

**Efeito do tempo de germinação nas propriedades estruturais da farinha do feijão azuki  
(*Vigna agularis*) germinado**

**Effect of germination time on structural properties of azuki bean flour (*Vigna agularis*)  
germination**

**Efecto del tiempo de germinación en las propiedades estructurales de la harina de  
frijoles azuki (*Vigna agularis*) germinación**

Recebido: 03/12/2019 | Revisado: 10/12/2019 | Aceito: 10/12/2019 | Publicado: 19/12/2019

**Raphael Lucas Jacinto Almeida**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7232-2373>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: [raphaelqindustrial@gmail.com](mailto:raphaelqindustrial@gmail.com)

**Newton Carlos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9603-2503>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: [newtonquimicoindustrial@gmail.com](mailto:newtonquimicoindustrial@gmail.com)

**Tamires dos Santos Pereira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2627-036X>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: [tsantosp16@gmail.com](mailto:tsantosp16@gmail.com)

**Virgínia Mirtes de Alcântara Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6493-3203>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: [virginia.mirtes2015@gmail.com](mailto:virginia.mirtes2015@gmail.com)

**Victor Herbert de Alcântara Ribeiro**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6286-5403>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: [victor\\_herbert@hotmail.com](mailto:victor_herbert@hotmail.com)

**Igo Marinho Serafim Borges**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3662-1859>

Universidade Estadual da Paraíba, Brasil

E-mail: [igomarinho27@gmail.com](mailto:igomarinho27@gmail.com)

**Renata Duarte Almeida**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5818-3063>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: [renatadual@yahoo.com.br](mailto:renatadual@yahoo.com.br)

**Lucas Rodolfo Inácio da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3684-3117>

Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil

E-mail: [rodolfo\\_i@hotmail.com](mailto:rodolfo_i@hotmail.com)

**Flávia Izabely Nunes Moreira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8863-5526>

Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial, Brasil

E-mail: [flavia\\_izabely@hotmail.com](mailto:flavia_izabely@hotmail.com)

**Maysa Bernardino Cabral**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0859-4942>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: [maysa\\_bernardino@hotmail.com](mailto:maysa_bernardino@hotmail.com)

## **Resumo**

O objetivo do presente trabalho foi analisar as propriedades estruturais da farinha de feijão azuki germinado em diferentes estágios de germinação. A germinação foi conduzida com quatro repetições de 50 sementes e as coletas dos germinados foram efetuadas no 6, 8, 10 e 12º dia, considerando a protrusão ou tamanho da radícula como indicador da germinação. Para obtenção da farinha o feijão azuki germinado foi disposto em bandejas e colocadas em uma estufa de secagem na temperatura de 50 °C e velocidade de ar de 1,0 m.s<sup>-1</sup> até massa constante; foram realizadas as análises de difração de raio-X e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier nas formulações. Todas as amostras foram classificadas em tipo A de cristalinidade e apresentou aumento no grau de cristalinidade de acordo com o tempo de germinação. A estrutura das moléculas da farinha de feijão azuki germinado foi modificada de acordo com o tempo de germinação e o tamanho da radícula. Foi notado diferenças de intensidade nos difratogramas e nos espectogramas, neste último nenhum pico diferente foi verificado pela germinação prolongada.

**Palavras-chave:** Difração de raio-X; FTIR; Leguminosa.

## **Abstract**

The aim of the present work was to analyze the structural properties of germinated adzuki bean flour at different germination stages. Germination was conducted with four replications of 50 seeds and germination was performed at 6, 8, 10 and 12 days, considering protrusion or root size as an indicator of germination. To obtain the flour, germinated adzuki beans were placed in trays and placed in a drying oven at a temperature of 50 °C and an air velocity of 1.0 m.s<sup>-1</sup> until constant mass; X-ray diffraction analyzes and Fourier transform infrared spectroscopy were performed in the formulations. All samples were classified as crystallinity type A and showed an increase in the degree of crystallinity according to germination time. The structure of molecules of germinated adzuki bean flour was modified according to germination time and root size. Differences in intensity were observed in diffractograms and spectrograms, in the latter no different peak was verified by prolonged germination.

