18,19}

As leguminosas não são, normalmente, consumidas cruas, sendo submetidas a diferentes processamentos antes do consumo, incluindo moagem, descascamento, imersão, germinação, fermentação, cozimento e desidratação para obter sabor, cor e textura desejáveis. Esses processos podem alterar os níveis dos compostos nutricionais e antinutricionais, assim como dos compostos bioativos.²⁰

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da germinação e da desidratação nos teores de compostos bioativos, propriedades nutricionais e atividade antioxidante de feijão andu (*C. cajan* L.) e mangalô (*P. lunatus* L.) cultivados no Peru.

2. Material e Métodos

As amostras de *P. lunatus* L. e *C. cajan* L., originárias do Peru, foram adquiridas na cidade do Porto, Portugal.

A germinação das sementes das leguminosas foi realizada em condições controladas, de acordo com Berni e Canniatti-Brazaca,²¹ com adaptações. Na primeira etapa, as sementes foram selecionadas, lavadas e sanitizadas com uma solução de hipoclorito de sódio (1 % cloro ativo) durante 15 minutos; em seguida, foram lavadas e deixadas imersas em água desionizada durante 8 horas (fase de hidratação). A etapa seguinte, a germinação, ocorreu em frascos transparentes na proporção de 1/3 de grãos em relação ao volume do frasco, à temperatura de 20-22 °C e luminosidade ambiente do laboratório; a cada 8 horas durante três dias foram adicionados 400 ml de água desionizada, com agitação suave para lavagem e hidratação dos grãos. Após três dias de germinação, escoou-se a água em excesso.

Após a germinação, os grãos foram parcialmente triturados em moinho para

facilitar a liofilização e a desidratação. Metade da amostra foi congelada a -80°C e posteriormente submetido a liofilização (Mod LIOTOP 101) sob pressão de $100\ \mu\text{m Hg}$ a -50°C . A outra metade foi submetida a desidratação a $55^{\circ}\text{C}/6\text{h}$ em estufa de ar forçado (Mod TE-394/2) até obtenção de umidade inferior a 10 %, sendo estas consideradas como farinhas. As amostras germinadas/liofilizadas e germinadas/desidratadas foram trituradas em moinho (Mod Grindomix-GM200) e conservadas em frascos de vidro hermeticamente fechados, até serem analisadas.

2.1. Análise nutricional

O teor de umidade foi determinado instrumentalmente, utilizando uma balança equipada com uma lâmpada de infravermelhos Scaltec® SMO 01 (Scaltec Instruments Heiligenstadt, Alemanha). Aproximadamente 1 g de amostra triturada foi submetida a uma temperatura de 105°C , até massa constante.

As análises do valor nutricional foram realizadas seguindo os métodos oficiais da AOAC²²: cinzas (AOAC 920.153); proteínas totais (AOAC 928.08); lípidos totais (AOAC 991.36) e fibra (AOAC 985.29). O teor de hidratos de carbono foi obtido indiretamente por cálculo, de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ Hidratos de carbono} = 100 \% - (\% \text{ Umidade} + \% \text{ Cinzas} + \% \text{ Proteínas} + \% \text{ Lípidos} + \% \text{ Fibra Total})$$

As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em g/100 g de amostra.

2.2. Determinação dos ácidos graxos (AG)

Inicialmente foi realizada a extração lipídica pesando-se 5,0 g da amostra em

cartucho de celulose com adição de $75\ \mu\text{l}$ de BHT 0,1 %. Após 4 horas de extração com *n*-hexano, pelo método de Soxhlet, recuperou-se o solvente e recolheu-se a gordura dos balões. Procedeu-se à derivatização dos AG em ésteres metílicos (FAME- Fatty Acid Methyl Esters) de acordo com a ISO 12966-2:2011. A transesterificação dos triglicerídeos ocorreu em meio alcalino na presença de metanol e a metilação dos ácidos graxos livres deu-se na presença do catalisador - trifluoreto de boro (BF_3 , 14 % em metanol) e por ação do calor.^{23,24} Os FAME das amostras foram analisados num cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC- 2010 Plus) equipado com um injetor automático split/splitless (AOC-20i) e acoplado a um detetor por ionização de chama (GC-FID).

Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida CP-SIL 88 (50 mm x 0,25 mm; 0,20 μm) e as seguintes condições analíticas: temperatura da coluna: 80°C , 5 min; aumento até 160°C a $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$; 160°C durante 5 min; aumento até 170°C ($5^{\circ}\text{C}/\text{min}$); 170°C durante 1 min; aumento até 220°C ($5^{\circ}\text{C}/\text{min}$); 220°C durante 15 min; usou-se o Hélio (182 kPa) como gás de arraste; as temperaturas do injetor e do detetor eram 250°C e 270°C , respetivamente; a razão de split: 1:25; e o volume de injeção: $1,0\ \mu\text{L}$. Cada injeção foi efetuada em duplicata. Os FAME foram identificados por comparação dos tempos de retenção (TR) dos picos das amostras com os da mistura de padrões de FAME. Para o tratamento dos dados recorreu-se ao software GS Solution (Shimadzu, Tóquio, Japão). Cada FAME foi expresso em % relativa dos FAME totais identificados.

2.3. Determinação dos compostos fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante (DPPH, FRAP)

Inicialmente foi realizada a extração hidroalcoólica (50mL de água e 50mL de etanol 96 %) dos compostos bioativos da amostra, a 50°C durante 30min, com agitação

e posterior filtração por papel. Este extrato foi utilizado para todas as determinações (fenólicos totais, flavonoides totais, inibição do DPPH[•] e FRAP).

O teor total de compostos fenólicos foi determinado de acordo com Alves e colaboradores,²⁵ com pequenas modificações. Numa microplaca foram misturados 30 µL da solução padrão de ácido gálico/extrato da amostra/branco com 150 µL de reagente de Folin-Ciocalteu (1:10) e 120 µL de solução aquosa de Na₂CO₃ (7,5 %). A mistura foi incubada, protegida da luz, a 45 °C, durante 15 min. Posteriormente, foi colocada à temperatura ambiente, na ausência de luz, durante 30 min. As absorvências foram determinadas a 765 nm num leitor de microplacas (BioTek Instruments, Synergy HT, EUA). Foi preparada uma curva de calibração com ácido gálico (linearidade: 5 - 100 ppm; R² > 0,999). O teor de fenóis totais das amostras foi expresso em µg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 mg de farinha de feijão.

