**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Efeito dos processos de irradiação e germinação nos aspectos
nutricionais, sensoriais e microbiológicos em grãos de soja
(*Glycine max* Merrill) cultivar BRS216**

Ana Paula Corazza Martinez

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2011**

Ana Paula Corazza Martinez
Nutricionista

**Efeito dos processos de irradiação e germinação nos aspectos nutricionais,
sensoriais e microbiológicos em grãos de soja (*Glycine max* Merrill) cultivar
BRS216**

Orientadora:
Prof^a. Dra. **SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em
Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de
Alimentos

Piracicaba
2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Martinez, Ana Paula Corazza

Efeito dos processos de irradiação e germinação nos aspectos nutricionais, sensoriais e microbiológicos em grãos de soja (*Glycine max* Merrill) cultivar BRS216 / Ana Paula Corazza Martinez. - - Piracicaba, 2011.

217 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Análise de alimentos 2. Antioxidantes 3. Composição de alimentos 4. Germinação
5. Irradiação de alimentos 6. Soja 7. Vitaminas I. Título

CDD 664.726
M385e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICO

À Deus, que me abençoou e iluminou nesta caminhada,

E aos meus pais, Paulo Sérgio e Conceição,
que me incentivaram desde o início e
acreditaram nos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. e orientadora Solange Guidolin Canniatti Brazaca, pela orientação, conselhos, confiança, incentivo, inspiração e dedicação. Seus ensinamentos foram fundamentais para que esse projeto se concretizasse! Minha grande admiração.

À minha família. Meus pais, Paulo Sergio e Conceição, que não somente me deram a vida, como me ensinaram a vivê-la com dignidade, não bastaria um "obrigada". Minha eterna e maior gratidão a vocês, que iluminaram o meu caminho com afeto e dedicação para que eu trilhasse sem medo e cheia de esperanças; pais por natureza, por opção e amor. Procuro arduamente uma forma verbal de exprimir uma emoção ímpar, porém me faltam palavras. Aos meus irmãos, Paulo César e Marcos Vinicius, meu exemplo de dedicação e sucesso. Orgulho-me infinitamente em fazer parte dessa família maravilhosa. Amos vocês!

À minha irmã, Patricia, que dividiu comigo os melhores anos de nossas vidas. Você alegrou todos os meus dias, foi à melhor companheira possível em todos os momentos e me provou diversas vezes que nossa amizade é verdadeira e eterna. Hoje já me sinto triste em pensar em me separar de você !!! Obrigada por TUDO!!! TE AMO.

Às minhas avós Conceição Aparecida e Hermida, pelo exemplo de vida que vocês são para mim e que me ensinaram que tudo é possível, basta querer e ter amor pelo que se faz. Amo muito vocês!

Ao Alexandre Taborda, agradeço imensamente o carinho e a atenção que me deu em todos os momentos dessa caminhada, mas, principalmente por ter acreditado e confiado na minha capacidade e vibrado comigo a cada conquista. Te amo!

Ao Prof. Dr. Valter Arthur, pelo auxílio com a parte de irradiação de alimentos.

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, pela grande ajuda com as análises estatísticas;

À EMBRAPA-SOJA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), de Londrina, pela doação dos grãos de soja.

À FAPESP (Fundação de Apoio á Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo financiamento do projeto e pela bolsa concedida.

À Banca Examinadora, por terem doado seu tempo e conhecimento para a correção deste trabalho.

Aos queridos amigos do laboratório de Nutrição Humana: Evelise Boliani, Neila de Moura, Paulo, Natalia, Suzan, Lais, Zilmar Pimenta e Priscila Brigide. Obrigada pelo incentivo, apoio, pela amizade, convivência, pelos felizes momentos compartilhados, troca de experiências, e é claro, pelos nossos maravilhosos dias de análise regados a boas risadas.

Enfim, a todos que eu não mencionei, mas que estiveram presentes nesta caminhada, o meu MUITO OBRIGADO!

EPÍGRAFE

*"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.*

*Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.*

*Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver..."*

Martin Luther King

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	19
1 INTRODUÇÃO	21
Referências	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 Soja	25
2.2 Produção Mundial	26
2.3 Soja Cultivar BRS216.....	28
2.4 Germinação.....	28
2.4.1 Metabolismo e Fases do Processo Germinativo	29
2.4.2 Germinação dos Grãos de Soja	31
2.5 Fatores Antinutricionais da Soja.....	35
2.5.1 Ácido Fítico.....	35
2.5.2 Inibidor de Tripsina	37
2.5.3 Taninos.....	38
2.5.4 Lectinas	39
2.6 Digestibilidade de Proteína.....	42
2.7 Capacidade Antioxidante.....	43
2.8 Compostos Fenólicos	45
2.9 Clorofila e Carotenóides	46
2.10 Vitaminas do Complexo B	49
2.11 Irradiação de Alimentos.....	52
2.12 Efeito das baixas doses de Irradiação na Germinação	54
2.13 Análise Sensorial.....	55
Referências	55
3 Efeito da germinação e irradiação nos fatores antinutricionais da soja (<i>Glycine max</i> Merrill) cultivar BRS216.....	73
Resumo	73
Abstract	73

3.1 Introdução.....	74
3.2 Material e Métodos	75
3.2.1 Matéria-prima.....	75
3.2.2 Irradiação.....	76
3.2.3 Germinação	76
3.2.4 Tratamentos.....	76
3.2.5 Taninos Condensados.....	77
3.2.6 Ácido fítico	77
3.2.7 Inibidor de Tripsina.....	78
3.2.8 Lectina	78
3.2.9 Mineral Fósforo.....	79
3.2.10 Digestibilidade de Proteína <i>in vitro</i>	79
3.2.11 Análise dos dados	79
3.3 Resultados e Discussão	80
3.4 Conclusão.....	98
Referências.....	98
4 Vitaminas do complexo B, Teor e disponibilidade de minerais em grãos de soja (<i>Glycine max</i> Merrill) cultivar BRS216 germinados e irradiados.....	109
Resumo	109
Abstract	109
4.1 Introdução.....	110
4.2 Material e Métodos	112
4.2.1 Matéria-prima.....	112
4.2.2 Irradiação.....	113
4.2.3 Germinação	113
4.2.4 Tratamentos.....	113
4.2.5 Teor de Minerais.....	114
4.2.6 Ácido Fítico	114
4.2.7 Disponibilidade de Ferro, Cálcio, Magnésio e Zinco.....	115
4.2.8 Vitaminas B ₁ , B ₂ e B ₆	115
4.2.9 Análise de dados	117

4.3 Resultados e Discussão	118
4.4 Conclusão	140
Referências	140
5 Impacto da irradiação e germinação sobre os compostos antioxidantes e a atividade antioxidante da soja (<i>Glycine max</i> Merrill) BRS216	149
Resumo	149
Abstract	149
5.1 Introdução	150
5.2 Material e Métodos	154
5.2.1 Matéria-prima	155
5.2.2 Irradiação	155
5.2.3 Germinação	155
5.2.4 Tratamentos	156
5.2.5 Fenólicos Totais	156
5.2.6 Clorofila e Carotenóides Totais	156
5.2.7 Atividade Antioxidante	157
5.2.7.1 DPPH	157
5.2.7.2 ABTS	158
5.2.8 Análise dos dados	158
5.3 Resultados e Discussão	158
5.4 Conclusão	171
Referências	171
6 Efeito das diferentes doses de irradiação gama e tempo de germinação nos aspectos microbiológicos e sensoriais de grãos de soja (<i>Glycine max</i> Merrill) cultivar BRS 216	181
Resumo	181
Abstract	182
6.1 Introdução	182
6.2 Material e Métodos	185
6.2.1 Matéria-prima	185
6.2.2 Irradiação	185
6.2.3 Germinação	186

6.2.4 Tratamentos.....	186
6.2.5 Composição Centesimal	187
6.2.6 Análise Microbiológica	188
6.2.6.1 Preparação das amostras.....	188
6.2.6.2 Coliformes totais e coliformes fecais pelo método do número mais provável (NMP)	189
6.2.6.3 Determinação de <i>Salmonella ssp</i>	190
6.2.7 Análise Sensorial	191
6.2.8 Análise dos dados	192
6.3 Resultados e Discussão	192
6.4 Conclusão.....	203
Referências.....	203
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	211
ANEXOS.....	213

RESUMO

Efeito dos processos de irradiação e germinação nos aspectos nutricionais, sensoriais e microbiológicos em grãos de soja (*Glycine max* Merrill) cultivar BRS216

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma leguminosa de importante significado na alimentação humana devido seus potenciais efeitos benéficos à saúde. Devido ao crescente estímulo ao consumo de grãos de soja pela presença de diversos compostos bioativos, alguns processamentos tem sido estudados como forma de conhecer às alterações desses componetes ao longo dos processos. Diante disso, o presente estudo teve por objetivo estudar as alterações na composição sensorial e nutricional da soja cultivar BRS 216 após processos de irradiação e germinação, individualmente e associados. Inicialmente os grãos foram irradiados com ^{60}Co Cobalto, nas doses de 0,025; 0,075 e 0,150kGy e logo em seguida germinados nos tempos de 48 e 72 horas. Para realização das análises propostas, as amostras foram congeladas e liofilizadas. As análises químicas realizadas foram: composição centesimal e mineral, digestibilidade de proteína *in vitro*, fatores antinutricionais, fenólicos totais, clorofila, carotenóides, vitaminas do complexo B (B_1 , B_2 e B_6) e capacidade antioxidante (ABTS e DPPH). Os aspectos sensoriais foram determinados aplicando-se método de aceitação e intenção de compra. Os resultados indicaram reduções nos teores de taninos, ácido fítico, inibidores de tripsina e hemaglutinina com o processo de germinação. Em decorrência das reduções nos teores dos fatores antinutricionais, notou-se aumento no conteúdo de fósforo (P) e na digestibilidade de proteína. Maiores teores de vitaminas do complexo B (B_1 , B_2 e B_6) também foram observados após 48 e 72 horas de germinação. A disponibilidade dos minerais Ca, Fe, Zn e Mg não apresentaram alterações satisfatórias com o processo de germinação, contradizendo aos resultados encontrados na literatura. Os teores de fenólicos totais apresentaram aumento estatisticamente significativo após 72 horas de germinação. A capacidade antioxidante da soja determinada pelo método ABTS⁺ apresentou valores superiores ao encontrado pelo método de DPPH. Alta correlação foi observado entre o método DPPH e o teor de fenólicos. Foi observado também aumento progressivo e significativo nos teores de clorofila e carotenóides durante a germinação dos grãos, o que evidencia, após realização do teste de Pearson, correlação alta e positiva entre a síntese desses componentes e processo germinativo. O processo de germinação resultou também no aumento estatisticamente significativo nos teores de umidade, pequenas alterações, porém estatisticamente semelhante ao grão controle nos teores de lipídeos e proteínas e diminuições nos teores de cinzas e carboidratos. Para todas as análises químicas realizadas, o processo de irradiação nas diferentes doses utilizadas não influenciou nas concentrações dos compostos analisados. Em relação à análise sensorial, foi observada maior rejeição nas sojas germinadas há 72 horas quando comparados ao tempo de 48 horas. Mesmo assim, apresentou rejeição inferior a 50%, o que pode ser utilizado na produção de brotos, como forma de complemento nutricional na dieta alimentar. Portanto conclui-se que as sojas germinadas, contribuem uma dieta de alta qualidade devendo ser estimulado o aumento do seu consumo na dieta brasileira.

Palavra-chave: Soja BRS 216; Processo de germinação; Processo de irradiação; Composição centesimal; Fatores antinutricionais; Capacidade antioxidante; Vitaminas; Análise sensorial

ABSTRACT

Effect of irradiation and germination processes in the nutritional, sensory and microbiological in soybeans (*Glycine max* Merrill) cultivar BRS216

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is an important legume for human diets due its potential health benefits. Because of the increasing stimulus to soybean consumption, mainly due to its several bioactive compounds, some processing methods have been studied as a way to know changes that occur in these compounds during the processes. Thus, this study aimed to analyze changes in the sensory and nutritional composition of soybean cultivar BRS 216 after irradiation and germination processes, isolated and associated. Initially, the grains were irradiated with Cobalt ⁶⁰ at doses of 0.025, 0.075 and 0.150 kGy and afterwards, they were germinated at 48 and 72 hours. The samples were frozen and lyophilized to perform the proposed analyses. Chemical analyses were conducted on mineral and chemical composition, *in vitro* protein digestibility, anti-nutritional factors, total phenolics, chlorophyll, carotenoids, vitamins B (B₁, B₂ and B₆) and antioxidant capacity (ABTS and DPPH). The sensory aspects were determined by applying the method of acceptance and purchase intent. The results showed reductions in levels of tannins, phytic acid, trypsin inhibitors and hemagglutinin with the germination process. As a result of reductions in levels of anti-nutritional factors, it was observed an increase in the phosphorus content (P) and protein digestibility. Higher contents of vitamins B (B₁, B₂ and B₆) were also observed after 48 and 72 hours of germination. The availability of the minerals Ca, Fe, Zn and Mg showed no satisfactory changes to the germination process, contradicting the findings in the literature. The contents of phenolic compounds showed a statistically significant increase after 72 hours of germination. The antioxidant capacity of soybean determined by the ABTS⁺ method presented higher values than in the DPPH method. High correlation was observed between the DPPH method and phenolic content. It was also observed a significant and progressive increase in contents of chlorophyll and carotenoids during the grain germination, which suggests high positive correlation between the synthesis of these components and the germination process, after running the Pearson test. The germination process also resulted in a statistically significant increase in moisture content, small changes, however statistically similar to the control grain in contents of lipids and proteins and decreases in contents of ash and carbohydrates. In all the chemical analyses, the irradiation process at different doses did not influence the concentrations of the compounds analyzed. As for the sensory analysis, rejection of soybeans germinated for 72 hours was greater when compared to 48 hours. Still, this rejection was 50% lower, which can be used in the production of sprouts, as a means of nutritional supplement in the diet. Therefore, it is concluded that the germinated soybean contribute to a high quality diet and its consumption in the Brazilian diet should be encouraged.

Keywords: BRS 216; Germination process; Irradiation process; Composition; Antinutritional factors; Antioxidant vitamins; Sensory analysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação científica da soja	25
Figura 2 – Interação ácido fítico com minerais, proteínas, e amido	37
Figura 3 – Organização oligomérica de diferentes lectinas que se ligam a manose	41
Figura 4 – Estrutura química da tiamina (B ₁).....	50
Figura 5 – Teores médios de taninos condensados (mg catequina.g ⁻¹ soja) em base seca, para as sojas que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle	80
Figura 6 - Representação gráfica dos valores em porcentagem da intenção de compra das amostras avaliadas no teste afetivo	202

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela 1. Maiores produtores mundiais de soja (em milhões de toneladas).	27
Tabela 2 - Germinação da soja: pré-tratamento, hidratação, germinação e secagem, segundo diferentes autores	34
Tabela 3 - Teores de ácido fítico (mg g^{-1} soja) em base seca, para os tratamentos que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, bem como o controle ($\text{média} \pm \text{desvio padrão}$)	83
Tabela 4 - Coeficiente de Correlação de Pearson e respectivas probabilidades estatísticas entre ácido fítico e teor de fósforo, disponibilidade de Ferro, Cálcio e Zinco durante processo de germinação	83
Tabela 5 - Unidade de tripsina inibida (UTI), expressa por mg de amostra encontrada nos grãos submetidos à irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle ($\text{média} \pm \text{desvio padrão}$)	89
Tabela 6 - Coeficiente de Correlação de Pearson entre o teor de inibidor de tripsina e as variáveis, germinação e irradiação	89
Tabela 7 - Unidade Hemaglutinante (UH), expressa por mg de amostra encontrada nos grãos submetidos à irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle ($\text{média} \pm \text{desvio padrão}$)	92
Tabela 8 - Digestibilidade de proteína, expressa em porcentagem, encontrada nos grãos submetidos à irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle	94
Tabela 9 - Coeficiente de correlação de Pearson e respectivas probabilidades estatísticas entre digestibilidade de proteína e fatores antinutricionais	94
Tabela 10 - Valores médios expressos em base seca ($\text{média} \pm \text{desvio padrão}$) de macronutrientes para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle	119
Tabela 11- Valores médios expressos em base seca ($\text{média} \pm \text{desvio padrão}$) de micronutrientes para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle	120
Tabela 12 - Coeficiente de Correlação de Pearson entre os tratamentos (germinação e irradiação) e os minerais analisados	121

Tabela 13 - Teor de Fósforo Total (teor de Ácido fítico + teor de Fósforo) e porcentagem de Fósforo Fítico e Fósforo livre dos 12 tratamentos estudados	121
Tabela 14 - Porcentagem de disponibilidade <i>in vitro</i> de Ca, Fe, Zn e Mg (média $\pm$ desvio padrão) para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle	132
Tabela 15 - Teor de Vitaminas B ₁ , B ₂ , B ₆ e seus respectivos vitâmeros (Piridoxamina, Piridoxal, Piridoxina) para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle.....	137
Tabela 16 - Médias obtidas referentes aos teores de compostos fenólicos totais (mg.g ⁻¹ soja) em base seca, para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle.....	159
Tabela 17 - Atividade antioxidante (μ Mol Trolox g ⁻¹) determinada pelos métodos DPPH e ABTS de extratos metanólicos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e a soja controle (base fresca, média $\pm$ desvio padrão)	164
Tabela 18 - Teores de clorofila total e carotenóides (μ g g ⁻¹ de amostra) (base fresca, média $\pm$ desvio padrão), para soja BRS216 que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle.....	168
Tabela 19 - Composição centesimal (base seca, média $\pm$ desvio padrão) para as sojas que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle.....	193
Tabela 20 - Resultados das análises microbiológicas de grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão de soja controle, com NMP/g para coliformes totais e fecais e pesquisa de <i>Salmonella sp</i> /25 g198	
Tabela 21 - Média do grau de satisfação dos provadores em relação aos grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle (média $\pm$ desvio padrão)	199

1. INTRODUÇÃO

O interesse e a busca do consumidor por alimentos mais saudáveis proporcionam rápido crescimento no segmento da indústria de alimentos que visa contribuir para o alcance de uma dieta de melhor qualidade. Assim, estudos sobre as características nutricionais e nutraceuticas da soja têm promovido o seu consumo via incorporação na dieta alimentar da população brasileira (CHIARELLO et al., 2006), propiciando aos produtos desta leguminosa, papel importante nessa nova geração de “alimentos funcionais”. Este crescente interesse aos produtos de soja surgiu em outubro de 1999 quando o *U.S. Food and Drug Administration* aprovou alegações de saúde nos rótulos de alimentos indicando que uma dieta diária de no mínimo 25 gramas de proteína de soja, pode reduzir o risco de doenças crônicas não degenerativas, quando associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis (ESTADOS UNIDOS, 2002).

