

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, TEORES DE ISOFLAVONAS E INIBIDOR DE TRIPSINA EM CULTIVARES DE SOJA ESPECIAIS PARA A ALIMENTAÇÃO HUMANA

PROXIMATE COMPOSITION AND CONTENTS OF ISOFLAVONES AND TRYPSIN INHIBITOR IN SPECIAL SOYBEAN CULTIVARS FOR HUMAN CONSUMPTION

ALVES, F.P.¹; OLIVEIRA, M.A.²; MANDARINO, J.M.G.²; LEITE, R.S.²; SEIBEL, N.F.³

- ¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Londrina, PR; e-mail: fernanda perico@hotmail.com
- ² Embrapa Soja, Londrina, PR;

Resumo

A soja é considerada uma das principais culturas mundiais por apresentar ampla variabilidade genética e morfológica, que resulta em plantas distintas em relação à composição dos grãos, a à produtividade, à resistência a doenças e pragas e ao cultivo em diferentes regiões. A fim de salientar as características nutricionais desse grão, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização físico-química e a quantificação dos teores de isoflavonas e inibidores de tripsina das cultivares de soja especiais para a alimentação humana: Embrapa 48, BRS 213, BRS 216, BRS 257, BRS 258, BRS 267 e BRS 282; e da cultivar convencional BRS 232, todas desenvolvidas pela Embrapa Soja e cultivadas na safra 2009/10. Foram realizadas as seguintes análises: composição centesimal (umidade, proteínas, lipídios, cinzas, carboidratos), teores de isoflavonas totais e de inibidor de tripsina. A cultivar BRS 258 se destacou pelo alto teor de proteína, Embrapa 48 pelo alto teor de lipídios; BRS 213 pelo alto teor de isoflavona e a cultivar BRS 232, pelo baixo teor de inibidor de tripsina. Assim sendo, é possível a indicação de uma cultivar para fins industriais específicos, resultando em maior viabilidade econômica e qualidade dos produtos obtidos.

Introdução

Originária do leste asiático, a soja pertence à família Leguminosae, cuja espécie cultivada é classificada como *Glycine max (L.) Merril.* Atualmente é considerada uma das principais culturas mundiais por apresentar ampla variabilidade genética e morfológica, que resulta em plantas distintas em relação à composição dos grãos, à produtividade, à resistência a doenças e pragas e ao cultivo em diferentes regiões. (VERNETTI, 1983; SEDIYAMA; TEIXEIRA; BARROS, 2009). Além da questão de variabilidade entre as cultivares, a soja tem como diferencial o alto valor nutricional e funcional, o que permite a sua utilização em inúmeros processos industriais.

As isoflavonas ou isoflavonóides são compostos fenólicos, pertencente à classe dos fitoestrógenos. São conhecidos cerca de 20 tipos de fitoestrógenos, e as formas mais comuns encontradas em leguminosas são as isoflavonas, presentes em maior concentração na soja (BEDANI; ROSSI, 2005). As isoflavonas são consideradas um medicamento fitoterápico, com obrigatoriedade de registro, entretanto o consumo de soja e seus derivados não pode ser considerado um tratamento medicamentoso (ANVISA, 2011). Diversos estudos realizados têm relatado que os fitoestrógenos possuem diversas atividades, citando como exemplo: redução de doenças coronárias, retardamento da manifestação de arteriosclerose, efeitos benéficos na hipercolesterolemia, proteção contra câncer e da melhoria da atividade hormonal (MATOS et al., 2005). Mesmo com o melhoramento genético e o avanço das técnicas de processamento, os grãos de soja e seus derivados ainda têm consumo restrito e, desta forma, as isoflavonas presentes deixam de ser consumidas pela população.

Apesar da soja apresentar proteínas de alta qualidade, a presença de alguns fatores antinutricionais diminui a digestibilidade das proteínas. Encontrados em uma grande variedade de plantas, estes fatores antinutricionais (inibidores de proteínas) são proteínas capazes de

³ Universidade Tecnológica Federal do Paraná/UTFPR, Londrina, PR.



impedir a ação de algumas proteases, entre elas a tripsina. A tripsina é uma enzima secretada pelo pâncreas, responsável pela digestão de proteínas, através da quebra de ligações peptídicas. O inibidor se liga à tripsina e impede a digestão das proteínas. Com o aumento da concentração de proteínas, o pâncreas é estimulado a produzir mais tripsina, causando uma hipertrofia pancreática. A maior parte do inibidor de tripsina é inativado ou inibido quando utilizados tratamentos térmicos adequados (GENOVESE; LAJOLO, 2006; SILVA; SILVA, 2000; MANDARINO, 2010).