O ensaio de Folin-Ciocalteu, baseia-se na quantificação dos compostos fenólicos presentes na amostra a testar. Este método tem como princípio a redução do complexo de molibdénio-tungstato-fósforo, em meio básico, por parte dos compostos fenólicos presentes na amostra. A monitorização da reação é realizada por colorimetria, uma vez que o complexo reduzido apresenta uma coloração azul intensa e absorvência máxima a 765 nm.^{26,27}

O teor total de flavonoides foi determinado de acordo com Costa e colaboradores,²⁸ com pequenas modificações. Numa microplaca foram misturados 30 µL de solução padrão de catequina/extrato da amostra/branco, 75 µL de água destilada e 45 µL de solução de NaNO₂ (1 %). Após 5 min, foram adicionados 45 µL de solução de AlCl₃ (5 %) e após 1 min, adicionaram-se 60 µL de NaOH 1 M e 45 µL de água desionizada. As absorvências foram determinadas a 510 nm em leitor de microplacas (BioTek Instruments, Synergy HT, EUA). A catequina foi utilizada como padrão, tendo sido preparada uma curva de

calibração (linearidade: 2,5 - 200 ppm; R² > 0,998). O teor de flavonoides totais foi expressos em µg de equivalentes de catequina (EC) por 100 mg de farinha de feijão.

Relativamente à atividade antioxidante, não há um método universal e de consenso entre os pesquisadores para a sua determinação em amostras alimentares, uma vez que estas são matrizes complexas, com diversos compostos bioativos com características químicas específicas. Foram selecionados os ensaios da inibição do DPPH[•] e do poder redutor do íon férrico (FRAP) para avaliar a atividade antioxidante das amostras, uma vez que estes métodos são simples, relativamente rápidos, atuam por dois mecanismos de ação complementares e podem fornecer informações valiosas sobre o tipo de antioxidantes presentes nas amostras, inclusive sobre o seu mecanismo de ação.

O método de FRAP baseia-se na redução, em meio ácido, de um complexo férrico de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) a um complexo ferroso, com uma forte coloração azul escura (APAK, et al., 2007).²⁷ Neste método, ocorre um mecanismo de transferência de elétrons.²⁹ Uma das limitações desta técnica consiste no fato de apenas avaliar a capacidade da amostra em reduzir íons férricos e não a sua capacidade em neutralizar radicais livres ou outras espécies antioxidantes. Por sua vez, o ensaio do DPPH[•] mede a capacidade de substâncias antioxidantes, presentes nas amostras, em neutralizar os radicais DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Em solução, o DPPH[•] apresenta uma forte coloração roxa, com um máximo de absorvência entre 515 e 520 nm. Ao entrar em contacto com determinados compostos antioxidantes da amostra, estes vão neutralizar o radical, doando um átomo de hidrogénio (ou um elétron) e convertendo-o num composto de cor amarela. A perda de cor roxa pode ser monitorizada ao longo do tempo, por espectrofotometria, e está correlacionada com a capacidade antiradicalar da amostra testada.^{26,27,30}

A capacidade de inibição do DPPH^{*} foi avaliada de acordo com Alves e colaboradores,²⁵ com pequenas modificações. Numa microplaca foram misturados 30 µL de solução padrão de Trolox (562 ppm)/extrato da amostra/branco e 270 µL de solução DPPH^{*} (6×10^{-5} M). A redução da absorvência seguiu-se a 517 nm durante 40 min até se obter um valor estável em leitor de microplacas (SinergyTM HT, Biotek Instruments, Winooski, VT, EUA). A curva de calibração foi preparada usando padrão de Trolox (linearidade: 5-125 ppm; $R^2 > 0,999$). Os resultados foram expressos em µg de equivalentes de trolox (ET)/100 mg.

O poder de redução das amostras pelo ensaio FRAP foi analisado de acordo com Costa e colaboradores,²⁸ com pequenas modificações. Em resumo, numa microplaca foram misturados 35 µL de solução padrão de sulfato ferroso (1 mM)/extrato da amostra/branco, 265 µL de reagente FRAP (contendo tampão de acetato 0,3 M, solução de tripiridiltriazina 10 mM e cloreto férrico 20 mM) e incubado a 37 °C, durante 30 min. A absorvência foi medida a 595 nm em leitor de microplacas (SinergyTM HT). Foi preparada uma curva de calibração usando sulfato ferroso (linearidade: 25-500 µM; $R^2 > 0,999$). Os valores de FRAP foram expressos como µg de equivalentes de sulfato ferroso (EFS) por 100 mg de farinha de feijão.

2.4. Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando o programa SPSS v. 20 (IBM Corp., Armonk, 241 NY, USA). Os dados foram expressos como média ± desvio padrão. Foi utilizada a ANOVA para avaliar diferenças significativas entre as amostras, seguida pelo teste de Tukey para fazer comparações pareadas entre médias. O nível de significância para todos os testes foi de 0,05.

3. Resultados e Discussão

O valor nutricional das leguminosas em estudo (sementes *in natura*, sementes germinadas e liofilizadas e farinhas das sementes germinadas) provenientes do Peru está apresentado na Tabela 1.

Segundo Sangronis e Machado,³¹ durante a germinação podem ocorrer mudanças dependentes do tipo de vegetal, da variedade da semente e das condições da germinação. O valor nutricional melhora em virtude da melhoria da digestibilidade proteica e do valor do quociente de eficiência proteica (RIBEIRO, 2006.³² Sritongtae e colaboradores³³ reportaram uma redução significativa no teor de gordura após 12 h de germinação ($p \leq 0,05$) em comparação com a quantidade de gordura bruta na semente crua ($0,93 \pm 0,02$ g/100 g) de *Vigna umbellata*. Segundo os autores, esta redução pode ser devido ao uso de gordura bruta como fonte de energia durante a germinação. O teor de carboidratos e cinzas não foi alterado ao longo do período de germinação de 24 horas. O teor de proteína aumentou durante a germinação e atingiu seu valor máximo após 18 h de germinação ($p \leq 0,05$). Também Kaur³⁴ observou um aumento significativo ($p \leq 0,01$) no teor de proteína bruta de *Vigna umbellata* germinada no período de 48 h. A germinação da soja (*Glycine max L. Merr.*) no período de 24 h promoveu um aumento no teor de proteína de 35,1 para 38,7 % (p/p), enquanto o teor lipídico decresceu de 10,1 % para 9,7 % (p/p).³⁵ A germinação no período de 5 dias também causou um aumento significativo na teor de proteína bruta do feijão-mungo (*Vigna radiate L.*) e grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*).³⁶