A soja, no Brasil, possui grande importância econômica (SILVA et al., 2006). Na safra de 2009/2010, o país foi o segundo maior produtor mundial do grão, com 68,7 milhões de toneladas, o que corresponde a 27% da safra mundial (EMBRAPA, 2010). Mas, apesar da sua alta produtividade e dos seus referidos benefícios à saúde, seus produtos ainda sofrem restrições por parte dos consumidores ocidentais. As razões para esse baixo consumo são atribuídas ao seu sabor e odor característico denominado *beany flavor*, à indução de flatulência gerada por oligossacarídeos e aos seus componentes antinutricionais. Por este motivo, vários processamentos (moagem, cozimento, extrusão, extração com solventes, germinação, dentre outros) (MORAIS et al., 2000; VASCONCELOS et al., 2001) são realizados, como alternativa para eliminar essas desvantagens associadas ao grão.

O processo de germinação proporciona à soja, melhoria na qualidade nutricional através da prevenção da oxidação lipídica, diminuição dos fatores antinutricionais, tais como inibidores de tripsina, lectina e ácido fítico e provoca a hidrólise de oligossacarídeos do tipo estaquiose e rafinose (ZHU et al., 2005). Com isso, a biodisponibilidade de nutrientes e a palatibilidade da soja são aperfeiçoados com esse processo (BAU et al., 1997; BAU et al., 2000).

Entretanto, em muitos casos, o uso de apenas um único método não é capaz de obter alterações nutricionais desejáveis, sendo necessário à associação de dois ou mais métodos (ABU-TARBOUSH, 1998; GHAVIDEL et al., 2007; SIDDHURAJU; MAKKAR; BECKER, 2002).

Deste modo, outra técnica é a aplicação de radiação ionizante. O processamento por radiação ionizante é considerado um método seguro e eficiente para alguns alimentos, podendo reduzir o risco de infecção alimentar e dependendo da quantidade de dose aplicada, preservar com o mínimo de impacto o valor nutricional (ABU-TARBOUSH, 1998). Este processo tem se mostrado eficiente tanto na redução de oligossacarídeos, inibidores de tripsina e quimiotripsina (BYUN; KANG; MORI, 1996), quanto no aumento da atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes na soja (VARYAR; LIMAYE; SHARMA, 2004). Por outro lado, pode induzir a formação de radicais livres e desencadear uma série de reações químicas que podem afetar a fração lipídica da soja que é susceptível à oxidação (ZEB; TAUFIQ, 2004).

Muitos pesquisadores estudam somente o efeito de cada processamento (germinação e radiação ionizante) sobre a qualidade nutricional da soja, sendo escassas informações relativas à associação de tais processos. Assim posto, a pesquisa almejou apresentar contribuição ao conhecimento sobre os benefícios da soja irradiada e germinada, visando melhor qualidade nutricional, sensorial e microbiológica para a alimentação humana, através do uso de baixas doses de radiação e da obtenção de grãos germinados de fácil aplicação. Além disso, em decorrência da preocupação constante na rotina das pessoas quanto ao consumo de alimentos saudáveis, o trabalho também buscou enfatizar a importância da qualidade de vida e da saúde por meio da incorporação de alimentos à base de soja nos hábitos alimentares diários das pessoas. Apesar de grande parte da população ter conhecimento das características funcionais da soja e as razões de sua utilização, muitos não o incluem em sua alimentação diária. Um dos fatores que tem limitado a sua aceitabilidade é a ausência de produtos à base de soja com qualidade no mercado e que não apresente sabor amargo característico.

Assim, a única maneira de disponibilizar ao consumidor produtos com as qualidades citadas acima, é através do desenvolvimento de novas tecnologias, voltadas

à priorização dos aspectos nutricionais e sensoriais, garantindo que os nutrientes não se percam no processamento e, em complemento aos anseios do atual consumidor que seja de fácil aplicação. Além disso, com o desenvolvimento de novos produtos à base de soja sua versatilidade aumentará e, conseqüentemente sua utilização e aceitação na alimentação humana.

Referências

ABU-TARBOUSH, H.M. Irradiation Inactivation of some antinutritional factors in plant seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 7, p. 2698-2702, 1998.

BAU, H.M.; VILLAUME, C.; MÉJEAN, L. Effects of soybean (*Glycine max*) germination on biologically active components, nutritional values of seeds, and biological characteristics in rats. **Nahrung**, Berlin, v. 4, n. 1, p. 2-6, 2000.

BAU, H.M.; VILLAUME, C.; NICOLAS, J.P.; MÉJEAN, L. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 73, n. 1, p. 1-9, 1997.

BYUN, M.W.; KANG, I.J.; KWON, J.K.; HAYASHI, Y.; MORI, T. Physicochemical properties of soybean oil extracted from γ -irradiated soybeans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 46, n. 4-6, p. 659 - 662, 1996.

CHIARELLO, M.D.; GUERROUE, J-L. L.; CHAGAS, C.M.S.; FRANCO, O.L.; BIANCHINI, E.; JOÃO, M.J. Influence of heat treatment and grain germination on the isoflavone profile of soy Milk. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 30, n. 2, p. 234–247, 2006.

EMBRAPA – SOJA. **A soja**, 2010. Disponível em: http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=294&cod_pai=17>. Acesso em: 15 jul. 2010.

ESTADOS UNIDOS. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. **Food labeling**: health claims: soy protein and risk of coronary heart disease (CHD). 21 CFR Part 101. Revised April 2002. Disponível em <http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx_02/21cfr101_02.html>. Acesso em: 20 jun. 2011.

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 7, p. 1292–1299, 2007.

MORAIS, A.A.C.; SILVA, A.L. Valor nutritivo e funcional da soja. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 306-315, 2000.

SIDDHURAJU, P.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The effect of ionizing radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, Londres, v. 78, n. 2, p. 187-205, 2002.

SILVA, M.S.; NAVES, M.M.V.; OLIVEIRA, R.B. de; LEITE, O.S.M. Composição química e valor protéico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 571-576, 2006.

VARYAR, P.S; LIMAYE, A.; SHARMA, A. Radiation – induced enhancement of antioxidant contents of soybean (*Glycine max Merril*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 11, p. 3385-3388, 2004.

VASCONCELOS, I.M.; MAIA, A.A.B.; SIEBRA, E.A.; OLIVEIRA, J.T.A.; CARVALHO, A.de F.F.U.; MELO, V.M.M.; CARLINI, C.R.; CASTELARI, L.I. de M. Nutritional study of two Brazilian soybean (*Glicine max*) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Amsterdam, v. 12, n. 1, p. 55-62, 2001.

ZEB, A.; TAUFIQ, A. The high dose irradiation affect the quality parameters of edible oils. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Pakistan, v. 7, n. 6, p. 943-946, 2004.

ZHU, D.; HETTIARACHCHY, N.S.; HORAX, R.; CHEN, P. Isoflavone contents in germinated soybean seeds. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 60, n. 3, p. 147-151, 2005.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Soja

Originada da China desde 3000 anos antes de Cristo, caracterizando-se por uma das culturas mais antigas do mundo. Foi levada para a Europa e, posteriormente, para a América, no século XVII. Porém, somente em 1930 foram desenvolvidas novas variedades da planta, que, a partir daí, passou a ser cultivada comercialmente nos Estados Unidos. No Brasil, a soja (Figura 1), foi introduzida no Rio Grande do Sul, em 1914, quando era utilizada apenas como forragem. A partir da década de 70 passou a ter importância comercial e ganhou popularidade como fonte de óleo e proteína para alimentação humana e animal (ALMEIDA, 1985).

Classificação Científica

Reino: *Platae*

Divisão: *Magnoleophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Ordem: *Fabales*

Família: *Fabaceae*

Subfamília: *Faboideae*

Gênero: *Glycine*

Espécie: *G. max*

Nome binominal

Figura 1 - Classificação científica da soja

A soja pode ser considerada um alimento completo, pois, constituem uma rica fonte de proteínas e óleo com teores médios de 38% e 19%, respectivamente, carboidratos, lipídios e resíduos, além de vitaminas e sais minerais (AMARAL, 2006). Sua composição química, com base em 100 g de amostra seca, constitui-se de 40 g de

proteínas, 30 g de glicídios, 20 g de lipídeos, 226 mg de cálcio, 546 mg de fósforo e 8,8 mg de ferro (WOLF; COWAN, 1975; SGARBIERI et al., 1981).

Dos glicídios totais, 4 a 5% são sacarose, 1 a 2% rafinose, e 3,5 a 4,5% estaquiose. Embora todos os açúcares sejam fermentados por microrganismos, os oligossacarídeos rafinose e estaquiose têm importante papel bifidogênico, ainda que não sejam digeridos pelos seres humanos e outros animais monogástricos. Estes açúcares são responsáveis pelo fenômeno da flatulência nos seres humanos e em animais, e quando presentes nas rações acarretam perda da eficiência alimentar (MORAES, 2002).

Contêm menos que 1% de amido, 5% de cinzas e 4,5% de fibra bruta. Mais da metade da fibra bruta existente na soja é considerada como fibra alimentar, cujo desempenho fisiológico é necessário para melhor aproveitamento dos nutrientes pelos seres humanos. A importância da fibra alimentar na dieta tem recebido muita atenção em diversas partes do mundo. Embora o papel desempenhado pelas fibras na redução de incidência de câncer de cólon e de doenças cardíacas não esteja bem elucidado, os benefícios potenciais para a saúde gerados pelo aumento do teor de fibras na dieta não devem ser desprezados. A casca da soja contém por volta de 87% de fibra bruta, sendo formada por celulose, hemicelulose, lignina e ácidos urônicos (ERICKSON, 1995).

Os benefícios à saúde que os produtos de soja oferecem têm sido bem documentados. Várias evidências mostraram que o consumo de grãos de soja como parte de uma dieta saudável auxilia na prevenção de certos tipos de cânceres, reduzir o risco de osteoporose, ter papel benéfico nas doenças crônicas renais, reduzir o colesterol no plasma, atividade anti-arteriosclerótica e redução do risco de doenças coronárias (LEE et al., 2005).

2.2 Produção Mundial da soja

Atualmente, o Brasil vem contando com crescente produção no seu campo agrícola, tanto em qualidade quanto em diversidade e quantidades de produto (MISSÃO, 2006). É de grande conhecimento que nos últimos anos a produção de soja no Brasil tem assumido importância significativa, uma vez que o país possui

características climáticas favoráveis a cultura e diversificação de variedades por meio do programa de melhoramento genético desenvolvido pela EMBRAPA (EMBRAPA, 2009).

Na balança comercial brasileira de exportação de *commodities*, conforme dados da Secretaria de Comércio Exterior-SECEX, a soja é o produto que mais tem se destacado pelo seu crescimento expressivo nos últimos anos (MISSÃO, 2006).

Segundo relatório da Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB espera-se no ano safra 2009/2010, uma produção de 68,71 milhões de toneladas de soja. Este resultado é 20,2% superior, ou 11,54 milhões acima do obtido na safra anterior, que foi de 57,17 milhões de toneladas (CONAB, 2010). Desse modo, o Brasil ocupa segunda posição mundial na produção desta *commodity*, ficando atrás somente dos Estados Unidos (FAO, 2009). Por deter a segunda posição mundial, o Brasil fomenta um mercado que esta em plena expansão e demanda, devido ao crescimento global da população, as novas técnicas de consumo deste produto e ao aumento da área destinada ao seu cultivo (MISSÃO, 2006).

Outros grandes produtores mundiais são Argentina, China, Índia, Paraguai e Canadá. Na tabela 1, observa-se a evolução da produção de soja entre os países líderes nos últimos anos.

Tabela 1 - Maiores produtores mundiais de soja (em milhões de toneladas)

País	Anos									
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
1º EUA	75,05	78,67	75,01	66,77	85,01	83,36	83,51	72,86	80,53	91,41
2º Brasil	32,73	39,06	42,77	51,91	49,55	51,18	52,47	57,85	59,83	57,34
3º Argentina	20,13	26,88	30	34,82	31,58	38,29	40,54	47,48	46,23	30,99
4º China	15,41	15,4	16,5	15,39	17,4	16,35	15,5	12,72	15,54	14,98
5º Índia	5,27	5,96	4,65	7,82	6,88	8,27	8,86	10,97	9,91	10,05
6º Paraguai	2,98	3,51	3,3	4,2	3,58	3,99	3,8	6	6,31	3,85
7º Canada	2,7	1,63	2,33	2,27	3,04	3,15	3,46	2,69	3,34	3,5

Fonte: FAO (2009)

2.3 Soja cultivar BRS 216

De acordo com os seus diferentes usos, os cultivares de soja podem ser classificados em dois grupos: soja tipo grão (convencional) e soja tipo alimento (para consumo humano) (LIU, 1999).

Os cultivares de soja convencional são usualmente direcionados para atender as indústrias processadoras de farelo e óleo, não apresentando características químicas, físicas e sensoriais adequadas para produção de alimentos. A soja para consumo humano é empregada para a elaboração de diversos alimentos como os tradicionais fermentados (misô, tempeh e natto), os tradicionais não-fermentados (tofu, kinako ou farinha torrada), extrato solúvel, broto de soja e os obtidos a partir da farinha de soja desengordurada (concentrados e isolados protéicos e a proteína texturizada) (LIU, 1999).

Em 1986, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA-SOJA) desenvolveu por meio de seu programa de melhoramento genético o cultivar BRS 216 que enfoca as tendências de consumo do mercado e estimula o consumo interno do grão (EMBRAPA-SOJA, 2001). Este cultivar, desenvolvido para o mercado externo, principalmente ao mercado japonês, possui grãos reduzidos (massa de 100 grãos igual a 10 gramas), sabor tradicional, com alta concentração de proteínas (em torno de 43%) e isoflavonas. Por apresentar essas características, o cultivar BRS 216 é adequado para o processamento de “natto”, alimento fermentado japonês e, de brotos de soja (EMBRAPA-SOJA, 2001).

2.4 Germinação

O termo germinação tem sido conceituado de diferentes maneiras, em função do campo de investigação. Segundo Labouriau (1983), do ponto de vista botânico, a germinação é um processo biológico constituído pela retomada do crescimento do eixo embrionário, com conseqüente rompimento do tegumento pela raiz primária. Para os tecnologistas de sementes, no entanto, a germinação é reconhecida como sendo a produção de uma plântula normal como resultado da intensificação do metabolismo da semente e desenvolvimento das partes do embrião (BRASIL, 1992).

Em síntese, tendo-se uma semente viável em repouso metabólico, resultante de quiescência ou dormência, uma vez satisfeitos os requisitos de condições externas (temperatura desejável, fornecimento adequado de água, luminosidade, composição de gases na atmosfera, entre outros) e internas (intrínseca do grão, como dormência, inibidores e promotores de germinação), ocorrerá o crescimento do eixo embrionário, ou seja, a germinação (KOLLER; HADAS, 1982; SANGRONIS; MACHADO, 2007).

A absorção de água na semente é o primeiro evento do processo de germinação. A água é o principal agente estimulador e controlador, pois promove a reidratação dos tecidos com conseqüente amolecimento do tegumento, o aumento da respiração e de outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e de nutrientes necessários e o crescimento do eixo embrionário (VILLELA, 1998). O tegumento estando permeável às trocas gasosas (O_2/CO_2) proporciona aumento da atividade respiratória e de todos os outros eventos metabólicos necessários a retomada do crescimento do eixo embrionário (FERREIRA & BORGHETTI, 2004).

2.4.1 Metabolismo e Fases do Processo Germinativo

A germinação é um processo que envolve tanto reações catabólicas, como a degradação de substâncias de reserva, quanto reações anabólicas na produção de novas células e organelas do embrião (METIVIER, 1979).

A semente madura e seca, em estado de quiescência, caracteriza-se pelo baixíssimo nível de atividades metabólicas. O processo de germinação consiste fundamentalmente de eventos que podem ser sumarizados como: *reidratação*, em que ocorre a embebição de água pelas células do embrião e endosperma; *formação e liberação de enzimas*, com a reativação das organelas celulares e macromoléculas e *metabolismo das substâncias de reserva*, com geração de energia metabólica através do sistema citocromo, levando, ao crescimento e divisão da célula (MEREDITH; POMERANZ, 1985; POPINIGIS, 1985).