**Keywords:** X-ray diffraction; FTIR; Legume.

### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue analizar las propiedades estructurales de la harina de frijol adzuki germinada en diferentes etapas de germinación. La germinación se realizó con cuatro repeticiones de 50 semillas y las muestras germinadas se recolectaron a los 6, 8, 10 y 12 días, considerando la protrusión o el tamaño de la raíz como un indicador de germinación. Para obtener la harina, los frijoles adzuki germinados se colocaron en bandejas y se colocaron en un horno de secado a una temperatura de 50 °C y una velocidad del aire de 1.0 m.s<sup>-1</sup> hasta una masa constante; Se realizaron análisis de difracción de rayos X y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier en las formulaciones. Todas las muestras se clasificaron como cristalinidad tipo A y mostraron un aumento en el grado de cristalinidad según el tiempo de germinación. La estructura de las moléculas de harina de frijol adzuki germinada se modificó de acuerdo con el tiempo de germinación y el tamaño de la raíz. Se observaron diferencias en la intensidad en difractogramas y espectrogramas, en este último no se verificó un pico diferente por germinación prolongada.

**Palabras clave:** Difracción de rayos X; FTIR; Legumbre.

### 1. Introdução

O feijão Azuki é a segunda mais importante leguminosa no Japão após a soja. De acordo com os resultados da pesquisa, o Japão deveria ser um local possível onde o feijão azuki foi domesticado (Kaga et al. 2008; Win et al., 2016). O feijão azuki (*Vigna angularis*),

originário das regiões tropicais da Ásia e uma das culturas mais importantes do Japão, China e Coreia do Sul (Mukai e Sato, 2011), é rico em proteínas, polissacarídeos, fibras, gorduras e outros vários micronutrientes como as vitaminas do complexo B e minerais como fósforo, cálcio e ferro (Kan et al. 2018). É um grão muito divulgado pela escola macrobiótica, de grande valor nutricional. Além disto este feijão fermenta menos do que os outros, auxilia na formação óssea, sendo indicado para disfunções renais, hipertensão e diabetes (Pajak, 2014). A germinação é, possivelmente, um dos processos mais antigos, simples e econômicos empregados para melhorar o valor nutricional de grãos de cereais. Trata-se de uma alternativa adequada para a redução dos fatores antinutricionais, digestibilidade, inibidores de proteases, presentes originariamente nestes grãos, além de converter proteínas vegetais de baixa qualidade nutricional em proteínas de melhor qualidade (Lopez-Amorós, 2013).

A germinação inicia-se quando a semente seca começa a absorver a água e se completa quando o eixo embrionário alonga. Neste ponto, as reservas dentro dos tecidos de armazenamento da semente são mobilizadas para apoiar o crescimento das plântulas (Bewley et al., 2001). A partir do momento em que quebram a dormência das sementes, as respostas de proteção ocorrem através da síntese de fenóis e outros compostos (Taiz e Zeiger, 2004). O objetivo do presente estudo foi analisar as propriedades estruturais da farinha de feijão azuki em diferentes estágios de germinação.

## 2. Metodologia

As amostras de feijão azuki foram adquiridas no comércio local e analisadas no Laboratório de Engenharia de alimento da Universidade Federal de Campina Grande.

A germinação foi conduzida com quatro repetições de 50 sementes, distribuídas em caixas gerbox sobre três folhas de papel germitest, umedecido com 2,5 vezes a sua massa com água destilada, colocadas no germinador, regulado com temperatura constante de 25 °C ( $\pm 2$ ), umidade relativa do ar de 80 % ( $\pm 5$ ). As coletas dos germinados foram efetuadas no 6, 8, 10 e 12º dia, considerando a protrusão ou tamanho da radícula como indicador da germinação e como forma de padronizar a coleta conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Para obtenção da farinha o feijão germinado foi disposto em bandejas e colocadas em uma estufa de secagem na temperatura de 50 °C e velocidade de ar de 1,0 m.s<sup>-1</sup> até massa constante; As amostras desidratadas foram maceradas em moinho de bolas (Marconi, MA 350) até adquirirem aspecto de farinha, logo após foram passados em peneira de 60 mesh para

obtenção da granulometria fina, em seguida foram acondicionadas em embalagens laminadas sob o abrigo de luz, até o momento de realização das análises.