Tabela 1. Valor nutricional das leguminosas cultivadas no Peru: sementes *in natura*; sementes germinadas liofilizadas e farinhas das leguminosas germinadas

Amostra	Proteínas (%)	Lípidos (%)	Cinzas (%)	CHO (%)	Fibras (%)
<i>Cajanus cajan</i> L. (ANDU)					
AS	22,06±0,21 ^a	1,36±0,16 ^b	3,74±0,02 ^b	72,74±0,40 ^a	22,64±2,72 ^a
AGL	20,48±0,03 ^b	1,97±0,22 ^a	4,07±0,02 ^a	73,49±0,25 ^a	23,08±0,77 ^a
FAG	21,25±0,19 ^c	1,83±0,20 ^a	3,81±0,04 ^b	73,11±0,27 ^a	19,55±0,41 ^b
<i>Phaseolus lunatus</i> L. (MANGALÔ)					
MS	26,45±0,21 ^a	0,64±0,03 ^a	3,61±0,02 ^b	69,30±0,22 ^a	20,35±1,64 ^a
MGL	26,13±0,22 ^a	0,66±0,06 ^a	4,04±0,02 ^a	68,41±0,20 ^b	20,37±0,96 ^a
FMG	27,28±0,20 ^a	0,67±0,11 ^a	3,91±0,06 ^b	68,14±0,24 ^b	15,77±0,12 ^b

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ($p < 0,05$). AS: Andu semente *in natura*; MS: Mangalô semente *in natura*; AGL: Andu germinado liofilizado; MGL: Mangalô germinado liofilizado; FAG: Farinha do andu germinado; FMG: Farinha do mangalô germinado; CHO: carboidratos

No presente trabalho, os dados da tabela 1 mostram que a germinação, durante três dias, provocou alterações diferentes nas duas leguminosas em estudo. No feijão mangalô as alterações com significado estatístico ficaram restritas às cinzas e aos hidratos de carbono. No caso do feijão andu as diferenças significativas ocorreram nas proteínas, cinzas e lípidos.

Após a germinação, considerou-se a leguminosa liofilizada como controle para estudar o efeito da desidratação (processamento da farinha). Assim, foram comparadas as leguminosas germinadas liofilizadas e na forma de farinhas. Observou-se um aumento significativo ($p \leq 0,05$) nos teores de proteína no feijão andu e também no mangalô embora sem significado estatístico. Os teores de cinzas e fibra diminuíram significativamente nas 2 amostras.

Na tabela 2 está apresentado o perfil lipídico das leguminosas em estudo, nas diferentes fases consideradas.

No perfil em ácidos graxos (AG) foi observada predominância dos AGPI (ácidos graxos poli-insaturados) para todas as amostras estudadas (Tabela 2), o que está de acordo com outras pesquisas sobre diferentes leguminosas.^{37,38,39}

Comparando as várias amostras do feijão andu, não foram observadas variações na concentração dos diferentes grupos de AG. Nas amostras de feijão mangalô foram observadas variações dos AG, nomeadamente um aumento do total de ácidos graxos saturados (AGS) e uma redução dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI).

Seena e colaboradores⁴⁰ avaliaram o efeito da torra e cozimento sob pressão na qualidade nutricional das sementes de *Canavalia catartica* da Índia e observaram que no perfil de AG das sementes processadas predominavam os AGI, e que os teores do ácido palmitoleico era superior nas sementes desidratadas (13,2 g/100g de lípidos) em comparação com as sementes cozidas sob pressão (1,0 g/100 g de lípidos).

Tabela 2. Perfil lipídico (mg/100g) das leguminosas cultivadas no Peru: sementes *in natura*; sementes germinadas liofilizadas e farinhas das leguminosas germinadas

Composto		<i>Cajanus cajan</i> L. (ANDU)			<i>P. lunatus</i> L. (MANGALÔ)		
		AS	AGL	FAG	MS	MGL	FMG
1-Mirístico	C14:0	0,30±0,03	0,20±0,03	0,20±0,02	0,44±0,19	0,20±0,02	0,20±0,01
2-Pentadecanóico	C15:0	0,13±0,012	0,10±0,02	0,20±0,00	0,25±0,14	0,10±0,03	0,20±0,01
3-Palmitico	C16:0	23,67±0,07	23,10±1,09	24,30±0,25	14,63±0,54	15,90±1,44	19,30± 0,12
4-Palmitoleico	C16:1n9c	0,17±0,01	0,10±0,02	0,10±0,01	0,11±0,01	0,10±0,02	0,20±0,05
5-Heptadecanóico	C17:0	0,29±0,02	0,30±0,03	0,30±0,01	0,24±0,02	0,30±0,02	0,30±0,01
6-Esteárico	C18:0	4,98±0,12	4,30±0,22	4,30±0,12	4,89±0,19	4,20±0,19	4,60±0,01
7-Oleico	C18:1n9c	6,36±0,11	5,70±0,47	5,30±0,10	11,40±0,16	10,10±0,33	11,20±0,91
8-Linoleico	C18:2n6c	53,61±0,27	53,80±3,09	54,30±0,06	50,78±0,75	49,70±2,58	48,20±0,82
9-Araquídico	C20:0	1,45±0,02	1,40±0,10	1,30±0,02	1,00±0,04	1,30±0,08	1,00±0,02
10- α -Linolénico	C18:3n3	5,39±0,03	6,60±1,03	5,20±0,09	12,43±0,17	12,60±0,51	10,00±0,18
11-Eicosenoico	C20:1n9	0,28±0,02	0,20±0,04	0,20±0,03	0,50±0,01	0,40±0,03	0,40±0,02
12- Henicosoanico	C21:0	0,15±0,01	0,10±0,02	0,10±0,01	0,10±0,01	0,20±0,01	0,10±0,01
14-Beénico	C22:0	1,75±0,02	2,00±0,25	2,00±0,11	1,26±0,02	2,50±0,16	2,20±0,03
15-Tricosanoico	C23:0	0,27±0,02	0,30±0,05	0,30±0,03	0,35±0,02	0,40±0,04	0,40±0,00
16-Lignocérico	C24:0	1,21±0,02	1,50±0,17	1,50±0,19	1,83±0,06	1,80±0,16	1,60±0,05
Σ AGS		34,2	33,30	34,50	24,99	26,90	29,90
Σ AGMI		6,81	6,00	5,60	12,01	10,60	11,80
Σ AGPI		59,00	60,40	59,50	63,21	62,30	58,20