Carvalho e Nakagawa (1988), descreveram detalhadamente as três fases do processo germinativo das sementes, em função do teor de umidade:

Fase I: é de forma geral muito rápida (em uma ou duas horas a semente a completaria), atingindo teor de umidade oscilando entre 25-30% para as sementes de cereais e leguminosas. Fisiologicamente, esta fase caracteriza-se por acentuado aumento na intensidade respiratória (resulta na produção de grandes quantidades de energia, a qual, em boa parte, vai ser utilizada em uma série de reações bioquímicas), principalmente a partir de 14-16% de umidade (AHRENS; PESKE, 1994). Bioquimicamente, caracterizam-se pelo início da degradação das substâncias de reserva (carboidratos, proteínas e lipídios) que deverão nutrir o crescimento do eixo embrionário até o ponto em que a plântula resultante tenha desenvolvido o sistema radicular capaz de retirar do solo os nutrientes que a planta necessita. Além destas, os fosfatos, embora em quantidades relativamente pequenas, são de vital importância, pela sua participação na composição das moléculas armazenadoras de energia. O transporte dessas substâncias exige que elas estejam desdobradas em substâncias de menor tamanho molecular.

Esta fase, também chamada de hidratação ou embebição é um processo físico, que varia com a espécie, permeabilidade do tegumento, disponibilidade hídrica, temperatura, pressão hidrostática, área de contato semente/água, forças intermoleculares, composição química (HADAS, 1982).

Fase II: tem início ao atingirem-se valores de umidade entre 25-30%, em que estaria ocorrendo transporte ativo das substâncias desdobradas na fase anterior, do tecido de reserva para o meristemático. Nesta fase, embora recebendo algum nutriente, o eixo embrionário ainda não consegue crescer e a semente praticamente pára de absorver água. A duração desta fase é de 8 a 10 vezes mais longa que a primeira, e a intensidade respiratória da semente também aumenta de maneira muito lenta.

Fase III: subitamente, a partir de um teor de umidade que varia de 35 a 40%, a semente volta a absorver água e respira intensamente. Deste ponto em diante tem início o crescimento visível do eixo embrionário, e inicia-se a fase 3 da germinação. Ao nível bioquímico, o que a caracteriza é que as substâncias desdobradas na fase 1 e transportadas na fase 2 são organizadas em substâncias complexas, para formar o citoplasma, o protoplasma e as paredes celulares, o que permite o crescimento do eixo embrionário (brotamento). O início de uma nova fase não inibe a ocorrência da anterior,

de modo que, quando a fase 3 se inicia, a semente em germinação apresenta simultaneamente as três fases.

2.4.2 Germinação dos Grãos de Soja

A germinação de sementes envolve uma drástica intensificação de processos metabólicos que, dentre outras ações, atuam sobre os nutrientes armazenados nas sementes durante o processo de maturação. Células que inicialmente sintetizavam amido insolúvel, proteínas, e lipídios, durante o desenvolvimento da semente passam a hidrolisar estes compostos. Durante o desenvolvimento da semente, ocorre o armazenamento de minerais nos tecidos, entretanto durante a germinação, compostos armazenados são hidrolisados e translocados para os tecidos meristemáticos do embrião que gradualmente se desenvolve em uma plântula. Esta inversão da ativação e translocação envolvem desativação de enzimas e transformação dos drenos em fontes (MARENCO; LOPES, 2007). Porém os efeitos da germinação sobre a composição química, aspectos nutricionais e características sensoriais, variam com as espécies, cultivares vegetais e as condições de germinação das sementes. (BOOKWALTER et al., 1971; SENA, 1978).

Estudos com sementes de três cultivares de soja, germinadas por três dias, mostraram que os teores de proteínas alcançaram valores máximos após 48 horas do início da germinação, sendo observado que a germinação, além de ter induzido ao aumento do conteúdo protéico, causou redução do nível de atividade específica da lipoxigenase-1 (BORDINGNON et al., 1995), responsável pelo sabor indesejável na soja.

Apesar da soja apresentar elevado valor nutritivo, que é determinado por sua composição protéica (LIENER, 1981), apresenta também em sua composição química, compostos denominados antinutricionais (ácido fítico, inibidor de tripsina, taninos condensados, lectina, saponinas e outros) que podem interferir na disponibilidade de nutrientes. Assim para melhorar a qualidade nutricional dessa leguminosa e utilizá-la como alimento, é necessário que estes constituintes indesejáveis, anteriormente citados, sejam removidos ou inativados. A criação de cultivares através de modificações genéticas que contém reduzida quantidade ou

ausência desses fatores antinutricionais seria uma alternativa, porém requerem estudos prolongados sobre a natureza química e bioquímica desses compostos, bem como as consequências agrônômicas de rendimento da colheita, tolerância ao solo, necessidade de luz e água e resistência a pragas (SATHE; SALUNKHE, 1984). Outras formas de redução desses componentes indesejáveis podem ser realizadas através de meios físicos e químicos (incluem os procedimentos de moagem, cozimento, extrusão e extração com solventes) e a germinação das sementes (RIBEIRO et al., 1999).

Durante o processo de germinação o conteúdo de fitatos (ácido fítico combinado com cátions) é reduzido, sendo observado aumento da biodisponibilidade de minerais e vitaminas, principalmente vitamina C (LOURES, 2007). Essa diminuição ocorre, pois durante o processo de germinação, as enzimas existentes na semente, entre elas a fitase, são rapidamente ativadas por simples hidratação. Com a ativação da fitase, o ácido fítico é hidrolisado, liberando H_3PO_4 , Mg^{2+} , Ca^{2+} e inositol. Conseqüentemente, durante a germinação ocorrem reduções nos teores de ácido fítico, o qual possivelmente aumentará a biodisponibilidade de minerais (RIBEIRO et al., 1999).

Estudo realizado por Shimelis et al. (2007), que analisaram os efeitos da hidratação, autoclave, germinação, cozimento e suas combinações sobre a redução/eliminação de fatores antinutricionais, produtores de flatulência e à melhoria da digestibilidade das proteínas *in vitro* em feijões, observaram que as quantidades de saponinas, inibidores de tripsina e hemaglutininas, diminuíram drasticamente durante o processo de aquecimento, devido à sensibilidade ao calor. Os processos de hidratação e germinação foram menos eficazes na redução dos inibidores de tripsina, saponinas, hemaglutininas em comparação com o processo de cozimento. O processo de germinação apresentou redução nas quantidades de rafinose, estaquiose, ácido fítico e taninos, devido à atividade metabólica presente. A combinação da germinação seguida por cozimento produziu o resultado mais promissor neste estudo. Assim, em muitos casos, o uso de apenas um único método não é capaz de obter alterações nutricionais desejáveis, como a remoção ou inativação de fatores antinutricionais presentes no grão, sendo necessário à associação de dois ou mais métodos (GHAVIDEL et al., 2007; SIDDHURAJU; MAKKAR; BECKER, 2002; ABU-TARBOUSH, 1998).

Ene-Obong (1995) verificou os níveis de antinutricionais nos cultivares da África yambean (*Sphenostylis stenocarpa*), feijão guandu (*Cajanus cajan*) e feijão de corda (*Vigna unguiculata*) na Nigéria. Concluiu que os antinutricionais (tripsina, fitato e tanino) podem ser eliminados ou reduzidos durante maceração, descascamento, fermentação e germinação, lembrando que o problema da digestibilidade da proteína vegetal tem sido questionado sobre os efeitos de vários fatores como fitatos, taninos, lectinas entre outros.

Na tabela 2, estão resumidos estudos de soja germinada com diferentes metodologias.

Tabela 2 - Germinação da soja: pré-tratamento, hidratação, germinação e secagem, segundo diferentes autores

Pré-tratamento	Hidratação sementes	Temperatura de germinação	Tempo de germinação	Umidade Relativa	Luminosidade	Secagem (T°C/Duração)	Observações	Referências
Lavagem H ₂ O	8 horas	25°C	8 horas e 2, 3, 4, 5, 6, 7 dias		1) Ausência de Luz 2) Lâmpada incandescente de 100W	Liofilização		Shi et al. 2010
	H ₂ O destilada 5 horas	Não controlada	0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 120 horas	Não controlada	Luz natural	70°C	Germinação em placa de petri com 4 camadas de papéis filtro. Aspersão de H ₂ O destilada 4/5 vezes ao dia	Yuang et al. 2009
NaCl 0,7%	6 horas T°C ambiente	25° C	96 horas		1) Escuro 2) 12 h de luz natural 3) 24 h de luz natural	Liofilização	Aspersão de H ₂ O destilada	Martín-Cabrejas et al. 2008
	24 horas 27°C ± 2°C	25°C ± 2°C	0, 48 e 96 horas		coberto com tela de algodão	60°C por 24 horas	Em algodão	Jyothi et al. 2007
		25 e 35°C	0, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas	100%	Ausência e luz	Liofilização	Realizado em Germinador	Kumar et al. 2006
Lavagem 3 vezes	T°C ambiente por 12 horas	40°C	Até o comprimento do hipocotilédone de 0,5; 2,5 e 6,5mm	100%		Liofilização	Realizado em Germinador	Zhu et al. 2005

2.5 Fatores Antinutricionais da Soja

A importância comercial e nutricional da soja para alimentação humana e animal é bem conhecida. Porém, junto com proteína e óleo alguns componentes indesejáveis também são encontrados nos grãos. Fatores antinutricionais como inibidores de tripsina, ácido fítico, oligossacarídeos de rafinose e taninos condensados estão presentes em leguminosas, inclusive na soja, o que contribui com a diminuição do valor nutricional das suas proteínas e a disponibilidade dos nutrientes (LIENER, 1994; RAMIREZ-CARDENAS et al., 2008).

Dentre os fatores encontrados nos grãos de soja, estão:

2.5.1 Ácido fítico

O ácido fítico ou inositol 1,2,3,4,5,6 hexafosfato ($C_6H_{18}O_{24}P_6$) encontra-se amplamente distribuído nos vegetais. Em cereais e leguminosas o teor de ácido fítico pode variar de 1 a 3%, e constitui a principal forma de armazenamento de fósforo, correspondendo de 60 a 90% do P total (GRAF, 1983; REDDY et al., 1989). A soja e seus derivados contêm de 1 a 1,5% de ácido fítico que podem ser quelados com metais di e trivalentes, tais como Ca, Cu, Zn, Fe, Mg, Mn e Mo (RACKIS, 1974; FINNEY, 1978; BAU; DEBRYS, 1989) e interagir com proteínas e vitaminas (CHANG, 1977). Na forma aniônica pode ligar-se a minerais, proteínas e amido no trato digestivo, diminuindo a biodisponibilidade destes em legumes e cereais. Assim, o fitato é considerado um fator antinutricional. Por outro lado, pode agir como antioxidante reduzindo a peroxidação de membranas e a formação de radicais livres e podendo atuar como anticarcinogênico, fornecendo proteção contra câncer do colo. Devido a estes aspectos, o interesse em manipular o teor de ácido fítico em grãos tem crescido em todo mundo (GRAF et al., 1987; THOMPSON; ZHANG, 1991).

Nos processos de armazenamento, fermentação, germinação, processamento e digestão das sementes, o ácido fítico pode ser desfosforilado, produzindo compostos como penta-fosfatos (IP^5), tetra-fosfatos (IP^4), tri-fosfatos (IP^3) e, provavelmente, o inositol di-fosfato (IP^2), e o efeito negativo na biodisponibilidade de minerais está associado ao IP^5 e IP^6 (hexa-fosfato) (BONETT et al., 2007). Esta diminuição no conteúdo de ácido fítico é devido à ativação da fitase intrínseca. Esta

enzima catalisa a hidrólise, *in vivo*, de fitato produzindo inositol e ácido fosfórico, está presente em muitas leguminosas e é particularmente ativa em sementes germinantes (STANLEY; AGUILERA, 1985). Porém, esta enzima é termolábil, sendo observado que processamento térmico (por exemplo, extrusão) aumenta a insolubilidade do complexo mineral-ácido fítico devido à inativação de fitase endógena (RICKARD; THOMPSON, 1997).

Na faixa normal de pH encontrada nos alimentos os seis grupos fosfatos estão carregados negativamente, fazendo que o ácido fítico seja altamente reativo com outras partículas carregadas positivamente como minerais e proteínas. Esta interação é pH dependente. Os íons minerais podem se ligar com um ou mais grupos fosfatos e com uma ou mais moléculas de ácido fítico, formando complexos de variada solubilidade e estabilidade (RAMÍREZ-CÁRDENAS, 2006). As proteínas carregadas positivamente a um pH abaixo de seu ponto isoelétrico, podem ligar diretamente o ácido fítico através de atrações eletrostáticas. A um pH intermédio acima do ponto isoelétrico, a ligação entre ácido fítico e proteínas é mediada por cátions multivalentes como cálcio desde que ambas partículas estejam carregadas negativamente (RICKARD; THOMPSON, 1997). Tais complexos proteína-mineral-fitato podem ter uma resistência diferente para a proteólise que a proteína só ou os complexos proteína-fitato ou proteína-mineral (SATHE, 2002). Em pH elevado o complexo ácido fítico-cátion-proteína pode se dissociar com precipitação do ácido fítico como cátion-ácido fítico (RICKARD; THOMPSON, 1997).

A baixa qualidade das proteínas poderia também ser provocada pela presença de fitatos que se ligam às proteínas diminuindo a suscetibilidade à proteólise (SATHE, 2002). Considerando que enzimas digestivas também são proteínas, os fitatos podem afetar potencialmente em forma adversa a atividade enzimática por ligação direta com as enzimas, o que provoca inativação enzimática ou pela precipitação das enzimas. Em qualquer situação, a redução ou perda de enzimas digestivas (proteolíticas e amilolíticas) pode provocar diminuição da quantidade de enzimas disponíveis para digestão de proteínas e amido (RAMIREZ-CÁRDENAS, 2006).

Figura 2 - Interação ácido fítico com minerais (A), proteínas (B), e amido (C) (RICKARD; THOMPSON, 1997)

2.5.2 Inibidor de Tripsina

Os inibidores de proteases são substâncias de natureza protéica que interferem na atividade de sistemas enzimáticos do trato digestivo inibindo proteases, que são enzimas que hidrolisam as ligações peptídicas como primeiro passo para a assimilação das proteínas. Esta inibição se traduz, *in vivo*, numa redução da digestão protéica e, conseqüentemente, da assimilação de proteínas (PARTEARROYO et al., 1995). Os inibidores de proteases concentram-se nas sementes e apresentam baixa qualidade nutricional, por causa da sua composição aminoacídica peculiar e dos teores reduzidos de metionina, glicina, valina, fenilalanina e triptofano (CHIARADIA; GOMES, 1997).

A presença dos inibidores no organismo de animais impede a ação de enzimas responsáveis pela digestão das proteínas, o que provoca hiperestimulação de

enzima pelo hormônio colecistoquinina (CCK), levando a hipertrofia e hiperplasia do pâncreas. As enzimas digestivas secretadas são eliminadas pelas fezes, o que representa perda endógeno considerável de aminoácidos sulfurados, que já são deficientes na soja. Essa deficiência prejudica o crescimento de animais (LIENER, 1994).

Na soja encontram-se dois grupos principais de inibidores de proteases: o inibidor de tripsina Kunitz (KTI) e o inibidor de tripsina e quimotripsina Bowman-Birk (BBI) (STAHLHUT; HYMOWITZ, 1983). Esses representam cerca de 6 % das proteínas totais do grão desta leguminosa, estando localizados junto às principais proteínas de armazenamento no corpo protéico do cotilédone (BARBOSA, 1997; MIURA et al., 2005). Esses inibidores, quando ativos, reduzem a digestibilidade e a biodisponibilidade da proteína de soja (BARBOSA, 1997; PEACE; SARWAR; TOCHBURN, 1992).

Grala et al. (1999), afirmaram que a atividade do inibidor de tripsina da soja tem efeito negativo sobre a digestão da proteína e sobre a perda de nitrogênio endógeno no íleo terminal, o que resulta em redução no coeficiente de digestibilidade aparente dos aminoácidos.

2.5.3 Taninos

Taninos é um termo químico usado para descrever uma ampla classe de compostos que inclui todos os polifenóis em planta que têm um peso molecular superior a 500 (WELCH et al., 2000). Embora os taninos sejam quimicamente um grupo diversificado e não bem definido, eles são normalmente divididos em taninos hidrolisáveis e taninos condensados (MANGAN, 1988). Os taninos hidrolisáveis são facilmente hidrolisados, química ou enzimaticamente, e podem ser quebrados em açúcares, ácidos carboxílicos e compostos fenólicos simples (SAVELKOUL et al., 1992), além do mais, contém um núcleo central de glicose ou um álcool poliidrico, esterificado com ácido gálico ou elágico; já os taninos condensados são os mais difundidos e típicos entre taninos de plantas e consistem de oligômero dos “flavan-3-ols” (catequina) ou flavan-3,4-diols (leucoantocianidinas) e resíduos flavonóides que produzem tipicamente antocianidinas (cianidina e pelargonidina) na degradação ácido (MANGAN, 1988; CARMONA et al., 1996; SOARES, 2002; RAMIREZ-CÁRDENAS,

2006). Os taninos condensados são os compostos fenólicos predominantes em sementes de leguminosas, sendo encontrados em ervilhas, lentilhas, soja e feijões (AMAROWICZ et al., 2004).

Dentre os fatores antinutricionais, são os que mais contribuem para a baixa digestibilidade da soja em humanos e animais, e isto pode ser explicado pela formação de complexos entre os polifenóis e as proteínas, os quais são insolúveis e de baixa digestibilidade, tornando a proteína parcialmente indisponível, ou pela inibição de enzimas digestivas e pelo aumento do nitrogênio fecal (CHIARADIA; GOMES, 1997; SILVA; SILVA, 1999; SATHE, 2002; BONETT et al., 2007). Os compostos fenólicos podem também inibir a biodisponibilidade de certos minerais como o zinco (SHAHIDI, 1995).