O padrão de difração de raios-X foi determinado por difratômetro de Raio X – Shimadzu – XRD – 7000 pela metodologia de Won et al. (2017) com adaptações, utilizando radiação  $K\alpha$  do cobre (1,5418 Å), 40 kV, 40 mA, com um passo de 0,05 e taxa de varredura de 0,5 °/min na temperatura ambiente. A faixa de varredura da difração foi ajustada para ângulos de 5° a 65° (2 $\theta$ ). Os difratogramas foram utilizados para identificação das fases que compõem um material cristalino. A leitura de um difratômetro foi realizada por meio de um gráfico que fornece o registro das contagens por segundo (proporcional à intensidade difratada) versus a difração do ângulo 2 $\theta$  (feixe transmitido).

O grau de cristalinidade das amostras foi obtido segundo a Equação 1.

$$X_c(\%) = \frac{I_c}{(I_c + I_a)} \cdot 100 \quad (1)$$

Em que:

$X_c$  = o grau de cristalinidade;

$I_c$  = somatório das áreas dos picos cristalinos;

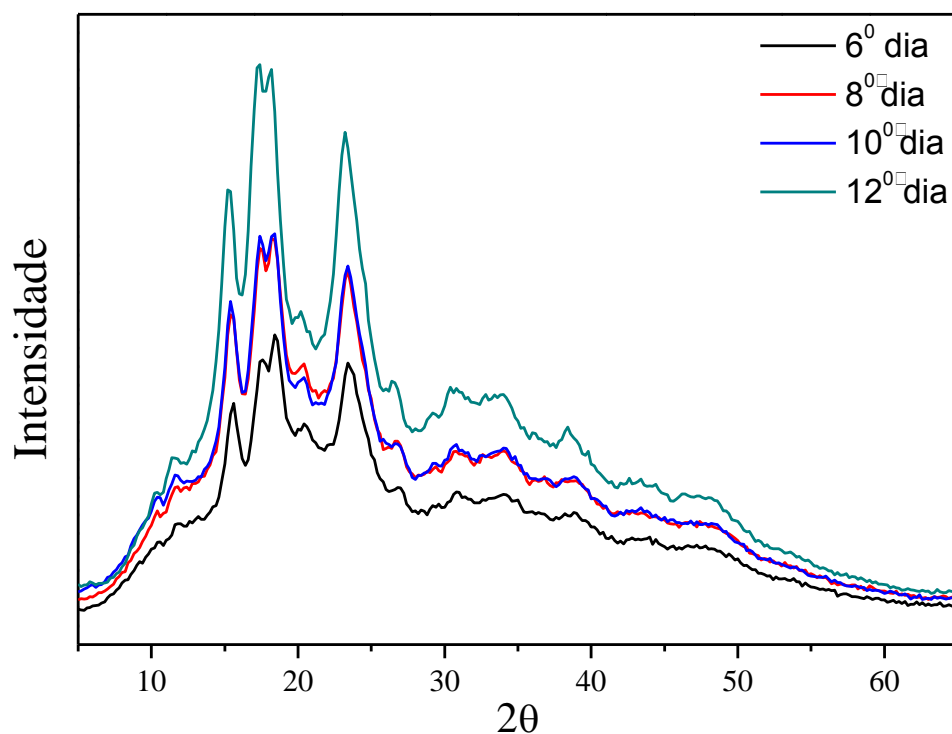
$I_a$  = área do halo amorfo.

Os espectros de infravermelho das amostras de amidos de arroz nativo e modificado foram obtidos em espectrofotômetro de absorção na região do infravermelho utilizando um equipamento Spectrum 400 da Perkin Elmer na região de 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ , segundo a metodologia de Chung et al. (2011) com adaptações. Foram preparadas pastilhas a partir da mistura das amostras com KBr em uma proporção de 1:100 (amostra:KBr). Sendo recolhidas dez leituras a uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3. Resultados

O resultado da análise de Difração de raios-X para a farinha de feijão azuki está mostrada na Figura 1 e o grau de cristalinidade assim como os picos cristalinos na Tabela 1.