AS: Andu semente *in natura*; MS: Mangalô semente *in natura*; AGL: Andu germinado liofilizado; MGL: Mangalô germinado liofilizado; FAG: Farinha do andu germinado; FMG: Farinha do mangalô germinado; AGS: Ácidos graxos saturados; AGMI: Ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: Ácidos graxos poli-insaturados; Σ AGS: (C14:0+C15:0+C16:0+C17:0+C18:0+C20:0+C21:0+C22:0+C23:0+C24:0); Σ AGMI: (C16:1 n9c + C18:1n9c+C20:1n9); Σ AGPI (C18:2n6c+ C18:3n3)

Caprioli e colaboradores³⁷ investigaram o perfil lipídico de 19 leguminosas e obtiveram como maioritários os AG C16:0, C18:1, C18:2 para *Vicia faba* e os AG C16:0, C18:2 e C18:3 em três diferentes espécies de *P. vulgaris*. O potencial nutricional de nove leguminosas sub exploradas no sudoeste da Nigéria foi também estudado por Ade-Omowaye e colaboradores,³⁹ que constataram igualmente que os AG C18:2, C16:0, C18:1 e C18:3 eram maioritários no *C. cajan*, *V. racemosa* e *Vigna subterranean*.

A composição em AG de três cultivares de *Vicia faba* foi investigada por Khalil e

colaboradores⁴¹, que observaram que os valores de C16:0, C18:1, C18:2 e C18:3 variaram nas diferentes cultivares: *Vicia faba* cultivar Sudan (15,8 %; 30,8 %; 46,4 %; 2,8 %); *Vicia faba* var, major cultivar, white Windson (18,3 %; 18,0 %; 28,3 %; 3,6 %); *Vicia faba* var, minor cultivar, "Nadwislanski" (19,2 %; 18,4 %; 30,8 %; 4,3 %), respectivamente.

O teor de gordura de diferentes variedades de leguminosas disponíveis no mercado canadense foi investigada por Emily e colaboradores,³⁸ e variou entre 1,6 % (lentilha verde grande) e 8,4 % (grão-de-bico

Leader), sendo o perfil em AG maioritariamente constituído por AGPI (46,8-66,9 %). Quando consideradas três variedades de *Phaseolus vulgaris*, verificou-se que os AG C16:0, C18:1, C18:2 e C18:3, variaram entre: black turtle bean (13,2 %; 7,3 %; 30,3 %; 36,4 %); cranberry bean (14,0 %; 9,0 %; 28,9 %; 37,4 %); e dark red kidney bean (14,7 %; 9,3 %; 27,1 %; 37,5 %), respectivamente.

Os resultados descritos neste trabalho são consistentes com a literatura,^{37,38,41} ficando claro que os feijões possuem baixos teores de lipídios (<2 %) em comparação com outros tipos de sementes de leguminosas como a soja (23 % de lipídios) e contêm,

maioritariamente, C16:0, C18:1, C18:2 e C18:3. Embora o teor de lípidos dos feijões seja baixo, os mesmos são ricos em AG poli-insaturados, os quais são benéficos para a saúde. Assim, a ingestão regular dessas leguminosas poderá contribuir para a redução do risco de desenvolvimento de diversas doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, vários distúrbios digestivos e câncer, bem como artrite e inflamação.^{42,43,44}

Na tabela 3 estão apresentados os teores dos compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante determinados nos extratos hidroalcoólicos das leguminosas em estudo.

Tabela 3. Teores de compostos fenólicos e flavonoides totais e da atividade antioxidante (inibição do DPPH* e FRAP) dos extratos hidroalcoólicos das leguminosas cultivadas no Peru: sementes *in natura*, sementes germinadas liofilizadas e farinhas das leguminosas germinadas

Amostra	Fenólicos totais ($\mu\text{g EAG}/100\text{mg}$)	Flavonoides totais ($\mu\text{g EC}/100\text{mg}$)	DPPH ($\text{Mg ET}/100\text{mg}$)	FRAP($\mu\text{M ESF}/100\text{mg}$)
<i>Cajanus cajan</i> L. (ANDU)				
AS	109,08 ^c ±1,30	17,03 ^b ±2,35	156,64 ^a ±2,88	2,20 ^b ±0,07
AGL	174,12 ^b ±18,01	39,09 ^a ±5,09	80,32 ^c ±6,22	3,07 ^a ±0,12
FAG	260,11 ^a ±20,96	38,81 ^a ±3,15	116,16 ^b ±5,14	2,15 ^b ±0,06
<i>P. lunatus</i> L. (MANGALÔ)				
MS	84,41 ^c ±0,95	12,23 ^b ±1,45	75,58 ^b ±9,18	1,35 ^c ±0,05
MGL	148,47 ^b ±14,33	40,52 ^a ±5,50	89,02 ^a ±13,72	3,59 ^a ±0,15
FMG	348,06 ^a ±20,24	38,67 ^a ±4,16	87,27 ^a ±11,03	2,38 ^b ±0,08

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ($p < 0,05$). AS: Andu semente *in natura*; MS: Mangalô semente *in natura*; AGL: Andu germinado liofilizado; MGL: Mangalô germinado liofilizado; FAG: Farinha do andu germinado; FMG: Farinha do mangalô germinado; ET: Equivalentes de trolox; EC: Equivalentes de catequina; EAG: Equivalentes de ácido gálico; ESF: Equivalentes de sulfato ferroso

As concentrações dos compostos fenólicos totais e flavonoides, assim como a atividade antioxidante nas sementes de andu *in natura* foram superiores às do mangalô *in natura* (Tabela 3). Foram publicados vários trabalhos de avaliação de compostos fenólicos totais em leguminosas, com teores destes compostos muito diferentes entre si e

diferentes dos valores obtidos com as amostras em avaliação. Delfino e Canniatti-Brazaca⁴⁵ avaliaram o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e determinaram 0,24 mg/g de fenólicos totais em feijão cru. O feijão fava (*Vicia fava*) foi estudado por Amarowicz e Shahidi⁴⁶ os quais determinaram 23,9 mg/g. Diferentes espécies

de feijão foram avaliados em pesquisa e os autores encontraram valores de fenólicos totais entre 2,3 mg EAG/g (*Canavalia ensiformis* L.); 170,0 mg EAG/g (*Vigna radiata* cv. BARI mung-4) e 370,0 mg EAG/g (*Phaseolus vulgaris* L., var. Pinta).^{47,48,49} Cai e colaboradores⁵⁰ avaliaram o teor de ácidos fenólicos em 17 variedades de feijão caupi e constataram grandes diferenças, dependentes do fenótipo, variando entre 14,8 e 117,6 mg/100 g.