2.5.4 Lectinas

As lectinas são proteínas não pertencentes ao sistema imunológico capazes de reconhecer sítios específicos em moléculas e ligar-se reversivelmente a carboidratos, por meio de ligações de hidrogênio e interações iônicas, hidrofóbicas e de Van der Waals, sem alterar a estrutura covalente das ligações glicosídicas dos sítios (KOCOUREK; HOREJSI, 1983 citados por KÓRDÁS et al., 2000; AOYAMA et al., 2001). Por esse motivo, podem ser caracterizados e detectados por sua habilidade em aglutinar eritrócitos, em certos casos com alta especificidade (LIS; SHARON, 1973; ASKAR, 1986), sendo, portanto, conhecidas também como hemaglutininas ou aglutininas (LIS et al., 1970). Além dessas propriedades, as lectinas podem promover estimulação mitogênica de linfócitos e aglutinação de células cancerosas (LIS & SHARON, 1973; LIENER, 1981).

As lectinas de plantas, principalmente de leguminosas, são as mais estudadas, sendo-lhes atribuídas diversas funções biológicas fundamentais por estarem presentes em diversos tecidos e órgãos da planta. Entre essas funções podem ser citadas ativação de enzimas em sementes de soja (AOYAMA et al., 2001), constituição de parte das proteínas de reserva de sementes (VODKIN et al., 1983; CHRISPEELS; RAIKHEL, 1991), proteção contra predadores e patógenos (CHRISPEELS; RAIKHEL,

1991; VASCONCELOS; OLIVEIRA, 2004) e reconhecimento celular para a formação simbiótica *Rhizobium-leguminosa* (HIRSCH, 1999).

São acumuladas nos vacúolos das proteínas das sementes de armazenamento e nos cotilédones e são degradados durante a germinação das sementes (PUSZTAI, 1991; ORF et al., 1979). Apresentam várias propriedades antinutricionais, como também propriedades anticancerígenas (VASCONEZ-COSTA, 2004; GONZÁLES DE MEJÍA; PRISECARU, 2005). Em estudos de casos em humanos, são utilizadas como agentes terapêuticos, ligando-se preferencialmente às membranas celulares de câncer ou seus receptores, causando citotoxicidade provocando câncer na célula por aglutinação e/ou agregação como pode ser observada na Figura 3 (GONZÁLEZ DE MEJÍA; PRISECARU, 2005). Algumas lectinas dietéticas podem causar efeito quimiopreventivo no câncer de mama em humanos, inibindo o crescimento e proliferação celular *in vitro* (VALENTINER et al., 2003).

A atividade hemaglutinante é, normalmente, medida pela técnica de diluição em série, no qual o ponto final é determinado visualmente ou espectrofotometricamente. A atividade é expressa como sendo a menor concentração de lectina (maior diluição) necessária para aglutinar células vermelhas do sangue de animais (LIU, 1997). Pusztai; Grant e Palmer (1975), concluíram que a toxicidade das lectinas está diretamente relacionada com o título hemaglutinante da mesma.

Figura 3 - Organização oligomérica de diferentes lectinas que se ligam a manose
 Estrelas (★) monossacarídeo obrigatório, (1) *Lathyrus ochrus* dímero, (2)
 Con A tetramero, (3) *Galanthus nivalis* tetramero, (4) Heltuba (*Helianthus
 tuberosus*) octâmero (5) Jacalin tetramero.

Fonte: Gonzáles de Mejía e Prisecaru (2005)

2.6 Digestibilidade de Proteína

A porcentagem de digestibilidade indica a quantidade de proteínas que foram hidrolisadas pelas enzimas digestivas e absorvidas pelo organismo, sendo, portanto, um dos fatores principais que afetam a eficiência da utilização protéica da dieta (BRESSANI; ELIAS, 1974).

Nas leguminosas, a digestibilidade das proteínas é relativamente baixa devido às características estruturais de suas proteínas e a presença de fatores antinutricionais (CHANG; HARROLD, 1988; DURANTI; GUI, 1997). Essa baixa digestibilidade é multicausal, que engloba a ação de fatores ligados à casca (principalmente taninos), aos cotilédones (fitatos e inibidores de protease) e ao processamento e armazenamento (BRESSANI, 1993; CRUZ et al., 2003; MENDONÇA et al., 2003; MESQUITA et al., 2007).

Apesar de esses compostos serem benéficos a saúde, a soja crua apresenta quantidades satisfatórias desses fatores antinutricionais, especialmente inibidores de tripsina, que podem influenciar em 25% para a redução da digestibilidade de suas proteínas (BONETT et al., 2007; CARVALHO et al., 2002). A porção antinutricional das leguminosas, quando consumidas cruas ou processadas inadequadamente, pode provocar efeitos fisiológicos adversos ao homem ou reduzir a biodisponibilidade de determinados nutrientes (LIENER, 1994).

Um melhor conhecimento das causas da baixa digestibilidade das proteínas das leguminosas pode contribuir significativamente para sua melhor utilização (MESQUITA et al., 2007). Acredita-se poder haver, com a retirada da casca, aumento da propriedade de digestão das proteínas da soja pela eliminação de alguns fatores antinutricionais, como os taninos. O isolamento das frações protéicas poderia permitir a verificação do grau de influência de complexantes de proteínas na sua digestibilidade (FROTA et al., 2008). Assim, alguns métodos são utilizados para melhorar a qualidade nutricional do grão, dentre eles, o descascamento, a maceração, o cozimento, e a germinação (RAMAKRISHNA et al., 2006; SHIMELIS et al., 2007; RAMIREZ-CARDENÁS et al., 2008).

Características protéicas e sua mobilização durante a germinação de sementes têm sido extensivamente estudadas em algumas espécies (AHMED et al.,

1995; ALVAREZ; GUERRA, 1985; CHANG; HARROLD, 1988; DURANTI; GIUS, 1997; NEVES; LOURENÇO, 2001; SATHE et al., 1983), indicando uma hidrólise lenta, cujo mecanismo de degradação é resultado da ação enzimática.

Entre as diferentes técnicas utilizadas para avaliar a qualidade nutricional das proteínas, os métodos *in vitro* são os frequentemente utilizados para prever a utilização digestiva das proteínas em diferentes alimentos e compostos nutricionais (CARBONARO et al., 1995; ROZAN et al., 1997). Essas técnicas de medidas de digestibilidade *in vitro* se baseiam em digerir a amostra com enzimas proteolíticas em condições padronizadas. A diferença básica entre os métodos é a quantidade e natureza das enzimas, a combinação de enzimas utilizadas e a medida final que se realiza para quantificar a digestibilidade (HERNÁNDEZ et al., 1996).

2.7 Capacidade Antioxidante

Os organismos vivos interagem com o meio ambiente visando manter ambiente interno que favoreça a sobrevivência, o crescimento e a reprodução. Embora indispensável para a vida, o oxigênio molecular (O₂) obtido da atmosfera pode causar danos ao organismo, já que o metabolismo celular promove a formação de radicais livres (BARROS et al., 2008; KITZBERGER, 2005). Essas espécies reativas formadas intracelularmente a partir do oxigênio (ROS) ameaçam a integridade celular por meio da oxidação de biomoléculas, e podem comprometer processos biológicos importantes (AUGUSTO, 2006).

Os danos oxidativos de biomoléculas podem levar à inativação enzimática, mutação, ruptura de membrana, ao aumento na aterogenicidade de lipoproteínas plasmáticas de baixa densidade e à morte celular. Estes efeitos tóxicos do oxigênio têm sido associados ao envelhecimento e ao desenvolvimento de doenças crônicas, inflamatórias e degenerativas (HALLIWELL, 1999).

O crescente interesse na relação alimentação e saúde, destacando-se o consumo de compostos antioxidantes naturalmente presentes nos alimentos ou mesmo sintéticos é um dos mecanismos de defesa contra os radicais livres, que podem ser empregados nas indústrias de alimentos, cosméticos, bebidas e também na medicina (DOROSHOW, 1983; HALLIWELL et al., 1995; WEIJL et al., 1997).

Uma ampla definição de antioxidantes é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada a um substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz” (AUST et al., 2001; HALDELMAN, 2001; SIES; STAHL, 1995). Os principais mecanismos de ação de compostos antioxidantes incluem captadores de radicais e supressores de estados excitados; sistemas catalíticos que neutralizam ou eliminam ROS e a ligação de íons metálicos a proteínas, o que os torna indisponíveis para a produção de espécies oxidantes (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

Os antioxidantes exógenos, oriundos da adoção de uma dieta saudável (composto de todos os nutrientes essenciais para o bom desempenho orgânico), que inclui alimentos basicamente de origem vegetal, podem ser extremamente benéficos tendo papel crucial na minimização dos danos causados pelo excesso de radicais livres (DRÔGE, 2002).

Estes podem ser divididos em duas classes, sendo a primeira formada por aqueles com atividade enzimática, onde estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Na segunda classe, estão os antioxidantes que não apresentam atividade enzimática, ou seja, são moléculas que interagem com as espécies na forma de radicais e são consumidas durante a reação. Nesta classificação incluem-se os antioxidantes naturais e sintéticos, como os compostos fenólicos (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004).

Tendo em vista os indícios de efeitos tóxicos que podem ocorrer com o consumo de antioxidantes sintéticos é importante pesquisar produtos naturais com atividades antioxidantes, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com o intuito de diminuir a quantidade dos mesmos nos alimentos. Os compostos fenólicos de origem vegetal podem ser boa alternativa, pois eles agem como aceptores de radicais livres interrompendo a reação em cadeia provocada por estes, além de atuarem nos processos oxidativos catalisados por metais *in vitro*, como *in vivo* (WILLIAMSON; FAULKNER; PLUMB, 1998). A maioria das substâncias fenólicas pode ser classificada em dois grupos principais: os ácidos carboxílicos fenólicos e os flavonóides (CATANEO et al., 2008).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessante, na prevenção de doenças crônico-degenerativas (ALVES et al., 2010). Dentre esses métodos destacam-se aqueles baseados na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), no poder de redução do metal (FRAP, CUPRAC), na captura do radical hidroxila (método de desorribose), na captura do radical orgânico (ABTS, DPPH) e na quantificação dos produtos formados durante a peroxidação de lipídeos (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do caroteno) (RUFINO et al., 2007).

Um dos métodos mais utilizados atualmente para avaliar a atividade antioxidante utiliza o radical DPPH• (1,1-difenil-2-picrilidrazil). O extrato é adicionado a uma solução metanólica deste radical, e a redução do DPPH• pode ser acompanhada através do decréscimo da absorbância a 515 nm. Quando o DPPH• é reduzido por um antioxidante ou por radicais, a absorbância diminui (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Os resultados podem ser expressos em porcentagem da redução da capacidade antioxidante ou como EC50 (concentração para inibir em 50% a absorbância inicial do radical DPPH•) (KITZBERGUER et al., 2007).

Outro método bastante utilizado é através da captura do radical ABTS (2,2' – azinobis (3 – etilbenzotiazolina – 6 – ácido sulfônico)) que baseia-se na inibição do cátion ABTS por meio dos antioxidantes presentes na amostra. Como no método do DPPH, pode ser verificada a perda de coloração e conseqüentemente o decréscimo da absorbância a 734 nm. Uma curva padrão é feita com Trolox, um análogo solúvel da vitamina E, usado como antioxidante de referência. Os resultados são expressos em mM equivalente de Trolox em 1 grama ou 100 gramas de amostra (GOMES, 2009; RUFINO et al., 2007).

2.8 Compostos Fenólicos

Quimicamente os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem, no mínimo, um anel aromático, em que pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila (LEE et al., 2005). A maioria é encontrada sob a forma de ésteres ou de heterosídeos, e não na forma livre na natureza (SIMÕES et al., 2000). Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de

cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (ANGELO; JORGE, 2007; SHAHIDI; NACZKI, 1995).

Os compostos fenólicos são gerados como metabólitos secundários nas plantas e nos fungos e sendo um dos maiores grupos de componentes dietéticos não essenciais, têm suas pesquisas justificadas por estarem associados à inibição de doenças crônico-degenerativas como aterosclerose e câncer (DECKER, 1997; SCHUBERT; LANSKY; NEEMAN, 1999). A bioatividade dos fenólicos pode estar relacionada com o potencial antioxidante destes compostos, aos quais são atribuídas características como quelar metais, inibir a lipoxygenase e sequestrar radicais livres (DECKER, 1997). Porém, os compostos fenólicos podem também promover reação oxidativa *in vitro*, agindo como pró-oxidantes, ao atuarem sobre metais, reduzindo-os e aumentando a formação de radicais livres e peróxidos (SCHUBERT; LANSKY; NEEMAN, 1999).

Os compostos fenólicos possuem moléculas que interagem com os radicais livres e são consumidos durante a reação. Essas moléculas podem ser simples ou com alto grau de polimerização, e se apresentam livres ou ligadas a açúcares e proteínas (ANGELO; JORGE, 2007).

Uma dieta rica em antioxidantes associada aos mecanismos de defesa endógenos (catalase, peroxidase, metaloproteínas e superóxido dismutase) pode ser eficiente no combate de processos oxidativos naturais do organismo, que ocorrem devido às formas de oxigênio extremamente reativas denominadas “substâncias reativas oxigenadas” ou ROS, as quais englobam os radicais livres. (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

2.9 Clorofila e Carotenóides

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais. Estudos em grande variedade de plantas caracterizaram que os pigmentos clorofilianos são os mesmos. As diferenças aparentes na cor do vegetal são devidas à presença e

distribuição variável de outros pigmentos associados, como os carotenóides, os quais sempre acompanham as clorofilas (VON ELBE, 2000).

Quimicamente, a clorofila não é uma molécula isolada, mas, compreende uma família de substâncias semelhantes entre si, designadas de clorofila *a*, *b*, *c* e *d*. Estruturalmente são moléculas complexas, pertencentes à classe das porfirinas, formadas por 4 anéis pirrólicos e um quinto anel isocrílico, localizado ao lado do terceiro anel pirrólico. Os anéis estão ligados entre si por pontes metilênicas e a molécula contém um átomo de magnésio no seu interior, coordenado aos anéis. No quarto anel pirrólico, o ácido propiônico ali existente é esterificado por um álcool acíclico de cadeia longa, geralmente o fitol, conferindo à clorofila um caráter hidrofóbico (GROSS, 1991; RUDIGER; SCHOCH, 1988).

Os pigmentos fotossintéticos presentes e a sua abundância variam de acordo com a espécie. A clorofila *a* (Chl *a*) está presente em todos os organismos que realizam fotossíntese oxigênica. As bactérias fotossintetizantes são desprovidas de clorofila *a* e possuem em seu lugar a bacterioclorofila como pigmento fotossintético. A Chl *a* é o pigmento utilizado para realizar a fotoquímica (o primeiro estágio do processo fotossintético), enquanto que os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios. Os principais pigmentos acessórios também incluem os carotenóides e outros tipos de clorofilas: Chl *b*, presente em vegetais superiores, algas verdes e algumas bactérias; Chl *c*, em feofitas e diatomáceas; e Chl *d*, em algas vermelhas (TAIZ; ZIEGER, 2004).

Os carotenóides são tetraterpenóides de 40 carbonos unidos por unidades opostas no centro da molécula (FRASER, 2004; RODRIGUES-AMAYA, 1999). Ciclização, hidrogenação, desidrogenação, migração de duplas ligações, encurtamento ou alongamento da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de funções com oxigênio ou a combinação destes processos resultam na diversidade de estruturas dos carotenóides (RODRIGUES-AMAYA, 1999). A cadeia poliênica pode ter de 3 a 15 duplas ligações conjugadas e o comprimento do cromóforo determina o espectro de absorção e a cor da molécula. Todas são baseadas em 7 diferentes grupos terminais,

dos quais somente 4 (β , ϵ , κ e ψ) são encontradas em carotenóides de vegetais superiores (FRASER, 2004).

São uma classe de pigmentos de ocorrência natural, de cores amarela, alaranjada e vermelha. O nome do grupo é devido ao fato dos carotenóides constituírem o principal pigmento da cenoura (*Daucus carota*), um dos principais alimentos em que se observou esta classe de pigmentos (BAUERNFEIND, 1972; GOODWIN, 1986; KLAUI; BAUERNFEIND, 1981; LATSCHA, 1990; NYS, 2000).

Os carotenóides encontrados na dieta humana são principalmente derivados de plantas, onde os carotenóides estão localizados em raízes, folhas, brotos, sementes e frutos. Cerca de 600 pigmentos carotenóides foram isolados e identificados nos reinos animal e vegetal e a cada ano este número aumenta com a descoberta de novos pigmentos (BAUERNFEIND, 1972).

Universalmente presentes em tecidos vegetais fotossintéticos, os carotenóides também podem ser encontrados em tecidos não fotossintéticos de plantas superiores, como frutas, pétalas de flores, pólen, raízes, entre outras partes, bem como em tecidos animais. Neste caso, eles aparecem como consequência da deposição em tecidos-alvos, uma vez que os animais são incapazes de sintetizar seus próprios carotenóides, dependendo totalmente da ingestão na dieta para seu suprimento de pigmentos carotenóides (AWANG et al., 1992; BAUERNFEIND, 1972; BOSMA et al., 2003; GOUVEIA et al., 1996; HENCKEN, 1992; HUDON, 1994; KLAUI; BAUERNFEIND, 1981; LATSCHA, 1990; LIUFA et al., 1997; MARUSICH; BAUERNFEIND, 1981; NYS, 2000; PONSANO et al., 2002; PONSANO et al., 2004; WILLIAMS, 1992).

Além de sua variedade e beleza, os pigmentos carotenóides executam funções muito variadas na vida de vários organismos. No reino vegetal, por exemplo, os carotenóides têm importância na fotossíntese ao partilhar com a clorofila uma função chave no metabolismo de energia dos vegetais superiores. Esses pigmentos são considerados condutores de energia, pois absorvem a luz como um tipo de antena, tornam-se excitados e transferem esta energia capturada para centros de reação, onde a energia da luz é convertida em energia elétrica e, então, em energia química, na

forma de trifosfato de adenosina (ATP), substância necessária para a síntese de uma variedade de compostos (LATSCHA, 1990).