**Figura 1-** Difratomogramas de raios X da farinha de feijão azuki germinado em diferentes dias de germinação.



Fonte: Própria (2019).

**Tabela 1-** Valores dos picos cristalinos e o grau de cristalinidade.

Farinha de feijão azuki germinado (dias de germinação)	Picos	Grau de cristalinidade
6º dia	15,6°; 18,4° e 23,4°	17,55%
8º dia	15,4°; 18,2° e 23,4°	20,88%
10º dia	15,4°; 18,4° e 23,4°	20,95%
12º dia	15,2°; 18,2° e 23,2°	23,06%

Fonte: Própria (2019).

A análise por técnica de difração de raios X permite distinguir os três tipos de cristalinidade para os grânulos que, dependendo de sua forma e estrutura cristalina, denominam-se A, B e C, apresentando diferentes picos de intensidade nos ângulos de difração

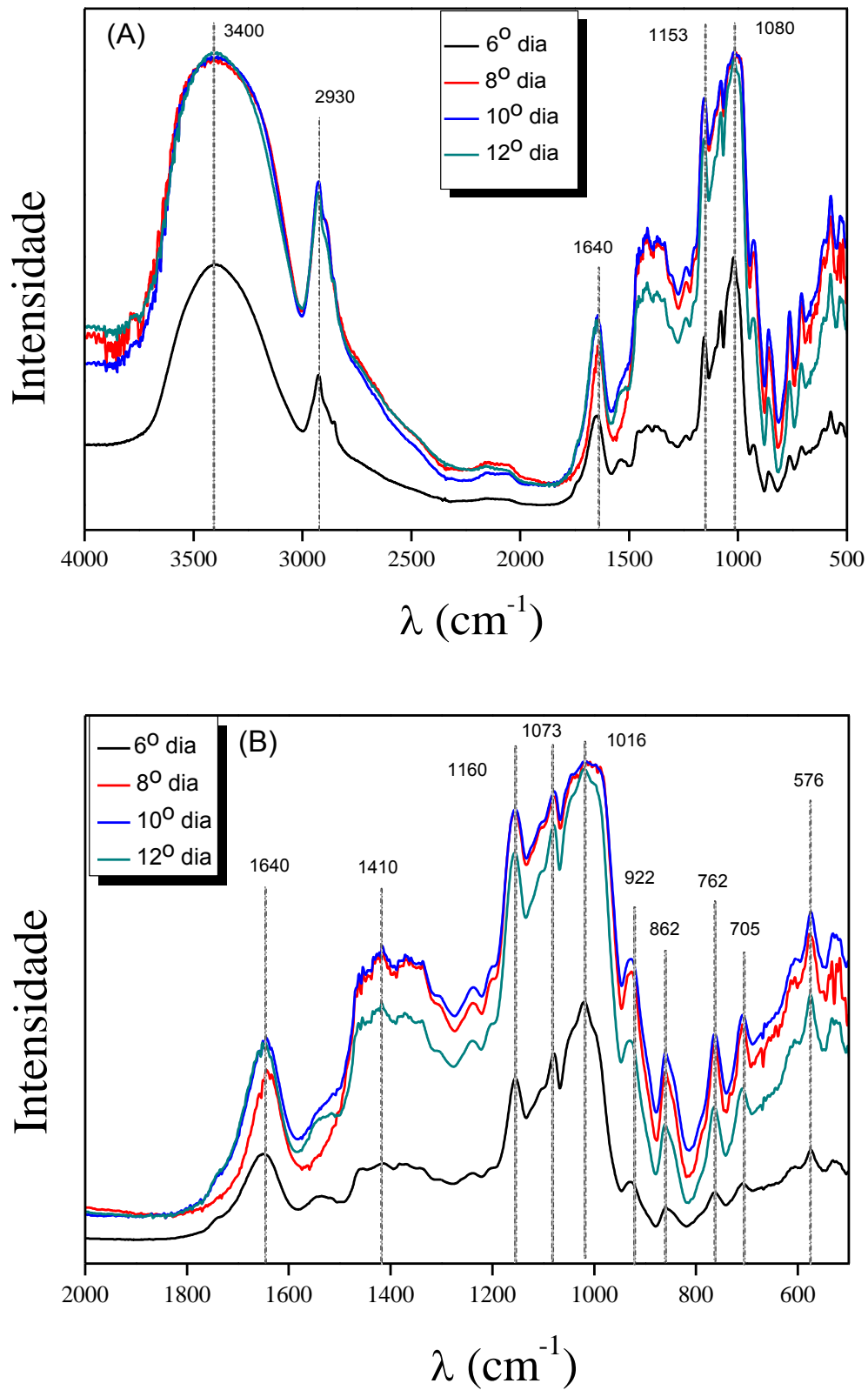
20. Pertencente ao tipo A aqueles que apresentam picos de 15,3; 17,1; 18,2 e 23,5°, ao tipo B em 5,6; 14,4; 17,2; 22,2 e 24° e ao tipo C quando apresentarem picos em 20 misturados de A e B. A farinha é classificada como grupo A para todos os tempos de germinação. Este resultado está de acordo com os dados relatados por Van Soest e Vliegenthart (1997) e Sajilata et al. (2006), no qual os autores afirmam que os amidos de cereais apresentam cristalinidade do tipo A, os amidos de tubérculos cristalinidade do tipo B e os amidos de raízes e sementes cristalinidade do tipo C. O mesmo foi encontrado por Granza et al. (2015) no qual estudaram a modificação do feijão carioca por acetilação e encontraram cristalinidade tipo A para os picos de 15°, 18° e 23°.