Entretanto, aliado à qualidade nutricional, a soja tem baixo custo de produção, o que a transforma em uma excelente alternativa alimentar. Assim, é de grande relevância o conhecimento da composição centesimal e dos teores de isoflavonas e inibidor de tripsina das cultivares, sendo que o presente trabalho teve como objetivo a caracterização físico-química e a quantificação dos teores de isoflavonas e inibidores de tripsina das cultivares de soja especiais para a alimentação humana: Embrapa 48, BRS 213, BRS 216, BRS 257, BRS 258, BRS 267 e BRS 282; e da cultivar convencional BRS 232, todas desenvolvidas pela Embrapa Soja e cultivadas na safra 2009/10.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Análises Físico-Químicas e Cromatográficas da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Amostras de grãos, em triplicata, foram moídas em moinho refrigerado TECNAL, modelo TE 631-2, e em seguida analisadas, conforme as metodologias oficiais do Instituto Adolfo Lutz (2008). A umidade foi determinada por diferença gravimétrica, usando analisador de aquecimento por infravermelho marca OHAUS, modelo MB45. Os teores de lipídios dos grãos foram determinados através de extração com nhexano em aparelho Soxhlet, durante 6 horas. A quantificação de proteína bruta das amostras foi feita pelo método de Kjeldahl. A determinação das cinzas ou resíduo mineral fixo foi feita por calcinação em mufla EDG, modelo FI-1s 5P, com rampas de temperaturas para queima (200 a 400°C) e calcinação (550°C por 3 horas). O teor de carboidratos foi determinado por diferença em relação à soma dos demais constituintes (NEPA, 2006). As isoflavonas foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), segundo metodologia descrita por Berhow (2002). A extração foi realizada conforme Carrão-Panizzi et al. (2002) e a quantificação do teor de inibidor de tripsina de Kunitz (KSTI) foi realizada segundo Kakade et al. (1974), modificada por Hamerstrand, et al. (1981). Os resultados das análises físico-químicas, isoflavonas e inibidor de tripsina foram tratados por análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey, com nível de significância de 5%, utilizando o Sistema de Análise Estatística - SANEST (NOUEIRA, 1991).

Resultados e Discussão

Entre as cultivares analisadas, o maior teor foi encontrado na cultivar BRS 258 (44,4g.100g⁻¹), diferindo significativamente dos demais grãos (Tabela 1). Santos et al. (2010) relataram teores inferiores para BRS 258 (42,8g.100g⁻¹), assim como Embrapa Soja (2010) (41,7g.100g⁻¹). As diferenças encontradas entre a literatura e os dados obtidos podem ser atribuídas às diferentes safras de cultivo, condições ambientais, locais e ano de plantio (ROCHA, 1996; SANTOS et al., 2010). Indústrias que tem como foco principal a produção de farelo soja podem considerar a cultivar BRS 258 uma alternativa interessante, garantindo um alto rendimento e possibilitando a produção dos farelos de soja com alto teor de proteína. Os teores médios de proteína das cultivares Embrapa 48, BRS 213, BRS 232, BRS 257, BRS 267 e BRS 282 relatados por Embrapa Soja (2010) são muito semelhantes aos encontrados neste trabalho, enquanto a cultivar BRS 216 apresentou valor inferior ao da literatura (43,1g.100g⁻¹).



Tabela 1. Composição centesimal de oito diferentes cultivares de grãos de soja (g.100g⁻¹).

Cultivar	Umidade	Proteína ¹	Lipídios ¹	Cinzas ¹	Carboidratos ²
Embrapa 48	$6,14 \pm 0,95^{\underline{a}}$	40,11 ± 0,58 ^{bc}	22,45 ± 1,31 ^a	$4,97 \pm 0,10^{de}$	33,09 ± 1,35 ^{abc}
BRS 213	$5,35 \pm 0,19^{\underline{a}}$	$39,50 \pm 0,26^{\circ}$	$21,86 \pm 0,65^{ab}$	$4,90 \pm 0,30^{e}$	$33,74 \pm 1,06^{abc}$
BRS 216	$5,61 \pm 0,23^{\underline{a}}$	$41,08 \pm 0,54^{bc}$	19,19 ± 1,32 ^{cd}	$4,45 \pm 0,15^{e}$	35,28 ± 1,35 ^a
BRS 232	$5,69 \pm 0,07^{\underline{a}}$	$40,99 \pm 0,51^{bc}$	$20,72 \pm 0,71^{abcd}$	$5,47 \pm 0,16^{cd}$	$32,82 \pm 0,95^{abc}$
BRS 257	$5,67 \pm 1,11^{a}$	41,66 ± 1,38 ^b	$21,17 \pm 0,70^{abc}$	$6,60 \pm 0,12^a$	$30,58 \pm 0,12^{c}$
BRS 258	$6,63 \pm 0,18^{\underline{a}}$	$44,37 \pm 0,06^{\underline{a}}$	$18,76 \pm 0,62^d$	$5,86 \pm 0,21$ ^{bc}	$31,01 \pm 1,85^{bc}$
BRS 267	$6,02 \pm 0,16^{\underline{a}}$	$39,41 \pm 1,08^{c}$	$20,03 \pm 0,39^{bcd}$	$6,45 \pm 0,30^{a}$	$34,10 \pm 2,49^{ab}$
BRS 282	$6,16 \pm 0,38^{\underline{a}}$	$39,96 \pm 0,27^{bc}$	$20,70 \pm 0,90^{abcd}$	6,35 ± 0,13 ^{ab}	$32,99 \pm 0,50^{abc}$