No reino animal, várias interações intra e interespecíficas e modelos de comportamento são fortemente influenciadas pela cor, que atua como sinal, por exemplo, como atrativo, advertência ou como camuflagem, em comunicações entre ampla variedade de 16 organismos. À parte destas funções sinalizadoras, os carotenóides também realizam ampla extensão de tarefas puramente fisiológicas, atuando como precursores da vitamina A e participando do desenvolvimento e maturação gonadal, da fertilização, da gestação, da viabilidade e crescimento, particularmente de peixes e crustáceos e no processo reprodutivo de grande variedade de classes e espécies animais, como por exemplo, aves, bovinos, eqüinos e suínos (AMAYA, 1985; BHOSALE; BERNSTEIN, 2005; BOSMA, et al., 2003; GOODWIN, 1986; HENCKEN, 1992; KLAUI; BAUERNFEIND, 1981; LATSCHA, 1990; MARUSICH; BAUERNFEIND, 1981; PEREZ-VENDRELL et al., 2001).

2.10 Vitaminas do complexo B

A soja contém tanto vitaminas hidrossolúveis quanto lipossolúveis. A tiamina, riboflavina, a niacina, o ácido pantotênico (vitamina do complexo B) e o ácido fólico são as vitaminas hidrossolúveis presentes na soja. Já as vitaminas lipossolúveis biodisponíveis encontradas na soja são as vitaminas A e E (LIU, 1997).

As vitaminas têm atenção especial, em razão da sua grande importância no organismo humano. Quando as proteínas da soja são ingeridas em quantidades equivalentes à metade das necessidades diárias, o grão consumido proverá também vitaminas na proporção de 30 a 50% da Ingestão Diária Recomendada (IDR), sendo as principais a tiamina, a riboflavina e a niacina (PEARSON, 1983).

As vitaminas hidrossolúveis constituem um grupo de compostos estruturalmente e funcionalmente independentes que compartilham uma característica comum de serem essenciais para a saúde e bem-estar. Dentre as vitaminas hidrossolúveis inclui as vitaminas do complexo B, que engloba tiamina (B₁), riboflavina (B₂) e vitamina B₆.

A vitamina B1, ou tiamina, é formada por dois núcleos, um pirimidínico e outro tiazólico, unidos por um grupo metileno (Figura 4). Devido à presença de um nitrogênio quartenário em sua molécula, esta se comporta como base forte e encontra-se completamente ionizada nos intervalos de pH habitualmente encontrados nos alimentos (FENNEMA, 1993). Quimicamente, a estrutura é denominada de 3-(4-amino-2-metilpirimidina-5-metil)-5-(2-hidroxi-etil)-4-metiltiazol (TANPHAICHITR, 1999) e apresenta um peso molecular de $265,36\text{g.mol}^{-1}$.

Trata-se de uma vitamina termolábel que se degrada facilmente em meio alcalino. Entretanto, sua estabilidade aumenta com a diminuição do pH. A degradação pelo calor depende da quantidade de oxigênio, pH, tempo de atuação e natureza dos eletrólitos da solução (FERREIRA, 1983).

Figura 4 - Estrutura química da tiamina (B₁)

O homem necessita ingerir, diariamente, quantidades de tiamina que reponham a fração gasta pelo processo metabólico, mantendo, assim, as concentrações sanguíneas, dos órgãos e a excretada na urina. Por ser essencial no metabolismo dos carboidratos e aminoácidos de cadeia ramificada, a tiamina é expressa em miligramas por dia.

Segundo a DRI (Ingestão Alimentar de Referência), crianças de 1 a 3 anos de idade devem ingerir 0,5mg/dia, homens de 14 a 70 anos ou mais, 1,2 mg/dia, e mulheres da mesma faixa etária, 1,1mg/dia. Mulheres em período de gestação e lactação devem ingerir 0,3mg/dia a mais (AMAYA-FARFAN et al., 2001).

A riboflavina, 7,8-dimetil-10-ribitil-isoaloxazina, é uma vitamina hidrossolúvel pertencente ao complexo vitamínico B₂, apresenta coloração amarela e é

fluorescente (POWERS, 2003). Na natureza, a vitamina B₂ pode ser encontrada na forma livre (riboflavina) ou fosforilada, como coenzima, nas formas de flavina mononucleotídeo (FMN) e flavina adenina dinucleotídeo (FAD). A conversão da riboflavina em coenzima ocorre no citoplasma celular da maioria dos tecidos, mas, particularmente, no intestino delgado, fígado, coração e rins. A reação de fosforilação é catalisada pela flavoquinase. Esta converte a riboflavina livre em FMN e é dependente do ATP. Esta reação pode ocorrer durante a absorção através da mucosa intestinal. A conversão da FMN em FAD é realizada pela FAD-sintase. Diversas fosfatases podem catalisar a forma FAD em FMN e FMN em riboflavina livre (BRODY, 1983; McCORMICK, 1999).

Atualmente, a dose recomendada de ingestão de riboflavina varia desde 0,4 mg (na infância) a 1,3 mg/dia para adultos sendo que, para mulheres grávidas, recomenda-se uma dose suplementar de 0,3 mg/dia durante a gestação e 0,5 mg/dia durante o período de lactação, já que estudos mostram que durante o terceiro trimestre de gestação há uma queda progressiva nos níveis de riboflavina (WHO, 1974; EC SCIENTIFIC COMMITTEE FOR FOOD REPORT, 1993).

A vitamina B₆ apresenta seis formas variantes (piridoxina, piridoxal, piridoxamina, piridoxina 5'-fosfato, piridoxal 5'-fosfato, piridoxamina 5'-fosfato), participa de aproximadamente 100 reações enzimáticas, ligadas ao metabolismo de aminoácidos e glicogênio, e síntese e catabolismo de neurotransmissores (CKAYTON, 2006). Essas seis formas de vitamina B₆ diferem apenas do grupo funcional ligado ao anel. Em relação às fontes dietéticas das vitaminas, a vitamina B₆ oferece como principais fontes as aves, soja e farelo de trigo (SHILS et al., 2003).

A piridoxina é encontrada em alimentos obtidos de animais (RIZZOLO, 1992). Todos os três compostos podem servir como precursores da coenzima biologicamente ativa, o piridoxal-fosfato. O piridoxal-fosfato funciona como coenzima para grande número de enzimas, particularmente aquelas que catalisam reações envolvendo aminoácidos. A vitamina B₆ está envolvida como cofator em percursos que incluem o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas (VILLAVICENCIO et al., 2000).

A vitamina B₆ funciona como coenzima de reações de transaminação, descarboxilação e racemização de aminoácidos. O requerimento de vitamina B₆ por

animais está positivamente relacionada com a ingestão de proteínas e aminoácidos. A deficiência de vitamina B₆ é raramente vista em animais, pois a maioria das dietas já é adequada (VILLAVICENCIO et al., 2000).

2.11 Irradiação de Alimentos

O processo de irradiação compreende a exposição de alimentos, já pré-embalados ou a granel (sem embalagem), a uma quantidade minuciosamente controlada de radiação ionizante, por um tempo prefixado com objetivos determinados (GRUPO CONSULTIVO INTERNACIONAL SOBRE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS, 1990). É um tratamento coadjuvante que tem mostrado ser eficiente na diminuição de contagens microbianas, mantendo a qualidade físico-química, nutricional e sensorial dos alimentos (SANTOS, 2008).

As irradiações ionizantes utilizadas em alimentos devem ter energia inferior ao limiar das reações nucleares que poderiam induzir radioatividade no material irradiado. No caso de radiações gama, que apresentam elevado poder de penetração nos tecidos de forma homogênea, não existe aumento significativo de temperatura durante o processamento. A dose média absorvida por um alimento submetido ao processo de irradiação não deve exceder 10 kGy, com a finalidade de assegurar a inocuidade do alimento irradiado, sob o ponto de vista toxicológico, nutricional e microbiológico, conforme especifica a legislação brasileira. Este processo pode impedir a divisão das células vivas, tais como bactérias e células de organismos superiores, ao alterar suas estruturas moleculares (SIQUEIRA, 2001; MOREHOUSE, 2002; VERRUMA-BERNARDI; SPOTO, 2003; ROSA, 2004).

Assim como outras técnicas de processamento utilizadas para alimentos, a radiação induz certas alterações que podem modificar a composição química e consequentemente o valor nutritivo dos alimentos. A natureza e extensão destas mudanças dependem da composição do alimento, especialmente do conteúdo de água, da dose de radiação, temperatura e a presença ou ausência de oxigênio utilizado no processo (KILCAST, 1994; WIENDL, 1984).

Proteínas, carboidratos e lipídeos podem ser afetados pelo uso da radiação. A radiação gama induz mudanças nas propriedades físico-químicas das

proteínas, dependendo de sua natureza e da dosagem da radiação (NISIZAWA, 1988). Transformações químicas de aminoácidos, tais como, quebra de ligações peptídicas, dissulfídicas, pontes de hidrogênio, bem como ligações cruzadas das cadeias protéicas podem acontecer, influenciando a estrutura terciária das proteínas e suas propriedades físico-químicas (CIÉSLA; ROOS; GLUSZEWSKI, 2000). Nos carboidratos, o uso da irradiação, pode provocar a quebra em unidades menores (KILCAST, 1994).

Nos micronutrientes, especialmente as vitaminas, efeitos da irradiação gama, com doses de até 10kGy nos conteúdos de tiamina e vitamina B₆ foram investigados em duas variedades de feijões, Carioca (*Phaseolus vulgaris*) e Macaçar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). O conteúdo de tiamina diminuiu nos feijões Carioca tratados com doses acima de 2,5 kGy e não foi alterado nos feijões Macaçar independente da dose aplicada. O conteúdo de vitamina B₆ diminuiu com o aumento da dose de radiação para ambas as variedades estudadas (VILLAVICENCIO et al., 2000).

A irradiação em alimentos de origem vegetal também pode ser efetivo na redução de oligossacarídeos que causam flatulência e também dos inibidores de quimiotripsina e tripsina, possivelmente devido à reações de desnaturação e agregação (IYER et al., 1980; RAO; VAKIL, 1983). Outros fatores antinutricionais como inibidores da α -amilase, lectinas e ácido fítico também são reduzidos pelo uso da irradiação (SIDDHURAJU; MAKKAR; BECKER, 2002).

A degradação dos inibidores de protease expostos à radiação gama é diretamente proporcional à dose de irradiação. Em grãos de soja o nível de inativação dos inibidores de tripsina aumentam linearmente com as doses de irradiação (41,8, 56,3, 62,7 e 72,5 % de redução da atividade inibitória com doses de radiação de 5, 15, 30 e 60 kGy, respectivamente) (FARAG, 1998). O autor sugere que a efetiva desativação desse fator antinutricional presente na soja pode ser obtido com doses de irradiação superiores a 60 kGy.

Segundo El-Niely (2007) o processo de radiação melhora a qualidade nutricional do grão, devido à diminuição da concentração do inibidor de tripsina e hemaglutinina, melhorando, com isso a digestibilidade protéica

Há um desentendimento por parte dos consumidores, que acreditam que alimentos processados irradiados possuem menor conteúdo de nutrientes bioativos,

devido a degradação radiolítica, o que resultaria em baixo valor nutritivo. Porém o tratamento com radiação causa aumento na disponibilidade de isoflavonas livres, resultando em maior biodisponibilidade desses compostos fenólicos antioxidantes. Portanto, além de reduzir a flora microbiana e prevenir a infestação por insetos, o processo de radiação em soja também aumenta a qualidade nutricional dessa leguminosa aumentando os níveis de antioxidantes (VARIYAR; LIMAYE, SHARMA, 2004).

2.12 Efeito das baixas doses de irradiação na germinação

A variação do crescimento das plantas em função da dose está relacionada a muitos fatores que incluem a espécie de planta, o estágio em que os tecidos das plantas foram irradiados e as condições ambientais em que foram feitas as irradiações (ZAKA et al., 2004). A radiação interage com a água e cria grande número de radicais com curta meias-vidas, dos quais os óxidos e peróxidos são normalmente os elementos finais. Óxidos e peróxidos atuam na matéria biológica provocando alterações, dentre as quais podemos destacar: iniciam a síntese de proteínas (PUNTARULO et al., 1988; MOON, 1985) e modificam o funcionamento da membrana. Baseando-se nestes conceitos e na literatura existente, conclui-se que este fenômeno pode ocorrer em qualquer espécie de planta ou cultivar e que a resposta ao estímulo de crescimento é detectada imediatamente após a irradiação (na germinação) (SHEPPARD et al., 1990).

Marcos Filho (1972) constatou em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar goiano precoce, os efeitos das radiações de: 0,4; 0,8; 1,6; 3,2 e 6,4 Krad (1 rad equivale a 0,01 Gy), na germinação e vigor das sementes, durante nove épocas após o tratamento, e quanto a produção, em testes de campo, em duas épocas no chamado período das águas. Constatou que as dosagens de 0,4 krad 0,8 krad e 1,6 krad foram as mais favoráveis pois não prejudicaram a conservação das sementes e a produção das plantas, contribuindo também para o controle da infestação do caruncho (*Acaníthoscelides obtectus* Say) (BOVI, 2000).

2.13 Análise sensorial

Os testes sensoriais são importantes por ser uma medida multidimensional integrada que possuem importantes vantagens, como serem capazes de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definem características sensoriais importantes de um produto, e serem capazes de detectar particularidades dificilmente detectadas por outros procedimentos analíticos e ainda avaliarem se um produto é aceito pelo consumidor (MUNOZ; CIVILLE; CARR, 1992).

Os métodos sensoriais é uma ferramenta moderna utilizadas para identificar as características ou propriedades de interesse na qualidade sensorial do alimento. Os testes mais comuns são os de preferência-aceitação, os discriminativos e os descritivos (JACKSON, 1985).

O teste de preferência, também denominado subjetivo ou afetivo, é um valioso e necessário componente de toda a Análise Sensorial, que utiliza o consumidor como instrumento de medida e, a partir da correta aplicação, é possível transformar dados subjetivos em objetivos, obtendo informações importantes sobre o grau com que as pessoas gostam ou não de um determinado produto (DUTSCOSKY, 2007; STONE; SIDEL, 1993). Neste teste, a escala hedônica de nove pontos é a mais amplamente utilizada para estudos de preferência com adultos, devido à confiabilidade dos resultados e à fácil compreensão da ficha pelos consumidores (DUTCOSKY, 2007).

Referências

ABU-TARBOUSH, H.M. Irradiation Inactivation of some antinutritional factors in plant seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 7, p. 2698-2702, 1998.

AHMED, F.A.R.; ABDEL-RALIM, E.A.M.; ABDEL-FATHA, O.M.; ERDMAN V.A.; LIPPMAN, C. The changes of protein patterns during one week of germination of some legume seeds and roots. **Food Chemistry**, London, v. 52, n.4, p. 433–437, 1995.

AHRENS, D.C.; PESKE, S.T. Flutuações de umidade e qualidade em semente de soja após a maturação fisiológica: avaliação do teor de água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 107-110, 1994.

ALMEIDA, F.R.F. Melhora na competitividade da soja brasileira. **Agroanalysis**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 4, p. 24-26, 1985.

ALVAREZ, J.; GUERRA, H. Biochemical and morphological changes in protein bodies during germination of lentil seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 36, n. 8, p. 1296-1303, 1985.

ALVEZ, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; BAHIA, M.V.; AGUIAR, R.M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

AMARAL, V.V.G. **A importância da soja como alimento funcional para a qualidade de vida e saúde**. 2006. 86 p. Dissertação (Mestrado Profissional em Engenharia Mecânica/ Gestão da Qualidade Total) - Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2006.

AMAROWICZ, R.; TROSZYNSKA, A.; BARYLKO-PIKIELNA, N.; SHAHIDI, F. Polyphenolics extracts from legume seeds: correlations between total antioxidant activity, total phenolics content, tannins content and adstringency. **Journal of Food Lipids**, St Johns, v. 11, n. 4, p. 278-286, 2004.

AMAYA, D.B.R. Os carotenóides como precursores de vitamina A. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 227-242, 1985.

AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S.M.A.; PADOVANI, R.M. DRI: síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Revista de Nutrição da Puccamp**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 71-78, 2001.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

AOYAMA, H.; CAVAGIS, A.D.M.; TAGA, E.M.; FERREIRA, C.V. Endogenous lectin as a possible regulator of the hydrolysis of physiological substrates by soybean seed acid phosphatase. **Phytochemistry**, New York, v. 58, n. 2, p. 221-225, 2001.

ASKAR, A. Faba beans (*Vicia faba* L.) and their role in the human diet. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v.8, n. 3, p. 15-24, 1986.

AUGUSTO, O. **Radicais livres: bons, maus e naturais**. São Paulo: Oficina de Textos, 2006. 115 p.

AUST, O.; SIES, H.; STAHL, W.; POLIDORI, M.C. Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: tocopherols and carotenoids. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 936, n. 1/2, p. 83-93, 2001.

AWANG, I.P.R.; CHULAN, U.; AHMAD, F.B.H. Curcumin for upgrading skin color of broilers. **Pertanika**, Selangor, v. 15, n. 1, p. 37-38, 1992.

BARBOSA, M.C.A. **Determinação de inibidores de proteases em soja e em seus derivados protéicos**. 1997. 61 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

BARROS, L.; CRUZ, T.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 8, p. 2742-2747, 2008.

BAU, H.M.; DEBRY, G. Germinated soybean protein products chemical and nutritional evaluation. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 56, n. 3, p. 160-162, 1979.

BAU, H.M.; VILLAUME, C.; MÉJEAN, L. Effects of soybean (*Glycine max*) germination on biologically active components, nutritional values of seeds, and biological characteristics in rats. **Nahrung**, Berlin, v. 4, n. 1, p. 2-6, 2000.