A hidratação dos grânulos e do condições de análise pode influenciar na resolução dos padrões e na classificação nos tipos A, B e C (Donald, 2004). O tamanho e a quantidade de cristais são diretamente relacionados ao teor de amilose e amilopectina, assim como seus comprimentos de cadeia, pela orientação e interação das duplas hélices nas zonas cristalinas, o que acaba interferindo nos padrões e no grau de cristalinidade (Ambigaipalan et al., 2011; Hoover et al., 2010; Vanier et al., 2012).

O grau de cristalinidade das amostras de feijão azuki variaram de 17,55 a 23,06% de acordo com o tempo de germinação, durante as buscas por trabalhos semelhantes na literatura para o mesmo produto foram encontrados valores próximos para o amido de feijão, Granza et al. (2015) verificaram o que valor variou de 22,2 a 27,6% para o feijão carioca, Bedin (2014) para o feijão carioca e IPR Tuiuiu (preto) foram de 33,0 a 36,9%. Ambigaipalan et al. (2011) de 20,2 a 21,9% para o feijão fava, 20,4 a 21,3% para o feijão preto e de 21,5 a 23,1% para o feijão “pinto bean”. Os valores encontrados no presente trabalho se assemelhou mais aos estudos feitos por Maaran et al. (2014) que obtiveram uma variação de 19,9 a 26,5% para diferentes variedades de feijão e por Hoover et al. (2010) onde a cristalinidade variou de 17 a 34%.

Os resultados da análise de FTIR para a farinha de feijão azuki encontra-se na Figura 2.

**Figura 2-** Espectrogramas de FTIR de amostras de farinha de feijão azuki (A) comprimento de onda completo analisado (B) destaque na região de 2000-650 $\text{cm}^{-1}$ .



Fonte: Própria (2019).



Os picos observados a ( $950-700\text{ cm}^{-1}$ ) estão associados à deformação dos grupos lateral COH, CCH e OCH contendo ligações CC esticadas, com as regiões do esqueleto da molécula contendo deformações exocíclicas ( $700-500\text{ cm}^{-1}$ ) (Mrozek e Weaver, 2002). A literatura inclui evidências de picos detectados nas bandas espectrais de máxima intensidade entre  $854\text{ cm}^{-1}$  e  $1100,50\text{ cm}^{-1}$ , semelhantes aos encontrados no amido deste estudo ( $1081\text{ cm}^{-1}$  e  $998\text{ cm}^{-1}$ ) (Valencia et al. 2015; Ascheri et al. 2014). As bandas próximas a  $990$  e  $1081\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas às deformações CH<sub>2</sub> e C-OH. Enquanto que Mina et al. (2011) verificaram que normalmente as bandas que aparecem na região entre  $1080\text{ cm}^{-1}$  e  $990\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas à vibração axial assimétrica do COC, à vibração axial do CO e à vibração axial da corrente principal.