A diferença no teor dos compostos fenólicos, assim como na atividade antioxidante entre diferentes espécies e cultivares de leguminosas pode ser fortemente influenciada pelo genótipo das mesmas, que produz diferentes compostos com estruturas químicas específicas. Um amplo processo bioquímico ocorre durante a germinação das sementes, levando a mudanças durante a produção de metabólitos secundários. Isso poderia afetar o teor intrínseco dos compostos fenólicos e o perfil de atividade antioxidante da planta.^{51,52}

A comparação das amostras, sementes *in natura* e após liofilização e desidratação das sementes germinadas, permite verificar que os teores totais dos compostos fenólicos aumentaram após processamento, em ambas as leguminosas germinadas em estudo. O aumento foi, de uma maneira geral, superior após a desidratação. No caso do feijão mangalô ocorreu um aumento de 4,1 vezes desidratação (preparação da farinha) (de 84,0 para 348,0 µg EAG/100mg) e em 1,8 vezes com a liofilização (de 84,0 para 148,0 µg EAG/100mg). No caso do feijão andu verificou-se aumento de 1,6 após a liofilização (de 109,0 para 174,0 µg EAG/100g) e de 2,4 no caso da desidratação (de 109,0 para 260,0 µg EAG/100mg). Na determinação dos flavonoides verificou-se também aumento após o processamento das leguminosas germinadas (liofilização e desidratação), na ordem de 3,3 vezes no caso do feijão magalô e de 2,3 vezes no caso do feijão andu.

De acordo com Granito e colaboradores⁵³, o processamento térmico pode promover a

degradação entre os anéis aromáticos dos compostos fenólicos, levando a quebras estruturais, que se podem refletir no menor ou maior teor fenólico dos grãos cozidos. No caso do tratamento térmico visando a desidratação, o mecanismo pode ter sido outro. Assim, possivelmente, o aumento dos fenólicos totais seja decorrente das reações de “maillard” que acontece no processo de desidratação por aquecimento, com produção de novos compostos fenólicos.

Outros compostos fenólicos (catequinas e procianidinas, flavonóis e diidroflavonóis, flavonas e flavanonas) também sofreram redução significativa ($p < 0,05$) por imersão, cozimento e desidratação de lentilhas.⁵⁴ Noutro estudo, Aguilera e colaboradores⁵⁵ mostraram que catequinas e procianidinas foram completamente perdidas na desidratação, enquanto a imersão levou a 85 % de perda e a imersão e cocção mostrou uma redução de 67 % em farinhas de feijão Pinto.

Ramírez-Jiménez e colaboradores⁵⁶ avaliaram o efeito do processamento térmico, durante a desidratação, nas alterações do perfil dos compostos fenólicos totais de farinhas de duas variedades diferentes de *P. vulgaris* (Negro 8025 e Bayo Madero) colhidas no período de 2008-2011. Foi constatado que houve uma grande variação da concentração desses compostos entre as variedades e ano de colheita. A composição dos ácidos fenólicos foi dependente da variedade e a desidratação teve um impacto diferente na composição dos ácidos fenólicos. Os autores justificaram que as quantidades aumentadas destes ácidos fenólicos podem ser originadas da ruptura das paredes celulares durante o processamento ou a degradação de compostos fenólicos insolúveis, uma vez que poderia ter levado a uma melhor extratibilidade desses compostos.

Gan e colaboradores⁵⁷ determinaram as modificações dos compostos fitoquímicos durante 5 dias de germinação de duas variedades do feijão *Vigna radiata* e observaram que houve um aumento em

torno de 5 vezes dos compostos fenólicos solúveis, atingindo $1148 \pm 22,6$ e $902 \pm 39,1$ $\mu\text{g EAG}/100\text{mg}$ no 5º dia, para as variedades verde e preta, respectivamente. Houve também um aumento dos compostos fenólicos conjugados, mas numa quantidade inferior. O aumento de fenólicos solúveis durante a germinação pode ser atribuída à síntese de novos compostos e a transformação dos já existentes.^{35,58}

Oloyo⁵⁹ estudou os componentes do *Cajanus cajan* produzido na Nigéria, no período de 5 dias de germinação, observando um aumento dos compostos fenólicos totais de 22,8 mg/100g (sem germinar), 85,04 mg/100g e 115,0 mg/100g no 3º e 5º dias de germinação, respectivamente.

As amostras de sementes de *Cajanus cajan* avaliadas neste trabalho apresentaram uma maior quantidade de fenólicos totais na semente sem germinar (109,08 mg/100g) e após 3 dias de germinação (174,12 mg/100g), o que possivelmente está relacionado com as diferentes origens das sementes, técnicas de extração e metodologias de análise, bem como as condições da germinação.

Uchegbu e colaboradores⁶⁰ constataram que a germinação do feijão andu aumentou a concentração dos compostos fenólicos e a atividade antioxidante em 30 % e 63 %, respectivamente. Já foi verificado que leguminosas com alto teor de compostos fenólicos livres e flavonoides em suas sementes são mais propensas a perder esses compostos durante a imersão e a germinação.⁶¹

Os compostos fenólicos totais permaneceram estáveis mesmo após 8 dias de germinação em feijão, de acordo Dueñas e colaboradores⁶². O estudo relata que a germinação diminui os níveis de antocianinas e flavan-3-ols, sendo esta perda compensada com um maior teor de flavonóis e flavanonas em grãos germinados.

Para a atividade antioxidante pelo método da inibição do DPPH* verificou-se um aumento significativo desta, com os processamentos das leguminosas germinadas, no caso do feijão mangalô. Nas

amostras de feijão andu verificou-se um comportamento diferente, com redução significativa da capacidade de inibição do radical com os processamentos, sendo maior esta redução na liofilização (49 %) que na desidratação (26 %). Pelo método FRAP verificaram-se também comportamentos diversos nos 2 tipos de feijão em estudo. No caso do andu, a amostra germinada após liofilização apresentava valores 1,4 vezes superiores relativamente à semente *in natura*, mas os valores não sofrem alteração significativa com a desidratação. No caso do mangalô verificou-se aumento após os dois processamentos, respectivamente de 2,7 vezes no caso da liofilização e de 1,8 vezes da desidratação (Tabela 3).