BAU, H.M.; VILLAUME, C.; NICOLAS, J.P.; MÉJEAN, L. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 73, n. 1, p. 1-9, 1997.

BAUERNFEIND, J.C. Carotenoid vitamin A precursors and analogs in food and feeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 20, n. 3, p. 456-473, 1972.

BHOSALE, P.; BERNSTEIN, P.S. Microbial xanthophylls. **Applied Microbiology and Biotechnology**. London, v. 68, n. 4, p. 445-455, 2005.

BONETT, L.P.; BAUMGARTNER, M.S.T.; KLEIN, A.C.; SILVA, L.I. Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Arquivos de Ciência da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 11, n. 3, p. 235-246, 2007.

BOOKWALTER, G.N.; KWOLEK, W.F.; BLACK, L.T.; GRIFFIN JUNIOR, E.L. Corn meal/soy flour blends: characteristics and food applications. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 36, n. 5, p. 1026-1032, 1971.

BORDINGNON, J.R.; IDA, E.L.; OLIVEIRA, M.C.N.; MANDARINO, J.M.G. Effect of germination on the protein content and on the level of specific activity of lipoxigenase-1 in seedlings of three soybean cultivars. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 45, n. 3, p. 222-226, 1995.

BOSMA, T.L.; DOLE, J.M.; MANESS, N.O. Optimizing marigold (*Tagetes erecta* L.) petal and pigment yield. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 6, p. 2118-2124, 2003.

BOVI, J.E. **Emprego da radiação gama do cobalto 60 em sementes de beterraba (*Beta vulgaris* L.), cenoura (*Daucus carota* L.) e rabanete (*Raphanus sativus* L.) para estimular o aumento de produção.** 2000. 79 p. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2000.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT- Food Science and Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes.** Brasília: SNDA/DNPV/CLAV, 1992. 365 p.

BRESSANI, R. Grain quality of common beans. **Food Reviews International**, New York, v. 9, p. 237-297, 1993.

BRESSANI, R.; ELIAS, L.G. Legume foods. In: ALTSCHUL, A.M. **New protein foods.** New York: Academic Press, 1974. p.230-297.

BRESSANI, R.; ELÍAS, L.G; BRAHAM, J. E. Reduction of digestibility of legume proteins by tannins. **Journal of Plant Foods**, London, v. 4, n. 1, p. 34-55, 1982.

BRODY, T. **Nutritional biochemistry.** 2nd. ed. San Diego: Academic Press, 1993.

BYUN, M.W.; KANG, I.J.; KWON, J.K.; HAYASHI, Y.; MORI, T. Physicochemical properties of soybean oil extracted from γ -irradiated soybeans. **Radiation Physics and Chemistry**. Oxford, v. 46, n. 4/6, p. 659 - 662, 1996.

CARBONARO, M.; LOMBARDI-BOCCIA, G.; CAMOVALE, E. Influence of the method of protein extraction on the in-vitro evaluation of mineral dialysability from legumes. **Food Chemistry**, London, v. 53, n. 3, p. 249-252, 1995.

CARMONA, A.; BORGUDD, L.; BORGES, G.; LEVY-BENSHIMOL, A. Effect of black bean tannins on in vitro carbohydrate digestion and absorption. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stonehan, v. 7, n. 8, p. 445-450, 1996.

CARVALHO, M.R.B.; KIRSCHNIK, P.G.; PAIVA, K.C.; AIURA, F.S. Avaliação da atividade dos inibidores de tripsina após digestão enzimática em grãos de soja tratados termicamente. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 267-272, 2002.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424 p.

CATANEO, C.B. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina**, Passo Fundo, v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008.

CHANG, K.C.; HARROLD, R.L. Changes in selected biochemical components, *in vitro* protein digestibility and amino acids in two bean cultivars during germination. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, n. 3, p. 783-804, 1988.

CHANG, R. Phytate: removal from whole dry beans by enzymatic hydrolysis and diffusion. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.4, p.1098-1101, 1977.

CHIARADIA, A. C. N.; GOMES, J. C. **Feijão**: química, nutrição e tecnologia. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1997. 180 p.

CHIARELLO, M.D.; GUERROUE, J-L.L.; CHAGAS, C.M.S.; FRANCO, O.L.; BIANCHINI, E.; JOÃO, M.J. Influence of heat treatment and grain germination on the isoflavone profile of soy Milk. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 30, n. 2, p. 234–247, 2006.

CHRISPEELS, M.J.; RAIKHEL, N.V. Lectins, lectin genes, and their role in plant defense. **The Plant Cell**, Rockville, v. 3, n. 1, p. 1-9, 1991.

CIÉSLA, K.; ROOS, Y.; GLUSZEWSKI, W. Denaturation processes in gamma irradiated proteins studied by differential scanning calorimetry. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 58, n. 3, p. 233-243, 2000.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Levantamento **de avaliação da safra 2009/2010**. Disponível em: <<http://conab.gov.br/safra>>. Acesso em: 25 ago. 2010.

CRUZ, G.A.D.R.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V.; GOMES, M.R.A.; COSTA, N.M.B.; BRUMANO, M.H.N.; MOREIRA, M.A. Protein quality and *in vivo* digestibility of different varieties of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 157-162, jul./dez. 2003.

CUNHA, M.F.; SGARBIERI, V.C.; DAMÁSIO, M.H. Effects of pre treatment with gamma rays or microwave on storage stability of dry beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 41, n. 10, p. 1710-1715, 1993.

DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, New York, v. 55, p. 396–407, 1997.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n.1, p. 33-40, jan./jun. 2004.

DELINCÉE, H.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J. Protein quality of irradiated Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 43-46, 1998.

DOROSHOW, J.H. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. **Cancer Research**, Baltimore, v. 43, n. 2, p. 460-472, 1983.

DRÔGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 82, n. 1, p. 47-95, 2002.

DURANTI, M.; GIUS, C. Legume seeds: protein content and nutritional value. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 53, n. 1/3, p. 31-45, 1997.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 2. ed. Curitiba: Champagnat, 2007. 239 p.

EC SCIENTIFIC COMMITTEE FOR FOOD REPORT. **Nutrient and energy intakes for the European Community**, Luxembourg; Directorate-General, Industry, 1993.

EL-NIELY, H.F.G. Effect of radiation processing on antinutrients, in vitro protein digestibility and protein efficiency ratio bioassay of legume seeds. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, n. 6, p. 1050-1057, 2007.

EMBRAPA – SOJA. **Embrapa lança cultivares de soja específica para consumo humano**. 2001. Disponível em:
<<http://www.agronline.com.br/agronoticias/noticia.php?id=187>>. Acesso em: 21 jul. 2010.

_____. **A soja**. 2010. Disponível em:
<http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=294&cod_pai=17>. Acesso em: 15 jul. 2010.

ENE-OBONG, H.N. Content of antinutrients and in vitro protein digestibility of the African yambean, pigeon and cowpea. **Plant Food for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 48, n. 3, p. 223-225, 1995.

ERICKSON, D.R. (Ed.). **Practical handbook of soybean processing and utilization**. Champaign: AOCS Press, 1995. 584 p.

ESTADOS UNIDOS. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. **Food labeling: health claims: soy protein and risk of coronary heart disease (CHD)**. 21 CFR Part 101. Revised April 2002. Disponível em
<http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx_02/21cfr101_02.html>. Acesso em: 20 jun. 2011.

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>. Acesso em: 25 jul. 2011.

FARAG, M.D.E.H. The nutritive value for chicks of full-fat soybeans irradiated at up to 60 kGy. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 73, n. 3/4, p. 319-328, 1998.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Editora Acribia, 1993. 1094 p.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed. 2004.

FERREIRA, F.A.G. **Nutrição humana**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1983. 1291 p.

FINNEY, P.L. Potential for the use of germinated wheat and soybeans to enhance human nutrition. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 105, p. 681-701, 1978.

FRASER, P.D.; BRAMLEY, P.M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v.43, n.3, p.228-265, 2004.

FROTA, K.M.G.; SOARES, R.A.M.; AREAS, J.A.G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 470-476, abr./jun. 2008.

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, *in vitro* iron and calcium bioavailability and *in vitro* starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 7, p. 1292–1299, 2007.

GOMES, F.S. **Concentração de licopeno de suco de melancia através de processos de separação por membranas**. 2009. 105 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

GONZÁLES de MEJÍA, E.; PRISECARU, V. Lectins as bioactive plant proteins: a potencial in cancer treatment. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 45, n. 6, p. 445-455, 2005.

GOODWIN, T.W. Metabolism, nutrition, and function of carotenoids. **Annual Review Nutrition**, Palo Alto, v. 6, p. 273-279, 1986.

GOUVEIA, L.; VELOSO, V.; REIS, A.; FERNANDES, H.; NOVAIS, J.; EMPIS, J. *Chlorella vulgaris* used to colour egg yolk. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 70, n. 2, p. 167-172, 1996.

GRAF, E. Applications of phytic acid. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 60, n. 11, p. 1861-1867, 1983.

GRAF, E.; ENPSOM, K.L.; EATON, J.W. Phytic acid. A natural antioxidant. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 262, p. 11647-11650, 1987.

GRALA, W.; VERSTEGEN, M.W.A.; JANSMAN, A.J.M.; HUISMAN, J.; VAN LEEWEN, P.; TAMMINGA, S. Apparent protein digestibility and recovery of endogenous nitrogen in the terminal ileum of pigs fed diets containing various soybean products, peas or repassed rulls. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 80, n. 3/4, p. 231-245, 1999.

GROSS, J. **Pigments in vegetables, chlorophylls and carotenoids**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 351 p.

GRUPO CONSULTIVO INTERNACIONAL SOBRE IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS. **A irradiação de alimentos: ficção e realidade**. Ficha Descritiva, p.1-14. Belo Horizonte: RB Comunicação Integrada, 1990.

HADAS, A. Seed-soil contact and germination. In: KHAN, A.A. (Ed.). **The physiology and biochemistry of seed development, dormancy, and germination**. Amsterdam: Elsevier, 1982. p. 507-527.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. 5TH ed. Oxford: Claredon Press, 1999.

HALLIWELL, B.; AECHBACH, R.; LOLINGER, J.; ARUOMA, O.I. The characterization on antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HANDELMAN, G.J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. **Nutrition**, New York, v. 17, n. 10, p. 818-822, 2001.

HENCKEN, H. Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on pigmentation. **Poultry Science**, Champaign, v. 71, n. 4, p. 711-717, 1992.

HERNÁNDEZ, T.; HERNANDEZ, A.; MARTINEZ, C. Calidad de proteínas: conceptos y evaluación. **Alimentaria**, Madrid, v. 274, p. 27-37, 1996.

HIRSCH, A.M. Role of lectins (and rhizobial exopolysaccharides) in legume nodulation. **Current Opinion in Plant Biology**, New York, v. 2, n. 4, p. 320-326, 1999.

HUDON, J. Biotechnological applications of research on animal pigmentation. **Biotechnology Advances**, New York, v. 12, n. 1, p. 49-69, 1994.

IYER, V; SALUNKHE, D. K.; SATE, S. K.; ROCKLAND, L. B. Quick-cooking beans (*Phaseolus Vulgaris* L.): Investigations on quality. **Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition**, Amsterdam, v. 30, n. 1, p. 27-43, 1980.

KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. **Food Chemistry**, London, v. 49, n. 2, p.157-164, 1994.

KITZBERGER, C.S.G. **Obtenção de extrato de cogumelo shiitake (*Lentinula edodes*) com CO₂ a alta pressão**. 2005. 142 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

KITZBERGER, C.S.G.; SMÂNIA, A.J.; PEDROSA, R.C.; FERREIRA, S.R.S. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. **Journal of Food Engineering**. London, v. 80, n. 2, p. 631-638, 2007.

KLAUI, H.; BAUERNFEIND, J.C.; Carotenoids as food colors. In: BAUERNFEIND, J.C., (Ed.). **Carotenoids as colorants and vitamin A precursors**. New York: Academic Press, 1981. p. 47-319.

KOLLER, D.; HADAS, A. Water relations in the germination of seeds. In: LANGE, O.L.; NOBEL, P.S.; OSMOND, C.B.; ZIEGLER, H. (Ed.). **Encyclopedia of plant physiology**. Berlin: Springer Verlag, 1982. v. 12B, p. 401-431.

KORDÁS, K.; BURGHARDT, B.; KISFALVI, K.; BARDOCZ, S.; PUSZTAI, A.; VARGA, G.J. Diverse effects of phytohaemagglutinin on gastrointestinal secretions in rats. **Journal of Physiology**, Paris, v. 94, n. 1, p. 31-36, 2000.

KUMAR, V.; RANI A.; PANDEY, V.; CHAUHAN G.S. Changes in lipoxigenase isozymes and trypsin inhibitor activity in soybean during germination at different temperatures. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 3, p. 563–568, 2006.

JACKSON, H.W. Oil flavors quality assessment. In: APPLEWHITE, T.H. **Bailey's industrial oil and fat products**. New York: Wiley-Interscience, 1985. v. 3, p. 243-272.

JYOTHI, T.C.; SINDHU KANYA, T.C.; APPU RAO, A.G. Influência of germination on saponins in soybean and recovery of soy sapogenol I. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 31, n. 1, p. 1-13, 2007.

LABOURIAU, L.G. **A germinação de sementes**. Washington: Secretaria Geral da ONU, 1983. 174 p.

LATSCHA, T. **Carotenoids: their nature and significance in animal feeds**. Switzerland: Roche Animal Nutrition and Health, 1990. 110 p.

LEE, C.H.; YANG, L.; XU, J.Z.; YEUNG, S.Y.Z.; HUANG, Y.; CHEN, Z.Y. Relative antioxidant activity of soybean isoflavone and their glycosides. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 4, p. 735-741, 2005.

LEE, S.J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K.G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, London, v. 91, n. 1, p. 131-137, 2005.

LIENER, I.E. The nutritional significance of the plant lectins. In: ORY, R.L. **Antinutrients and natural toxicants in foods**. Westport: Food and Nutrition Press, 1981. p. 143-157.

_____. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 34, n. 1, p. 31-67, 1994.

LIS, H., SHARON, N. The biochemistry of plant lectins (phytohemagglutinins). **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 42, p. 541-574, 1973.

LIS, H.; SELA, B.A.; SACHS, L.; SHARON, H. Specific inhibition by N-acetyl-D-galactosamine of the interaction between soybean agglutinin and animal cell surfaces. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA): Biomembranes**, London, v. 211, n. 3, p. 582-585, 1970.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman & Hall, 1997. 532p.

_____. **Soybeans: chemistry, technology and utilization**. New York: Kluwer Academic, 1999. 532p.

LIUFA, W.; XUFANG, L.; CHENG, Z. Carotenoids from *Alocasia* leaf meal as xanthophylls sources for broiler pigmentation. **Tropical Science**, London, v. 37, n. 2, p. 116-122, 1997.

MANGAN, J.L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 1, p. 209-231, 1988.

MARCOS FILHO, J.; BRAGANTINI, C.; SANTOS, F.D.P. Comportamento de sementes de arroz (*Oriza sativa* L.) submetidas a radiações gama. **Boletim Técnico. 7**, CENA, Piracicana, 1972. 25 p.

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 2. Ed. Viçosa: Editora UFV, 2007. 469p.

MARTIN –CABREJAS, M.; DIAZ, M.F.; AGUILERA, Y.; BENITEZ, V.; MOLLA, E.; ESTEBAN, E. Influence of germination on the soluble carbohydrates and dietary fibre fractions in non-conventional legumes. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 3, p. 1045–1052, 2008.

MARUSICH, W.L.; BAUERNFEIND, J.C. Oxycarotenoids in poultry feeds. In: BAUERNFEIND, J.C. (Ed). **Carotenoids as colorants and vitamin A precursors**. New York: Academic Press, 1981. p. 319-462.

McCORMICK, D.B. Riboflavin. In: SHILLS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Modern nutrition in health and disease**. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. p. 391-399.

MENDONÇA, C.V.C.E.; PATTO DE ABREU, C.M.; CORRÊA, A.D.; SANTOS, C.D.; MORAIS, A.R. Quantificação de polifenóis e digestibilidade protéica de famílias de feijoeiro comum. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 4, p. 858-864, jul./ago. 2003.

MEREDITH, P.; POMERANZ, Y. Sprouted grain. In: POMERANZ, Y. (Ed.). **Advances in cereal science and technology**, Saint Paul: A.A.C.C, 1985. v. 7, p. 239-320.

MESQUITA, F.R.; CORRÊA, A.D.; ABREU, C.M.P.; LIMA, R.A.Z.; ABREU, A.F.B. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1114-1121, jul./ago. 2007.

METIVIER, J.R. Dormência e germinação. In: FERRI, M.G. (Coord.). **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EDU: EDUSP, 1979. v.2, cap. 12, p. 343-392.

MIURA, E.M.Y.; SILVA, R.S.S.F.; MIZUBUTIS, I.Y.; IDA, E.I. Cinética de inativação de inibidores de tripsina e de insolubilização de proteínas de diferentes cultivares de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 5, p. 1659-1665, 2005.

MISSÃO, M.R. Soja: origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. **Revista de Ciências Empresariais**, Maringá, v. 3, n. 1, p. 7-15, 2006.

MOON, J.W. Theoretical physiological basis for radiation hormesis. In: CONFERENCE ON RADIATION HORMESIS, 1985, Oakland. **Proceedings...** p. 14–16.

MORAES, R.M. **Montagem e avaliação de um equipamento para desodorização de “leite de soja” por arraste de vapor superaquecido**. 2002. 85 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2002.

MORAIS, A.A.C.; SILVA, A.L. Valor nutritivo e funcional da soja. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 306-315, 2000.