As bandas na região  $1000$  a  $1200\text{ cm}^{-1}$  são consideradas bandas características do amido presente na farinha do feijão azuki e são atribuídas a vibrações de deformação axial de C-O em alcoóis e as vibrações de deformação axial do sistema O-C-O. O grupo C-O-C (éter) presente em um anel de seis átomos (como no monômero de glicose) absorve em  $1071-1158\text{ cm}^{-1}$  e dependendo de deformação axial (simétrica ou assimétrica) essas bandas irão se deslocar (Silverstein e Bassler, 1962). Os espectros de infravermelho da farinha do feijão azuki apresentam bandas na região próxima a  $1153\text{ cm}^{-1}$ , que correspondem ao estiramento C-O e C-C com alguma contribuição do estiramento C-OH.

As deformações moleculares existentes a  $1650$  e  $3400\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento e a deformação angular de ligações (-OH), referentes ao pico de teor de água. Além dessas bandas, é possível observar a banda próxima a  $2930\text{ cm}^{-1}$ , atribuída à deformação axial de ligações C-H (lipídios). As bandas correspondentes ao estiramento C-H são mostradas na região  $2900-3000\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que a banda larga a  $3295\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída a vibrações de OH.

#### **4. Considerações finais**

A estrutura das moléculas da farinha de feijão azuki foi modificada de acordo com o tempo de germinação e o tamanho da radícula. No qual provavelmente sofreu a influência devido ao teor de amilose e amilopectina do grânulo, assim como a porcentagem de hidratação do produto. Foi notado diferenças de intensidade nos difratogramas e nos espectogramas, neste último nenhum pico diferente foi verificado pela germinação prolongada.

Como sugestões de trabalhos futuros, pode-se avaliar as propriedades do feijão germinado em diferentes tempos de germinação e conseqüentemente obtendo sua farinha em diferentes temperaturas. Extrair o amido do feijão azuki e realizar as análises estruturais do amido, além de realizar análises físico-químicas e de compostos bioativos no feijão *in natura* e nas suas farinhas germinadas.

## Referências

Ambigaipalan, P., Hoover, R., Donner, E., Liu, Q., Jaiswal, S., Chibbar, R., & Seetharaman, K. (2011). Structure of faba bean, black bean and pinto bean starches at different levels of granule organization and their physicochemical properties. *Food Research International*, 44(9), 2962-2974.

Ascheri, D. P. R., Morais, C. C., Asquieri, E. R., Carvalho, C. W. P., & Ascheri, J. L. R. (2014). Characterization of starch extracted from the roots of *Cissus simsiana* Roem. & Schult. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(2), 787-799.

Bedin, A. C. (2014). *Caracterização de misturas de amidos de feijão e tuberosas (mandioca e batata-doce) e sua aplicação na obtenção de biofilmes*.

Bewley, J. D., Hempel, F. D., McCormick, S., Zambryski, P. Reproductive development. In: Buchanan, B.B.; Gruissem, W.; Jones, R.L. (Eds.). (2001). *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville, MD: Courier Companies.

Brasil. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. (2009). *Regras para análise de sementes*. Brasília.

Chung, H. J., Liu, Q., Lee, L., Wei, D. (2011). Relationship between the Structure, physicochemical Properties and in Vitro Digestibility of Rice Starches with Different Amylose Contents. *Food Hydrocolloids*, 25, p.968–975.

Donnald, A. M. (2004). Understanding starch structure and functionality. In: Eliasson, A. C. *Starch in food: structure function and applications*. CRC Press, cap. 5, p. 156-184.

Granza, A. G., Travalini, A. P., Farias, F. O., Colman, T. A. D., Schnitzler, E., & Demiate, I. M. (2015). Effects of acetylation and acetylation–hydroxypropylation (dual-modification) on the properties of starch from Carioca bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 119(1), 769-777.