Kanatt e colaboradores⁶⁰ encontraram uma forte correlação entre os compostos fenólicos totais e os valores de DPPH* ($r = 0,97$) na casca de *Cajanus cajan*. Os altos valores desta correlação indicam que os compostos fenólicos nos extratos da casca foram responsáveis pela sua capacidade antioxidante. De acordo com os autores, o extrato de casca de *Cajanus cajan* apresentou maior teor total de flavonoides e fenóis em relação aos extratos de cascas de outras leguminosas: feijão-da-china (*Vigna radiata*) e grão de bico (*Cicer arietinum*). Os compostos flavonoides estão concentrados no revestimento das sementes e com impacto na cor da casca das mesmas.⁴²

Alguns fatores podem interferir no comportamento dos compostos fenólicos totais e flavonóides durante o processamento, como por exemplo, se estão na forma livre ou conjugados⁶¹ ou a transformação dos mesmos em outros compostos,^{51,52} interferindo na sua concentração e, conseqüentemente, na sua atividade antioxidante. Neste estudo foi observado um aumento dos compostos bioativos (fenólicos totais e flavonoides) nas amostras após a germinação (AGL e MGL) e a desidratação (FAG e FMG) e uma correlação direta entre os compostos bioativos e atividade antioxidante (DPPH e FRAP) para o mangalô nos dois processamentos, o mesmo não ocorrendo para o andu, em que esta

correlação ocorreu apenas para o andu germinado liofilizado. A atividade antioxidante está relacionada com as estruturas químicas dos compostos bioativos, número e posição dos grupos hidroxilas, glicosilação, dentre outros.^{55,64}

Os dados apresentados demonstram a viabilidade da aplicação desses processos nas leguminosas como uma forma de aumentar o seu consumo. A obtenção de farinhas de leguminosas para uso em formulações em produtos de panificação e/ou embutidos poderia melhorar a qualidade destes produtos, tanto no aspecto nutricional, principalmente, quando combinado com farinha de cereais, como a de arroz, ou contribuindo na prevenção de determinadas doenças devido a presença de compostos bioativos.

4. Conclusões

Parece possível concluir que as condições da germinação das leguminosas, no período de três dias, provocou um comportamento diferenciado nos teores dos macronutrientes do feijão andu e mangalô. Não ocorreu o mesmo na desidratação das leguminosas germinadas, em que, praticamente, não houve variação, exceto para os teores de fibras que reduziu significativamente. Verificou-se a predominância de ácidos graxos poli-insaturados em todas as amostras. A variação da concentração dos AG após os processamentos foi mais evidente para o feijão mangalô. A concentração dos fenólicos totais aumentou após os dois processamentos para o andu e mangalô, sendo este aumento superior após a desidratação, enquanto os teores dos flavonoides aumentaram de forma similar após a germinação e a desidratação nas duas leguminosas. A atividade antioxidante pelos métodos do DPPH* e FRAP variou diferentemente para as duas leguminosas, sendo que, de uma maneira geral, após a

desidratação aumentou para o mangalô e reduziu para o andu.

Referências Bibliográficas

- ¹ Kanatt, S. R.; Arjun K.; Arun, S. Antioxidant and antimicrobial activity of legume hulls. *Food Research International* **2011**, *44*, 3182. [[CrossRef](#)]
- ² Padhi, E. M. T.; Ramdath, D. D. A review of the relationship between pulse consumption and reduction of cardiovascular disease risk. *Journal of Functional Foods* **2017**, *38*, 635. [[CrossRef](#)]
- ³ Food and Agriculture Organization (FAO). International Year of Pulses 2016. Nutritious seeds for a sustainable futures, 2016. [[Link](#)]
- ⁴ Chakraborty, S. K.; Kumbhar, B. K.; Sarkar, B. C. Process parameter optimization for instant pigeonpea dhal using response surface methodology. *Journal of Food Engineering* **2007**, *81*, 171. [[CrossRef](#)]
- ⁵ Saxena, K. B.; Kumar, R. V.; Sultana, R. Quality nutrition through pigeonpea - A review, *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics*, **2010**, *2*, 1335. [[Link](#)]
- ⁶ Mejía, K; Rengifo, E.; *Plantas Medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana*, 2a. ed., Agencia Española de Cooperación Internacional: Lima, 2000. [[Link](#)]
- ⁷ Santos, J. O.; Araújo, A. S. F.; Gomes, R. L. F.; Lopes, A. C. A.; Marcia, V. B. Figueiredo. Ontogenia da nodulação em feijão-fava (*Phaseolus lunatus*). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* **2009**, *4*, 426. [[Link](#)]
- ⁸ Fofana, B.; Vekemans, X.; Jardin, Du P.; Baudoin, J. P. Genetic diversity in lima (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by RAPD markers. *Euphytica* **1997**, *95*, 157. [[Link](#)]
- ⁹ Pegado, C. M. A.; Barbosa, L.J.N.; Mendes, J.E.M.F; Souto, P.C.; Souto, J.S. Decomposição superficial e sub-superficial de folhas de fava (*Phaseolus lunatus* L.) na região do Brejo da Paraíba, Brasil. *Revista Caatinga*, **2008**, *21*, 218. [[Link](#)]