MOREHOUSE, K.M. Food irradiation - US regulatory considerations. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 3/6, p. 281-284, 2002.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.

MUÑOZ, A.M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation in quality control**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 240 p.

NEVES, V.A.; LOURENÇO, E.J. Changes in protein fractions, trypsin inhibitor and proteolytic activity in the cotyledons of germinating chickpea. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 51, n. 3, p. 269-275, 2001.

NISIZAWA, M. Studies on irradiation of agar agar in the solid-state - on the changes of water holding capacity of agar agar hydrogel produced by irradiation. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 36, n. 7, p. 1673-1676, 1988.

NYS, Y. Dietary carotenoids and egg yolk coloration: a review. **Archives fur Geflügelkunde**, Dordrecht, v. 64, n. 2, p. 45-54, 2000.

ORF, J.H.; HYMOWITZ, T.; PULL, S.P.; PUEPPKE, S.G. Inheritance of soybean seed lectin. **Crop Science**, Madison, v. 18, p. 899-900, 1979.

PARTEARROYO, M.A.; FERNÁNDEZ-QUINTELA, A.; CID, C. Sustancias antinutritivas em alimentos de origem vegetal. Su significado em La alimentación humana. **Alimentaria** Madrid, v. 267, p. 115-120, 1995.

PEACE, R.W.; SARWAR, G.; TOCHBURN, S.P. Trypsin inhibitor levels in soy-based infant formulas and commercial soy protein isolates and concentrates. **Food Research International**, Barking, v. 25, n. 2, p. 137-141, 1992.

PEARSON, A.M. Soy proteins. In: HUDSON, B.J.F. **Developments in food proteins - 2**. London: Applied Science, 1983. v. 1, p. 67-107.

PEREZ-VENDRELL, A.M.; HERNANDEZ, J.M.; LLAURADO, L.; SCHIERLE, J.; BRUFAU, J. Influence of source and ratio of xanthophylls pigments on broiler chicken pigmentation and performance. **Poultry Science**, Champaign, v. 80, n. 3, p. 320-326, 2001.

PONSANO, E.H.G.; PINTO, M.F.; GARCIA NETO, M.; LACAVA, P.M. Evaluation of *Rhodocyclus gelatinosus* biomass for broiler pigmentation. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 11, n. 1, p. 77-82, 2002.

_____. *Rhodocyclus gelatinosus* biomass for egg yolk pigmentation. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 13, n.3, p. 421-425, 2004.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília: PAX, 1985. 289 p.

POWERS, J. Riboflavin (vitamin B2) and health. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 77, n. 6, p. 1352-1360, 2003.

PUNTARULO, S.; SANCHES, R.A.; BOVERIS, A. Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination, **Plant Physiology**, Washington, v. 86, n. 2, p. 626-630, 1988.

PUSZTAI A. **Plant lectins**. New York: Cambridge University Press, 1991. 263 p.

PUSZTAI, A.; GRANT, G.; PALMER, R. Nutritional evaluation of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*): the isolation and the partial characterization of toxic constituents.

Journal of the Science of Food and Agriculture, London, v. 23, n. 2, p. 149-156, 1975.

RACKIS, J.J. Biological and physiological factors in soybeans. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 51, n. 1, p. 161-174, 1974.

RAMAKRISHNA, V.; RANI, P.J.; RAO, P.R. Anti-nutritional factors during germination in Indian bean (*Dolichos lablab* L.) seeds. **World Journal of Dairy and Food Sciences**, New York, v. 1, n.1, p. 6-11, 2006.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.L.A. **Biodisponibilidade de zinco e de ferro, valor nutricional e funcional de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamentos domésticos**. 2006 189 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.; LEONEL, A.J.; COSTA, N.M.B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 200-213, jan./mar. 2008.

RAO, V.S.; VAKIL, V.K. Effects of gamma irradiation on flatulence-causing oligosaccharides in green grown (phaseolus, aureus). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 48, n. 6, p. 1791-1795, 1983.

REDDY, N.R.; PIERSON, M.D.; SATHE, S.K.; SALUNKLE, D.K. **Phytates in cereals and legumes**. Boca Raton: CRC Press, 1989. 159 p.

RIBEIRO, M.L.L.; IDA, E.I.; OLIVEIRA, M.C.N. Efeito da germinação de soja CV. BR-13 e Paraná sobre ácido fítico, fósforo total e inibidores de tripsina. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 31-36, jan. 1999.

RICKARD, S.E.; THOMPSON, L.U. Interactions and biological effects of phytic acid. In: SHAHID, F. (Ed.). **Antinutritional and phytochemicals in food**. Washington: American Chemical Society, 1997. p. 294-312.

RIZZOLI, A.; POLESELLO, S. Chromatographic determination of vitamins in foods. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 264, p. 103-152, 1992.

RODRIGUES-AMAYA, D. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: OMNI Research; ILSI Press, 1999. 71 p.

ROSA, V.P. **Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo minas frescal**. 2004. 155 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

ROZAN, P.; LAMGHARI, R.; LINDER, M. In vivo and in vitro digestibility of soybean, lupine, and rapeseed meal proteins after various technological processes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 5, p. 1762-1769, 1997.

RÜDIGER, W.; SCHOCH, S. Chlorophylls. In: GOODWIN, T.W. (Ed.). **Plant pigments**. San Diego: Academic Press, 1988. p. 1-53.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Comunicado Técnico on line, Fortaleza, 2007. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Ct_127.pdf>. Acesso em: 28 jul. 2011.

SANGRONIS, E.; MACHADO, C.J. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. **LWT Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 1, p. 116-120, 2007.

SANTOS, M.R.L. **Efeitos da radiação gama do ^{60}Co em frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 2008. 92 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SATHE, S.K. Dry bean protein functionality. **Critical Reviews in Biotechnology**, London, v. 22, n. 2, p. 175-223, 2002.

SATHE, S.K.; SALUNKHE, D.K. Technology of removal of unwanted components of dry beans. **CRC: Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 21, n. 1, p. 263-287, 1984.

SATHE, S.K.; DESHPANDE, S.S.; REDDY, N.R.; GOLL, D.E.; SALUNKHE, D.K. Effect of germination on protein, raffinose oligosaccharides and antinutritional factors in the Great northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, London, v. 48, n. 6, p. 1796-1800, 1983.

SAVELKOUL, F.H.M.G.; VAN DER POEL, A.F.B.; TAMMINGA, S. The presence and inactivation of trypsin inhibitors, tannins, lectins and amylase inhibitors in legume seeds during germination: a review. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 42, n. 1, p. 71-75, 1992.

SCHUBERT, S.Y.; LANSKY, E.P.; NEEMAN, I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate oil and fermented juice flavonoids. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 66, n. 1, p. 11-17, 1999.

SENA, W.N. **Misturas soja/fubá: aceitabilidade por crianças**. 1978. 85 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1978.

SGARBIERI, V.C.; GARRUTI, E.C.; GUZMÁN, E.C. Soybeans as an extender of common beans. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Chicago, v. 58, n. 3, p. 522-526, 1981.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic Publishing, 1995. 331 p.

SHEPPARD, S.C.; HAWKINS, J.L. Radiation hormesis of seedlings and seeds, simply elusive or an artifact? **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 30, n. 1, p. 17-25, 1990.

SHI, H.; NAM, P.K.; MA, Y. Comprehensive profiling of isoflavones, phytosterols, tocopherols, minerals, crude protein, lipid and sugar during soybean (*Glycine max*) germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 8, p. 4970-4976, 2010.

SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 2. ed. Barueri: Manole; 2003. 2106 p.

SHIMELIS, E.A.; RAKSHIT, S.K. Effect of processing on antinutrients and *in vitro* protein digestibility of Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa. **Food Chemistry**, London, v. 103, n. 1, p. 161-172, 2007.

SIDDHURAJU, P.; MAKAR, H.P.S.; BECKER, K. The effect of ionizing radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, London, v. 78, n. 2, p. 187-205, 2002.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

SILVA, M.R.; SILVA, A.A.P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 5-19, 1999.

SILVA, M.S.; NAVES, M.M.V.; OLIVEIRA, R.B. de; LEITE, O.S.M. Composição química e valor protéico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 571-576, 2006.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2000. 1102 p.

SIQUEIRA, A.A.A.Z.C. **Efeitos da radiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da Tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2001. 154 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

STAHLHUT, R.W.; HYMOWITZ, T. Variation in the low molecular weight proteinase inhibitors of soybeans. **Crop Science**, Madison, v. 23, p. 766-769, 1983.

STANLEY, D.W.; AGUILLERA, J.M. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes: the influence of structure and composition. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 9, n. 4, p. 277-323, 1985.

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. 3rd ed. New York: Academic Press, 1993. 338 p.

TAIZ, L.; ZIEGLER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Tradução de E.R. Santarém et al. Porto Alegre : Artmed, 2004. 693p.

TANPHAICHITR, V. Thiamin. In: SHILLS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Modern nutrition in health and disease**. 9th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. p. 381-389.

THOMAS, M.H.; ATWOOD, B.M.; WIERBIEKI, E.; TAUBI, I.A. Effect of irradiation and conventional processing on the thiamin content of pork. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n.3, p.824-828, 1981.

THOMPSON, L.U.; ZHANG, L. Phytic acid in minerals: effect on early markers of risk for mammary and colon carcinogenesis. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 12, n. 11, p. 2041-2945, 1991.

VALENTINER, U.; FABIAN, S.; SCHUMACHER, U.; LEATHEM, A.J. The influence of dietary lectins on the cell proliferation of human breast cancer cell lines in vitro. **Anticancer Research**, Amsterdam, v. 23, n. 2B, p. 1197–206, 2003.

VARYAR, P. S; LIMAYE, A.; SHARMA, A. Radiation: induced enhancement of antioxidant contents of soybean (*Glycine max Merrill*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 11, p. 3385-3388, 2004.

VASCONCELOS, I.M.; OLIVEIRA, J.T.A. Antinutritional properties of plant lectins. **Toxicon**, Elmsford, v. 44, n. 4, p. 385-403, 2004.

VASCONCELOS, I.M.; MAIA, A.A.B.; SIEBRA, E.A.; OLIVEIRA, J.T.A.; CARVALHO, A.F.F.U.; MELO, V.M.M.; CARLINI, C.R.; CASTELARI, L.I.M. Nutritional study of two Brazilian soybean (*Glycine max*) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Amsterdam, v. 12, n. 1, p. 55-62, 2001.

VASCONEZ–COSTA, M. **Effect of genotype, environment and processing on the level of lectin and lunasin in soybean**. 2004. Thesis (Master) - University of Illinois, Urbana-Champaign, 2004.

VERRUMA-BERNARDI, M.R.; SPOTO, M.H.F. Efeito da radiação gama sobre o perfil sensorial de suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 28-32, 2003.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FLHO, J.; DELINCÉE, H.; BOGNÁR, A. Effect of gamma irradiation on the thiamine, riboflavin and vitamin B6 content in two varieties of Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 57, n. 3, p. 299-303, 2000.

VILLELA, F.A. Water relations in seed biology. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, p.98-101, 1998.

VODKIN, L.O.; RHODES, P.R.; GOLDBERG, R.B. cA lectin gene insertion has the structural features of a transposable element. **Cell**, London, v. 34, n. 3, p. 1023-1031, 1983.

VON ELBE J.H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Editora Acribia, 2000. cap. 10, p. 782-799.

WEIJL, N.I.; CLETON, F.J.; OSANTO, S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. **Cancer Treatment Reviews**, London, v. 23, n. 4, p. 209-240, 1997.

WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 8, p. 3576-3580, 2000.

WIENDL, F.M. A salubridade dos alimentos irradiados. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n.1, p.48-56, 1984.

WILLIAMS, W.D. Origin and impact of color on consumer preference for food. **Poultry Science**, Champaign, v. 71, n. 4, p. 744-746, 1992.

WILLIAMSON, G.; FAULKNER, K.; PLUMB, G.W. Glucosinolates and phenolics as antioxidants from plant foods. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v. 7, n. 1, p. 17-21, 1998.

WOLF, W.J.; COWAN, J.C. **Soybean as a food source**. Cleveland: CRC Press, 1975. 101p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO handbook on human nutritional requirements**. Geneva, 1974. 78 p.(Monograph Series, 61).

YUANG, J.P.; LIU, Y.B.; PENG, J.; WANG, J.H.; LIU, X. Changes of isoflavone profile in the hypocotyls and cotyledons of soybeans during dry heating and germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 19, p. 9002-9010, 2009.

ZAKA, R.; CHENAL, C.; MISSET, M.T. Effects of low doses of short-term gamma irradiation on growth and development through two generations of *Pisum sativum*. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 320, n. 2/3, p. 121-129, 2004.

ZEB, A.; TAUFIQ, A. The high dose irradiation affect the quality parameters of edible oils. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Pakistan, v. 7, n. 6, p. 943-946, 2004.

ZHU, D.; HETTIARACHCHY, N.S.; HORAX, R.; CHEN, P. Isoflavone contents in germinated soybean seeds. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 60, n. 3, p. 147-151, 2005.

3 EFEITO DA GERMINAÇÃO E IRRADIAÇÃO NOS FATORES ANTINUTRICIONAIS DA SOJA (*Glycine max* MERRIL) CULTIVAR BRS216

Resumo

Dada a importância econômica da soja no mundo e dos seus potenciais benefícios à saúde, possíveis métodos de processamentos devem ser propostos e pesquisados a fim de melhorar a qualidade nutricional da soja e conseqüentemente aumentar sua versatilidade e utilização na alimentação humana. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos dos diferentes tempos de germinação (0, 48 e 72 horas) e doses de radiação (0; 0,025kGy; 0,075kGy e 0,150kGy), individualmente e associados, sobre os fatores antinutricionais (taninos condensados, inibidores de tripsina, ácido fítico e hemaglutinina), digestibilidade de proteína e teor de fósforo em soja BRS216. Os resultados mostraram reduções nos teores de taninos, ácido fítico, inibidores de tripsina e hemaglutinina e aumento no conteúdo de fósforo e na digestibilidade da proteína após germinação de 48 e 72 horas. Além disso, à irradiação não promoveu alterações significativas na qualidade nutricional da soja. Isso pode ser devido às baixas doses utilizadas, pois o propósito foi de utilizar a irradiação como estímulo para o crescimento do grão e não como forma de processamento. Assim, a combinação da irradiação seguida pelo processo de germinação, não resultou em maiores alterações na qualidade nutricional do grão quando realizados isoladamente.

Palavras-chave: Processo de germinação; Doses de radiação; Antinutricionais; Soja BRS216

Abstract

Given the economic importance of soybean in the world and its potential health benefits, possible methods of processing should be proposed and investigated to improve its nutritional quality, thus enhancing its versatility and use in diets. The purpose of this study was to evaluate the effects of different germination times (0, 48 and 72 hours) and irradiation doses (0, 0.025 kGy, 0.075 kGy and 0.150 kGy), isolated and associated, on the anti-nutritional factors (tannins, trypsin inhibitors, phytic acid and haemagglutinin), protein digestibility and phosphorus content in soybean BRS216. The results showed reductions in levels of tannins, phytic acid, trypsin inhibitors and hemagglutinin, and an increased content of phosphorus and protein digestibility after germination of 48 and 72 hours. Moreover, irradiation did not cause significant changes in the nutritional quality of soybeans. This may be due to the low doses applied, because the purpose was to use irradiation as a stimulus for the bean growth and not as a processing method. Thus, the use of irradiation followed by the germination process did not result in major changes in the nutritional quality of the soybean when performed alone.

Keywords: Germination process; Doses of radiation; Antinutritional; Soybean BRS216

3.1 Introdução

O crescente interesse pela soja como fonte alimentar ocorreu após constatação científica de suas importantes propriedades funcionais (CHIARELLO et al., 2006; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE OS BENEFÍCIOS DA SOJA PARA A SAÚDE HUMANA, 2001) aliado a busca do consumidor por alimentos mais saudáveis (PAUCAR-MENACHO, 2009).

Apesar da elevada produção do grão de soja no mundo (produção de 259,7 milhões de toneladas na safra 2009/2010 (EMBRAPA, 2011) e dos seus referidos benefícios a saúde, seu consumo (grãos ou subproduto) no Brasil ainda é escasso, devido a fatores como sabor amargo, presença de compostos antinutricionais (inibidores de tripsina, lectinas, ácido fítico entre outros), e baixa digestibilidade (LIU, 1997). Mas, esta situação está mudando face ao melhoramento genético voltado às tendências de mercado e a disponibilidade de tecnologias que favorecem a melhora das qualidades nutricionais e sensoriais do grão (SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE OS BENEFÍCIOS DA SOJA PARA A SAÚDE HUMANA, 2001).

Apesar das vantagens observadas nos grãos de soja, apresentam também características indesejáveis que limitam sua aceitabilidade ou seu valor nutricional. Por este motivo, vários métodos de processamento de alimentos, como germinação, radiação ionizante, maceração, fermentação e tratamento térmico têm sido realizados como alternativa para alterar características não desejáveis associadas aos grãos (VASCONCELOS et al., 2001; MORAIS et al., 2000) e o conteúdo neutracêuticos dos alimentos (KWAK et al., 2007).

O processo de germinação tem sido proposto como uma tecnologia simples e eficaz na melhora da qualidade nutricional da soja (FERNANDEZ-OROZCO et al., 2008; LÓPEZ-AMORÓS et al., 2006; FRIAS et al., 2005). Além disso, o desenvolvimento de produtos a base de soja germinada, é outro modo de aumentar as opções de utilização e aceitação do grão na alimentação humana (BAU et al., 1997).

Durante a germinação as reservas dos grãos são degradados e utilizados para respiração e síntese de novas estruturas celulares, causando conseqüentemente alterações significativas nas características químicas, nutricionais e sensoriais (LÓPEZ-AMORÓS et al., 2006).