Hoover, R., & Ratnayake, W. S. (2002). Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chemistry*, 78(4), 489-498.

Kaga, A., Isemura, T., Tomooka, N., Vaughan, D. 2008. The genetics of domestication of the azuki bean (*Vigna angularis*). *Genetics*, 178(2), 1013e1036.

Kan, L., Nie, S., Hu, J., Wang, S., Bai, Z., Wang, J., Zhou, Y., Jiang, J., Zeng, Q., & Song, K. (2018). Comparative study on the chemical composition, anthocyanins, tocopherols and carotenoids of selected legumes. *Food Chemistry*, 260, 317-326.

López-Amoros, M. L., El-Naggar, T., Dueñas, M., Ortega, T., Estrella, Hernandez, T., Carretero, M. E. (2013). Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 138(1), 547-555.

Maaran, S., Hoover, R., Donner, E., & Liu, Q. (2014). Composition, structure, morphology and physicochemical properties of lablab bean, navy bean, rice bean, tepary bean and velvet bean starches. *Food chemistry*, 152, 491-499.

Mina, J., Valadez-Gonzalez, A., Herrera-Franco, P., Zuluaga, F., & Delvasto, S. (2011). Physicochemical characterization of natural and acetylated thermoplastic cassava starch. *Dyna*, 78(166), 174-182.

Mrozek, M. F., & Weaver, M. J. (2002). Detection and identification of aqueous saccharides by using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Analytical chemistry*, 74(16), 4069-4075.

Mukai, Y., & Sato, S. (2011). Polyphenol-containing azuki bean (*Vigna angularis*) seed coats attenuate vascular oxidative stress and inflammation in spontaneously hypertensive rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(1), 16-21.

Pajak, P., Socha, R.; Galkowska, D., Roznowski, J., Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 43, 300–306.

Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch—a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 5(1), 1-17.

Silverstein, R. M., & Bassler, G. C. (1962). Spectrometric identification of organic compounds. *Journal of Chemical Education*, 39(11), 546.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2004). *Fisiologia Vegetal* (3. ed). Porto Alegre: *Artmed*.

Valencia, G. A., Moraes, I. C. F., Lourenço, R. V., Bittante, A. M. Q. B., & Sobral, P. J. D. A. (2015). Physicochemical, morphological, and functional properties of flour and starch from peach palm (*Bactris gasipaes* K.) fruit. *Starch-Stärke*, 67(1-2), 163-173.

Vanier, N. L., da Rosa Zavareze, E., Pinto, V. Z., Klein, B., Botelho, F. T., Dias, A. R. G., & Elias, M. C. (2012). Physicochemical, crystallinity, pasting and morphological properties of bean starch oxidised by different concentrations of sodium hypochlorite. *Food chemistry*, 131(4), 1255-1262.

Van Soest, J. J., & Vliegenthart, J. F. (1997). Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. *Trends in biotechnology*, 15(6), 208-213.

Win, K. T., Oo, A. Z., Kojima, K., Salem, D., Yamaya, H., Bellingrath-Kimura, S. D., ... & Yokoyama, T. (2016). Genotypic difference in <sup>137</sup>Cs accumulation and transfer from the contaminated field in Fukushima to azuki bean (*Vigna angularis*). *Journal of environmental radioactivity*, 158, 138-147.

Won, C., Jin, Y. I., Kim, M., Lee, Y., Chang, Y. H. (2017). Structural and Rheological Properties of Potato Starch Affected by Degree of Substitution by Octenyl Succinic Anhydride. *International Journal of Food Properties*. Doi:10.1080/10942912.2016.1272610.

**Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Raphael Lucas Jacinto Almeida – 10%

Newton Carlos Santos – 10%

Tamires dos Santos Pereira – 10%

Virgínia Mirtes de Alcântara Silva – 10%

Victor Herbert de Alcântara Ribeiro – 10%

Igo Marinho Serafim Borges – 10%

Renata Duarte Almeida – 10%

Lucas Rodolfo Inácio da Silva – 10%

Flávia Izabely Nunes Moreira – 10%

Maysa Bernardino Cabral – 10%