- ¹⁰ Chaieb, N.; González, J. L.; López-Mesas, M.; Bouslama, M.; Valiente, M. Polyphenols content and antioxidant capacity of thirteen faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes cultivated in Tunisia. *Food Research International* **2011**, *44*, 970. [[CrossRef](#)]
- ¹¹ Djordjevic, T. M.; Šiler-Marinkovic, S. S.; Dimitrijevic-Brankovic, S. I. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content in Some Cereals and Legumes. *International Journal of food Properties* **2011**, *14*, 198. [[CrossRef](#)]
- ¹² Martelli, A. Utilização da erva mate *Ilex paraguariensis* como inibidor da oxidação do LDL-Colesterol e prevenção da aterosclerose/Use of yerba mate *Ilex paraguariensis* to inhibit the oxidation of LDL-cholesterol and preventing atherosclerosis. *Revista Desenvolvimento Pessoal* **2014**, *4*, 29. [[Link](#)]
- ¹³ Vidal, A. M.; Dias, D. O.; Martins, E. S. M. M.; Oliveira, R. S.; Nascimento, R. M. S.; Correia, M. G. S. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. *Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde* **2012**, *1*, 43. [[Link](#)]
- ¹⁴ Portela, A. S.; Montenegro Neto, A. N.; Silva, P. D. C. Estatinas x ácido lipóico na prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* **2014**, *35*, 9. [[Link](#)]
- ¹⁵ Lopes, G. C.; Sanches, A. C. C.; Toledo, C. E. M.; Isler, A. C.; Mello, J. C. P. Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2009**, *45*, 135. [[CrossRef](#)]
- ¹⁶ Wu, N.; Fu, K.; Fu, Y. J.; Zu, Y. G.; Chang, F. R.; Chen, Y. H.; Gu, C. B. Antioxidant activities of extracts and main components of pigeon pea [*C. cajan* (L.) Millsp.] leaves. *Molecules* **2009**, *14*, 1032. [[CrossRef](#)]
- ¹⁷ Wu, N.; Kong, Y.; Zu, Y. G.; Fu, Y. J.; Liu, Z. G.; Meng, R. H.; Efferth, T. Activity investigation of pinostrobin towards herpes simplex virus-1 as determined by atomic force microscopy. *Phytomedicine* **2011**, *18*, 110. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Nderitu, A. M.; Dykes, L.; Awika, J. M.; Minnaar, A.; Duodu, K. G. Phenolic composition and inhibitory effect against oxidative DNA damage of cooked cowpeas as affected by simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry* **2013**, *141*, 1763. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ Salawu, S. O.; Bester, M. J.; Duodu, K. G. Phenolic composition and bioactive properties of cell wall preparations and whole grains of selected cereals and legumes. *Journal of Food Biochemistry* **2014**, *38*, 62. [[CrossRef](#)]
- ²⁰ Khandelwal, S.; Udipi, S. A.; Ghugre, P. Polyphenols and tannins in Indian pulses: Effect of soaking, germination and pressure cooking. *Food Research International* **2010**, *43*, 526. [[Link](#)]
- ²¹ Berni, P. R. A.; Canniatti-Brazaca, S. G. Efeito da germinação e da sanitização sobre a composição centesimal, teor de fibras alimentares, fitato, taninos e disponibilidade de minerais em trigo. *Alimentos e Nutrição* **2011**, *22*, 407. [[Link](#)]
- ²² AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis of Analytical Chemistry*. (19a ed.). Maryland, EUA: AOAC International. [[Link](#)]
- ²³ Fernandes, T. J. R.; Alves, R. C.; Souza, T.; Silva, J. M. G.; Castro-Cunha, M.; Valente, L. M. P. Lipid content and fatty acid profile of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles as affected by feed containing different amounts of plant protein sources. *Food Chemistry* **2012**, *134*, 1337. [[CrossRef](#)]
- ²⁴ ISO 12966-2:2011 - Animal and vegetable fats and oils -- Gas chromatography of fatty acid methyl esters -- Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids. [[Link](#)]
- ²⁵ Alves, R.; Costa, A.; Jerez, M.; Casal, S.; Sineiro, J.; Núñez, M.; Oliveira, M. B. P. P. Antiradical activity, phenolics profile, and hydroxymethylfurfural in espresso coffee: Influence of technological factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2010**, *58*, 12221. [[CrossRef](#)]

- ²⁶ Prior, R.; Wu, X.; Schaich, K. Standardized Methods for the determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Food and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 4290. [CrossRef]
- ²⁷ Apak, R.; Güçlü, K.; Demirata, B.; Ozyürek, M.; Celik, S. E.; Bektasoglu, B. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* **2007**, *12*, 1496. [CrossRef]
- ²⁸ Costa, A. S. G.; Alves, R. C.; Vinha, A. F.; Barreira, S. V. P.; Nunes, M. A.; Cunha, L. M.; Oliveira, M. B. P. Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops Products* **2014**, *53*, 350. [CrossRef]
- ²⁹ Benzie, I. F. F.; Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* **1996**, *239*, 70. [CrossRef]
- ³⁰ Tirzitis, G.; Bartosz, G. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica* **2010**, *57*, 139. [PubMed]
- ³¹ Sangronis, E.; Machado, C. J. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. *LWT Food Science and Technology* **2007**, *40*, 116. [CrossRef]
- ³² Ribeiro, M. L. L.; *Teor de isoflavonas e atividade de β -glucosidase em grãos de soja germinada e de diferentes grupos de maturação. Purificação e caracterização bioquímica parcial da β -glucosidase*. 1a ed., Universidade Estadual de Londrina: Londrina, 2006. [Link]
- ³³ Sritongtae, B.; Sangsukiam, T.; Morgan, M. R. A.; Duangmal, K. Effect of acid pretreatment and the germination period on the composition and antioxidant activity of rice bean (*Vigna umbellata*). *Food Chemistry* **2017**, *227*, 280. [Link]
- ³⁴ Kaur, M. Chemical composition of ricebean (*Vigna umbellata*): Effect of Domestic Processing. *Indian Journal of Applied Research* **2015**, *5*, 311. [Link]
- ³⁵ Kim, S. L.; Lee, J. E.; Kwon, Y. U.; Kim, W. H.; Jung, G. H.; Kim, D. W. Introduction and nutritional evaluation of germinated soy germ. *Food Chemistry* **2013**, *136*, 491. [Link]
- ³⁶ Masood, T.; Shah, H. U.; Zeb, A. Effect of sprouting time on proximate composition and ascorbic acid level of mung bean (*Vigna radiate* L.) and chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *The Journal of Animal and Plant Sciences* **2014**, *24*, 850. [Link]
- ³⁷ Caprioli G.; Giusti F.; Ballini R.; Sagratini G.; Vila-Donat, P.; Vittori, S.; Fiorini, D. Lipid nutritional value of legumes: Evaluation of different extraction methods and Determination of fatty acid composition. *Food Chemistry* **2016**, *192*, 965. [Link]
- ³⁸ Emily M.T.; Padhi, R.; Liu, M. H.; Rong Tsao, D.; Ramdat, D. Total polyphenol content, carotenoid, tocopherol and fatty acid composition of commonly consumed Canadian pulses and their contribution to antioxidant activity. *Journal of Functional Foods* **2017**, *38*, 602. [CrossRef]
- ³⁹ Ade-Omowaye, B. I. O.; Tucker, G. A.; Smetanska, I. Nutritional potential of nine underexploited legumes in Southwest Nigeria. *International Food Research Journal* **2015**, *22*, 798. [Link]
- ⁴⁰ Seena, S.; Sridhar, K. R.; Arun, A. B.; Chiu-Chung, Y. Effect of roasting and pressure-cooking on nutritional and protein quality of seeds of mangrove legume *Canavalia cathartica* from southwest coast of India. *Journal of Food Composition and Analysis* **2006**, *19*, 284. [Link]
- ⁴¹ Khalil, M. I.; Salih, M. A.; Mustafa, A. A. Study of fatty acid composition, physicochemical properties and thermal stability of broad beans (*Vicia faba*) seed oil. *Agriculture and Biology Journal of North America* **2017**, *8*, 141. [Link]
- ⁴² Awika, J. M.; Duodu, K.G. Bioactive polyphenols and peptides in cowpea (*Vigna*