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey (p≤0,05).

Em geral, os teores de lipídios nos grãos de soja variam entre 13 e 25% e fornecem calorias suficientes para que a proteína ingerida seja metabolizada para síntese de novos tecidos, diferente do que ocorre em uma dieta de baixo conteúdo calórico (CARRÃO-PANIZZI; MANDARINO, 1998). Em relação aos lipídios, a cultivar Embrapa 48 apresentou o maior teor (22,5%), diferindo significativamente das cultivares BRS 267, 216 e BRS 258, que apresentaram teor igual ou inferior a 20% de lipídios. Morais e Silva (1996) afirmaram existir uma relação inversa entre os teores de lipídios e proteínas em uma cultivar de soja, fato que pode ser exemplificado pelos resultados da BRS 258, com o maior teor de proteína e, consequentemente, o menor teor de lipídios.

Quanto às cinzas, ressaltam-se os teores mais altos, encontrados em BRS 257, 267 e 282, superiores a 6,4%, e os teores mais baixos, ocorridos em BRS 213 e 216 e Embrapa 48, menores que 5%. Em termos de carboidratos, BRS 216 apresentou o teor mais elevado (35,3%), diferindo de BRS 257 e 258 (próximas a 31%).

Em relação às isoflavonas, ocorreu uma grande variação entre as cultivares (Tabela 2), sendo os maiores teores encontrados em BRS 213 e BRS 282 (igual ou superior a 365mg.100g¹¹) e o menor da BRS 258 (54mg.100g¹¹). Carrão-Panizzi et al. (2009) já haviam relatado a baixa concentração de isoflavona observada em BRS 258, devido ser um caractere genético herdado em relação à cultivar BR 36, que também tinha menor concentração de isoflavona.

Tabela 2. Teores de isoflavona total (mg.100g⁻¹) e inibidor de tripsina (mg.g⁻¹) em oito diferentes cultivares de soja.

Cultivar	Isoflavonas Totais ¹	Inibidor de Tripsina ¹
Embrapa 48	287,57 ± 14,04°	20,28 ± 0,35 ^a
BRS 213	$386,60 \pm 33,66^{a}$	22,97 ± 2,42 ^a
BRS 216	$334,86 \pm 12,80^{bc}$	18,12 ± 1,63 ^{ab}
BRS 232	123,01 ± 2,74 ^d	13,82 ± 0,73 ^b
BRS 257	$329,28 \pm 6,24^{bc}$	21,02 ± 2,18 ^a
BRS 258	$54,06 \pm 1,05^{\rm e}$	$19,61 \pm 0,90^{\underline{a}}$
BRS 267	148,73 ± 25,69 ^d	23,18 ± 1,64 ^a
BRS 282	$364,56 \pm 12,87^{ab}$	$22,76 \pm 1,92^a$

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey (p≤0,05).

O inibidor de tripsina é considerado um dos fatores antinutricionais da soja. Mandarino & Bolotari, 2004 trabalharam com 13 cultivares desenvolvidas pela Embrapa Soja e relataram

Valores em base seca, média de três repetições ± desvio padrão.,.

² Valores calculados por diferença, média de três repetições ± desvio padrão .

Valores em base seca, média de três repetições ± desvio padrão.



uma variação dos teores de 10,65 a 27,23 mg.g⁻¹, tendo a cultivar BRS 155, conhecida pelo o seu reduzido teor de inibidor, o menor. A cultivar BRS 232 foi a que apresentou o menor valor nesse trabalho (13,8 mg.g⁻¹), teor esse muito semelhante ao da cultivar BRS 155. Assim sendo, o processamento industrial da cultivar BRS 232 permitiria um tratamento térmico mais brando para inativação do inibidor, preservando a qualidade da proteína.

Conclusões

A cultivar BRS 258 se destacou pelo alto teor de proteína, Embrapa 48 pelo alto teor de lipídios; BRS 213 pelo alto teor de isoflavona e a cultivar BRS 232, pelo baixo teor de inibidor de tripsina. Assim sendo, é possível a indicação de uma cultivar para fins industriais específicos, resultando em maior viabilidade econômica e qualidade dos produtos obtidos econômica e qualidade dos produtos obtidos.