- unguiculata*) and their health promoting properties: A review. *Journal of Functional Foods* **2017**, *38*, 686. [CrossRef]
- ⁴³ Emily M. T.; Padhi, D.; Ramdath, D. A review of the relationship between pulse consumption and reduction of cardiovascular disease risk. *Journal of Functional Foods* **2017**, *38*, 635. [CrossRef]
- ⁴⁴ Bouchenak, M.; Lamri-Senhadj, M. Nutritional quality of legumes, and their role in cardiometabolic risk prevention: a review. *Journal of Medicinal Food* **2013**, *16*, 185. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁵ Delfino, R. A.; Canniatti-Brazaca, S. G. Interação de polifenóis e proteínas e o efeito na digestibilidade proteica de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Pérola. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **2010**, *30*, 308. [CrossRef]
- ⁴⁶ Amarowicz, R.; Shahidi, F. Antioxidant activity of broad bean (*Vicia faba*) seed extract and its phenolic composition. *Journal of Functional Foods* **2017**, *38*, 656. [CrossRef]
- ⁴⁷ Aguilera, Y.; Diaz, M. F.; Jimenez, T.; Benitez, V.; Herrera, T.; Cuadrado, C. Changes in nonnutritional factors and antioxidant activity during germination of nonconventional legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2013**, *61*, 8120. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁸ Shohag, M. J. I.; Wei, Y. Y.; Yang, X. E. Changes of folate and other potential health-promoting phytochemicals in legume seeds as affected by germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2012**, *60*, 9137. [CrossRef]
- ⁴⁹ Aguilera, Y., Liebana, R., Herrera, T., Rebollo-Hernanz, M., Sanchez-Puelles, C., Benitez, V. Effect of illumination on the content of melatonin, phenolic compounds, and antioxidant activity during germination of lentils (*Lens culinaris* L.) and kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2014**, *62*, 10736. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁰ Cai, R.; Hettiarachchy, N. S.; Jalaluddin, A. High-performance liquid chromatography determination of phenolic constituents in 17 varieties of cowpeas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, *51*, 1623. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵¹ Limmongkon, A.; Janhom, P.; Amthong, A. Antioxidant activity, total phenolic, and resveratrol content in five cultivars of peanut Sprouts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **2017**, *7*, 332. [CrossRef]
- ⁵² Dogra V.; Ahuja, P. S.; Sreenivasulu, Y. Change in protein content during seed germination of a high altitude plant *Podophyllum hexandrum* Royle. *Journal of Proteomics* **2013**, *78*, 26. [CrossRef]
- ⁵³ Granito, M.; Brito, Y.; Torres, A. Chemical composition, antioxidant capacity and functionality of raw and processed (*Phaseolus lunatus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2007**, *87*, 2801. [CrossRef]
- ⁵⁴ Aguilera, Y.; Dueñas, M.; Estrella, I.; Hernández, T.; Benitez, V.; Esteban, R. M.; Martín-Cabrejas, M. A. Evaluation of phenolic profile and antioxidant properties of Pardina lentil as affected by industrial dehydration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2010**, *58*, 10101. [CrossRef]
- ⁵⁵ Aguilera, Y.; Estrella, I.; Benitez, V.; Esteban, R. M.; Martín-Abrejas, M. A. Bioactive phenolic compounds and functional properties of dehydrated bean flours. *Food Research International* **2011**, *44*, 774 [CrossRef]
- ⁵⁶ Ramírez-Jiménez, A.K.; Reynoso-Camacho, R.; Mendoza-Díaz, S.; Loarca-Piña, G. Functional and technological potential of dehydrated *Phaseolus vulgaris* L. flours. *Food Chemistry* **2014**, *161*, 254. [CrossRef]
- ⁵⁷ Gan, Ren-You; Wang, Ming-Fu; Lui, Wing-Yee; Wu, K.; Corke, H. Dynamic changes in phytochemical composition and antioxidant capacity in green and black mung bean (*Vigna radiata*) sprouts. *International Journal of Food Science and Technology* **2016**, *51*, 2090. [CrossRef]
- ⁵⁸ Tang, D.; Dong, Y.; Ren, H.; Li, L.; He, C. A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common food mung bean and its sprouts (*Vigna*

radiata). *Chemistry Central Journal* **2014**, *8*, 4. [CrossRef] [PubMed]

⁵⁹ Oloyo, R. A. Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. *Food Chemistry* **2004**, *85*, 497. [CrossRef]

⁶⁰ Uchegbu, N. N.; Charles, N.; Ishiwu, C. N. Germinated pigeon pea (*Cajanus cajan*): A novel diet for lowering oxidative stress and hyperglycemia. *Food Science & Nutrition* **2016**, *4*, 772. [CrossRef] [PubMed]

⁶¹ Gutiérrez-Urbe, J. A.; Romo-Lopez, I.; Serna-Saldívar, S. O. Phenolic composition and mammary cancer cell inhibition of extracts of whole cowpeas (*Vigna unguiculata*) and its anatomical parts. *Journal of Functional Foods* **2011**, *3*, 290. [CrossRef]

⁶² Dueñas, M.; Martínez-Villaluenga, C.; Limón, R. I.; Peñas, E.; Frias, J. Effect of germination and elicitation on phenolic composition and bioactivity of kidney beans. *Food Research International* **2015**, *70*, 55. [CrossRef]

⁶³ Kanatt, S. R.; Arhun, A.; Sharma. Antioxidant and antimicrobial activity of legume hulls. *Food Research International* **2011**, *44*, 3182. [CrossRef]

⁶⁴ Singh, B.; Singh, J. P.; Kaurb, A.; Singh, N. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A Review. *Food Research International* **2017**, *1*, 101. [CrossRef]