Referências

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Sistema de perguntas e respostas**: Isoflavonas. Disponível em:

http://www.anvisa.gov.br/faqdinamica/index.asp?Secao=Usuario&usersecoes=28&userassunto=43. Acesso em: 10 jul 2011.

BEDANI, Raquel; ROSSI, Eliseu Antônio. **Isoflavonas**: Bioquímica, fisiologia e implicações para a saúde. Curitiba, v. 23, n. 2, p. 231-264, jul.-dez. 2005.

BERHOW, M. A. *Modern analytical techniques for flavonoid determination.* In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. *Flavonoids in the living cell.* New York: Klusher Academic. 2002. p. 61-76

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J.M.G. Soja: potencial de uso na dieta brasileira. In: EMBRAPA SOJA. **Documento 113**. Londrina: Embrapa Soja, 1998.

CARRÃO-PANIZZI, M. C., GÓES-FAVONI, S. P., KIKUCHI A. *Extraction time for soybean isoflavone determination*. *Brazilian Archives of Biology and Technology: An International Journal*, Curitiba, v.45; p. 515-518, 2002.

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; BERHOW, M., MANDARINO, J.M.G., OLIVEIRA, M.C.N. Environmental and genetic variation of isoflavone content of soybean seeds grown in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.44,n.11, p.1444-1451, 2009.

EMBRAPA SOJA. **Cultivares de soja 2010/2011 região centro-sul**. Londrina: Embrapa Soja: Fundação Meridional, 2010. 60 p.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. **Fatores antinutricionais da soja.** Informe agropecuário, Belo Horizintes, v. 27, n. 230, p.18-33, jan./fev. 2006.

HAMERSTRAND, G.E.; BLACK, L.T.; GLOVER, J.D. *Trypsin inhibitors in soy products: modification of the standard analytical procedure. Cereal Chemistry*, Saint Paul, v.51, n.1, p.42-45, 1981.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Procedimentos e determinações gerais. In:_____. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KAKADE, M.L.; RACKIS, J.J.; McGHEE, J.E.; PUSKI, G. Determination of trypsin inhibitor analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.51, p.376-382, maio-Jun, 1974.



MANDARINO, J.M.G.; BOLOTARI, M.T. Quantification of Kunitz soybean trypsin inhibitor(KSTI) in Brasilian soybean cultivars developed by Embrapa Soja. In: WORLD SOYBEANRESEARCH CONFERENCE, 7.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 3., 2004, Foz dolguassu. Abstracts... Londrina: Embrapa Soybean, Documentos 228, 2004. p. 139-140.

MANDARINO, J.M.G. **Compostos antinutricionais da soja:** caracterização e propriedades funcionais. In: COSTA, N.M.B.; ROSA, C. de O.B. (ed.). Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos. Rio de Janeiro: Rubio, 2010. p.177- 192, 2010.

MATOS, M. P.; CASTILHO, M. C.; CAMPOS, M. G.; RAMOS, F.; SILVEIRA, I. Quais os benefícios de uma alimentação rica em fitoestrogénios? **Medicina Interna**, v. 12, n. 3, p. 171-182, 2005.

MORAIS, Álvaro Armando C.; SILVA, Alcino Lázaro. Complicações e resistência ao consumo. In: . Soja: suas aplicações. Rio de Janeiro: Medsi, 1996. p. 151-155.

NEPA –Núcleo de estudos e pesquisa em alimentos. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 2. ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. 113p.

NOGUEIRA, M.C.S. Curso de estatística experimental aplicada à experimentação agronômica. Piracicaba, Universidade de São Paulo, 1991. 168p.

ROCHA, V. S. Cultura. *In*: MORAIS, A. A. C.; SILVA, A. L. **Soja:** suas aplicações. Rio de Janeiro: Medsi, 1996. p. 29-66.

SANTOS, H. M. C.; et. al.. Composição centesimal das cultivares de soja BRS 232, BRS 257 e BRS 258 cultivadas em sistema orgânico. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão, v. 1, n. 2, jul-dez. p. 07-10. 2010.

SEDIYAMA, Tuneo; TEIXEIRA, Rita C.; BARROS, Hélio B.. Cultivares. *In:* SEDIYAMA, Tuneo. **Tecnologias de produção e usos da soja.** Londrina: Mecenas, 2009. p. 77-91.

SILVA, Mara R.; SILVA, Maria Aparecida A. P. da. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Revista Nutrição**, v. 13, n. 1, p. 3-9. 2000

VERNETTI, Francisco de Jesus. **Soja:** planta, clima, pragas moléstias e invasoras. Campinas: Fundação Cargill. v.2. 1983.