O processamento por radiação ionizante é considerado um método seguro e eficiente para reduzir o risco de infecção alimentar (SOUZA, 2006) e para preservar o valor nutricional dos alimentos (ABU-TARBOUSH, 1998). Este processo tem se mostrado eficiente tanto na redução dos fatores antinutricionais (BYUN; KANG; MORI, 1996), quanto no aumento da atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes na soja (VARYAR; LIMAYE; SHARMA, 2004). No entanto, poucos pesquisadores tem se dedicado ao estudo dos fenômenos que ocorrem quando, baixas doses de radiação promovem efeitos estimulantes na germinação dos grãos. O aumento na germinação das sementes é um dos efeitos benéficos mais conhecidos quando submetidos a baixas doses de radiação (BROWN, 1988).

Muitos pesquisadores observaram que os métodos quando aplicados de forma isolada, não são capazes de remover todos os fatores indesejáveis presentes no grão, havendo a necessidade da associação de dois ou mais métodos. Informações relativas ao efeito da combinação dos métodos de germinação e radiação ionizante ainda são escassos (GHAVIDEL et al., 2007; SIDDHURAJU; MAKKAR; BECKER, 2002; ABU-TARBOUSH, 1998).

Entretanto, face à importância desta leguminosa como “alimento funcional” aliada à sua disponibilidade no Brasil, é evidente a necessidade de disponibilizar ao consumidor produtos com qualidade no mercado, priorizando os aspectos nutricionais e sensoriais da soja. Assim posto, a pesquisa teve por objetivo investigar os efeitos dos diferentes tempos de germinação (tempos: 0, 48 e 72 horas) e doses de radiação (doses: 0; 0,025kGy; 0,075kGy e 0,150kGy), individualmente e associados, sobre as características nutricionais, dentre eles, os fatores antinutricionais, digestibilidade de proteína e teor de fósforo, da soja cultivar BRS216.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Matéria-prima

Para a realização do experimento utilizou-se soja cultivar BRS 216, doados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA- SOJA), Londrina-PR.

3.2.2 Irradiação

Os grãos de soja foram irradiados no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), com raios gama, provenientes do Cobalto60 em irradiador comercial para alimentos, do tipo Gammacell, nas doses de 0; 0,025; 0,075 e 0,150kGy, com taxa de dose de $0,456\text{kGy h}^{-1}$ e posteriormente foram germinados. A quantidade da dose absorvida durante a irradiação foi medida através de dosímetro polimetilmetacrilato (PMMA – Red perspex). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, e a dose de radiação absorvida foi relatada quantitativamente no intervalo de 530 nm. Para analisar os grãos somente irradiados, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* com a finalidade de obtenção da farinha. Essa farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

3.2.3 Germinação

Para a higienização os grãos de soja sofreram imersão em 300 mL de hipoclorito de sódio a 1% (v/v) por 20 min. Lavagem com água deionizada, hidratação dos grãos em 300 mL de água deionizada por 8h à temperatura ambiente, ao final foi retirado o excesso de água. Após a hidratação os grãos foram mantidos em laboratório com temperatura e luminosidade ambiente. A germinação ocorreu durante os meses de novembro de 2009 até maio de 2010 com a temperatura variando na faixa entre 30°C a 18,5°C (temperatura média de 24,2°C) e a umidade relativa do ar média de 77,3%. A cada 8h as sementes foram umedecidas e agitadas levemente. As amostras foram recolhidas para análises após 48h e 72h de germinação e congeladas a -80°C durante um dia e posteriormente foram liofilizadas e trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* para a realização das análises. Quando armazenada, foi colocada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

3.2.4 Tratamentos

Após os processos de irradiação e germinação, foram realizados os tratamentos:

T1 – Grão Controle	T7 – Grão germinado 48 horas e Irradiado 0,075kGy
T2 – Grão Irradiado 0,025kGy	T8 – Grão germinado 48 horas e Irradiado 0,150kGy
T3 – Grão Irradiado 0,075kGy	T9 – Grão germinado 72 horas
T4 – Grão Irradiado 0,150kGy	T10 – Grão germinado 72 horas e Irradiado 0,025kGy
T5 – Grão germinado 48 horas	T11 – Grão germinado 72 horas e Irradiado 0,075kGy
T6 – Grão germinado 48 horas e Irradiado 0,025Kgy	T12 – Grão germinado 72 horas e Irradiado 0,150kGy

3.2.5 Taninos condensados

O conteúdo de taninos condensados das amostras foi determinado pelo método do butanol ácido segundo Porter; Hrstich e Chan (1986) com modificações sugeridas por Hagerman (1978). Inicialmente, pesou-se 0,6g dos grãos somente irradiados e controle e 1,2g para os demais tratamentos. Adicionou-se 10 mL de metanol para extração, cobrindo com papel alumínio. Agitou-se por 20 minutos, e a seguir foi centrifugado por 20 minutos a 4000rpm. Foi acertado em balão 10 mL do sobrenadante, para que a seguir ser adicionado 1 mL do extrato com 5 mL da mistura valina 1:1 em tubo de ensaio. Foram cobertos novamente com papel alumínio, agitando por 20 minutos à 30° C em banho Maria. As leituras das absorbâncias foram realizadas à 500nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em mg de catequina g⁻¹ de amostra.

3.2.6 Ácido Fítico

O teor total de ácido fítico nas amostras foi determinado segundo o método descrito por Grynspan e Cheryan (1989), onde as amostras são digeridas em 10 mL de solução de HCl 0,65 N 1 h com agitação casual, posteriormente centrifugada

a 300 rpm por 10 min. Na seqüência, foi pipetado 2 mL do sobrenadante que foi diluído em água destilada em balão volumétrico de 25 mL. Pipetou-se 10 mL da solução do balão para bureta previamente preparada fazendo com que a solução eluísse através de resina a velocidade de 1 gota por segundo, posteriormente o eluído foi descartado. Em seguida foi pipetado 15 mL de solução de NaCl 0,1 M para a bureta, sendo o eluído descartado também. Pipetou-se 15 mL de solução de NaCl 0,7 M recolhendo o eluído em Becker limpo onde foi pipetado 5 mL em tubos de ensaio adicionados de 1 mL de reagente de Wade com agitação vigorosa. Após 15 minutos foi realizada a leitura da absorbância a 500 nm em espectrofotômetro Beckman modelo DU 640, obtendo-se assim o teor de ácido fítico a partir da construção de curva padrão. Os resultados foram expressos em mg de ácido fítico g^{-1} de amostra.

3.2.7 Inibidor de tripsina

A atividade inibitória de tripsina foi determinada de acordo com Kakade et al., (1969), usando-se benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPA) como substrato, 0,2 a 1,0 mL dos extratos protéicos foram pipetados e o volume final ajustado para 0,1 mL com tampão Tris 50 mM, pH 8,2, contendo CaCl_2 20 mM. A cada tubo, previamente acondicionado em banho-maria a 37° C, foi adicionado 1,0 mL da solução de tripsina (0,05 mg mL^{-1} de HCl 0,01 N) e, após 5 min., 7,0 mL de BAPA (0,3 mg mL^{-1} de tampão Tris 50mM, pH 8,2, contendo CaCl_2 20 mM), previamente aquecido a 37° C. A reação foi interrompida após 10 min pela adição de 1,0 mL de ácido acético 30% e a absorbância foi lida a 410 nm, contra os brancos. Os resultados foram expressos como UTI. g^{-1} de proteína e mg g^{-1} .

3.2.8 Lectina

Empregou-se o método que se baseia na sensibilidade à aglutinação das hemácias tripsinizadas de boi, quando na presença de hemaglutinina (LIENER, 1955). As amostras de sangue foram convenientemente tratadas com anticoagulantes e solução tampão fosfato pH 7,0. A tripsinização das hemáceas foi feita, adicionando-se 20 mg de tripsina Difco (1:250) em 10 mL de solução salina tamponada (2:1 p/v) e mantendo a mistura à 37°C por 1 hora. Após esse período, repetiu-se a operação de

lavagem e feita a ressuspensão das hemáceas a 1% (v/v) com solução tampão e então realizada a reação de aglutinação, colocando-se 50 microlitros de solução tampão salina em placas mais 50 microlitros de amostra, fazendo-se diluição seriada seqüencial. As placas foram incubadas por 1 hora a 37°C e posteriormente foi feita a leitura, definindo o título hemaglutinante como sendo a maior diluição capaz de promover aglutinação (+) nas condições do ensaio, ajustando a concentração inicial do extrato em 1 mg de proteína por mL (MANCINI FILHO, 1982).

3.2.9 Mineral Fósforo

O mineral fósforo foi determinado pelo método descrito por Sarruge e Haag (1974). Foi utilizado o ácido nítrico para a digestão nitro-perclórica das amostras a 50°C por 10 a 15 minutos, a 100°C até digerir todo o material e atingir a temperatura de 150°C. Após resfriamento e diluição do material com água desmineralizada, foi realizada a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 420nm.

3.2.10 Digestibilidade de proteína *in vitro*

A digestibilidade *in vitro* foi determinada segundo metodologia descrita por Akeson e Stahman (1964), a qual se baseia na hidrólise enzimática das proteínas com pepsina e pancreatina, seguida da determinação do nitrogênio não precipitável com ácido pícrico. A amostra foi solução de pepsina na concentração de 3 mg mL⁻¹ em HCL 0,1 N e deixada a 37°C por 3 horas. Posteriormente, foi neutralizada com NaOH 0,1 N, sendo então adicionada a solução de pancreatina na concentração de 0,4% em tampão fosfato 0,1 M à pH 8,0, ficando a mistura incubada durante 24 horas sob agitação à 37°C. Foram retirados 2 mL da mistura, na qual foi acrescentados 8 mL de ácido pícrico a 1%. Após uma noite, foram centrifugadas a 4.000 rpm por 30 minutos. Do sobrenadante foi determinado o nitrogênio através do método Microkjeldahl.

3.2.11 Análise dos dados

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento para todas as análises químicas, sendo os resultados expressos em média±desvio-padrão. Foi realizada análise de variância pelo teste F e a

comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos segundo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) através do programa *Software Statistical Analysis System* (SAS) (SAS, 1998). Fez-se também a correlação de Pearson, entre todas as variáveis estudadas com o processo de germinação e irradiação. A construção dos gráficos e tabelas foi feita pelo programa Excel (MICROSOFT OFFICE EXCEL, 2007).

3.3 Resultados e Discussão

Na Figura 5 estão apresentados os teores de taninos da soja BRS216 após serem submetidos às diferentes doses de radiação e tempos de germinação.

Figura 5 - Teores médios de taninos condensados ($\text{mg catequina g}^{-1}$ soja) em base seca, para as sojas que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle

Conforme dados apresentados na Figura 5, verifica-se redução total, com correlação alta e negativa ($r = -0,94$), nos teores de taninos após processo germinativo. Em se pensando no consumo dos grãos de soja, esse resultado demonstra que a aplicação da germinação torna-se relevante, já que esse fator antinutricional tem a capacidade de interagir com outros nutrientes formando complexos insolúveis e com isso reduzindo a digestibilidade e biodisponibilidade de proteínas, minerais e outros nutrientes (CANNIATTI-BRAZACA, 1994). No entanto, apesar de presentes na soja, a

quantidade de taninos nesse grão não é suficiente para provocar efeito antinutricional (LIENER, 1994).

Em contrapartida, o impacto da irradiação no conteúdo de taninos na soja não foi significativo a 5% de probabilidade quando comparado à amostra controle. Uma explicação para tal fato seria a utilização de baixas doses (0,025kGy; 0,075kGy e 0,150kGy) como forma de estímulo para o brotamento dos grãos, e não como tratamento para redução desse composto fenólico. Resultados comprovando a redução de taninos após irradiação utilizando doses maiores, foram observados por Brigide (2002), Mechi et al. (2005) e Villavicencio et al. (2000) com doses variando entre 2 a 10kGy.

Os resultados encontrados para soja controle (Figura 5), foram superiores aos teores observados por Yamada et al. (2003), Biscaro (2009) e Toledo (2006) que encontraram 0,055; 0,04 e 0,24-0,32mg g⁻¹ de amostra de diferentes variedades de grãos de soja. A diferença se deve a diferentes modos de cultivo, cultivares e condições climáticas.

Na germinação, tem-se observado a redução dos fatores antinutricionais em diferentes tipos de grãos. Chopra e Sankhala (2004) investigaram a influência da hidratação e germinação de dois tipos de feijões ricos em taninos (*Dolichos biflorus* e *Phaseolus aconitifolius*), sobre a disponibilidade de ferro *in vitro*. A redução nos teores de taninos ocorreram com a hidratação dos grãos durante 8 e 16 horas, porém a degradação foi acentuada após 24 horas do processo germinativo. A disponibilidade de ferro *in vitro* aumentou significativamente após imersão e germinação da leguminosa estudada.

Sangronis e Machado (2007) observaram reduções nos conteúdos de taninos de 36,2%, 19% e 14,3% para o feijão branco, feijão preto e feijão guandu respectivamente, após 5 dias de germinação. Os mesmos afirmaram que antes do processo de germinação os grãos foram hidratados com água destilada, e após serem drenados, a água de maceração exibia coloração escura. Reddy et al. (1985) relataram que a hidratação dos grãos durante a noite, seguido por germinação (48 horas), reduziu em 50% os teores de taninos de ampla variedade de leguminosas estudadas.

Ghavidel et al. (2007), encontraram redução média de 18,46% após 48

horas de germinação e 46,91% com a retirada da casca após germinação de quatro diferentes tipos de leguminosas, indicando que os taninos encontram-se na casca dos grãos, estando responsáveis pela coloração dos mesmos.

Resultados diferentes ao presente estudo foram observados por Oloyo (2004). Ao quantificar teor de taninos em leguminosa foi observado redução de 81,86% até segundo dia de germinação, porém, após esse período foi verificado aumento gradual no conteúdo de taninos, atingindo em torno de 92% no quinto dia do processo germinativo. Ahmed et al. (2006), encontraram aumento de 51,5% no conteúdo de taninos após 36 horas de germinação e redução de 85,71% após 18 horas de hidratação e remoção da casca. Segundo o autor este aumento no conteúdo de tanino durante processo germinativo deve-se à solubilização de taninos insolúveis que pode ter causado migração dos taninos do tegumento ao núcleo da semente.

Contudo os resultados obtidos conferem ao processamento de germinação utilizado eficácia na redução deste componente capaz de inferir no valor nutritivo desta leguminosa.

Os resultados obtidos dos teores de ácido fítico e fósforo e suas correlações com teor de fósforo, estão apresentados na Tabela 3 e 4.

Tabela 3 - Teores de ácido fítico (mg g^{-1} soja) em base seca, para os tratamentos que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, bem como o controle (média $\pm$ desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Teor de Ácido Fítico (mg g^{-1})	Teor de Fósforo (g kg^{-1})
0	0	$17,45 \pm 0,31^{a,b}$	$6,03 \pm 0,2^d$
0	48	$14,25 \pm 0,3^{c,d}$	$16,26 \pm 0,4^c$
0	72	$13,67 \pm 0,1^{c,d}$	$19,71 \pm 1,7^{a,b}$
0,025	0	$19,16 \pm 1,1^a$	$6,05 \pm 0,2^d$
0,025	48	$14,38 \pm 0,6^{c,d}$	$16,40 \pm 0,8^c$
0,025	72	$13,40 \pm 0,2^{c,d}$	$18,97 \pm 0,9^{a,b}$
0,075	0	$18,67 \pm 0,8^{a,b}$	$6,03 \pm 0,2^d$
0,075	48	$15,02 \pm 0,7^c$	$16,05 \pm 0,4^c$
0,075	72	$12,84 \pm 0,4^d$	$20,68 \pm 0,5^a$
0,15	0	$17,32 \pm 0,3^b$	$6,03 \pm 0,4^d$
0,15	48	$14,48 \pm 0,2^{c,d}$	$19,26 \pm 0,3^{a,b}$
0,15	72	$12,84 \pm 0,9^d$	$17,95 \pm 1,3^{b,c}$

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$

Tabela 4 - Coeficiente de Correlação de Pearson e respectivas probabilidades estatísticas entre ácido fítico e teor de fósforo, disponibilidade de Ferro, Cálcio e Zinco durante processo de germinação

X	Y	Coeficiente de Correlação	P
Ácido Fítico	Teor de Fósforo	-0,92	<0,0001
Ácido Fítico	Biodisponibilidade Fe	-0,38	0,0188
Ácido Fítico	Biodisponibilidade Ca	0,44	0,0068
Ácido Fítico	Biodisponibilidade Zn	0,54	0,0006

Observando a tabela 3, nota-se que as amostras apresentaram reduções nos teores de ácido fítico à medida que o período de germinação foi aumentando. Ao final de 48 e 72 horas de germinação, houve decréscimo no teor desta variável de 9,58 e 18,51%, respectivamente. As amostras irradiadas, não apresentaram diferença estatística em relação ao grão controle. Menores teores de fitato foram observados nos

tratamentos com soja germinada há 72 horas, porém não foram estatisticamente significativos pelo teste de Tukey a 5% dos tratamentos submetidos à germinação durante 48 horas.

Reduções no conteúdo de ácido fítico, como efeito do processo de germinação, tem sido relatado em diversos grãos de leguminosas. Ribeiro et al. (1999) encontraram resultados similares à este estudo, tanto no teor de fitato no grão de soja controle quanto nas reduções deste nutriente após germinação. Nos cultivares, BR-13 e Paraná, foram encontrados teores de 13,03 e 16,71 mg.g⁻¹ no grão controle com reduções de 6,44% e 9,45% nas amostras germinadas durante 48h e 15,96% e 9,45% após 72 horas, respectivamente.

Martinez et al. (2011) encontraram teor de ácido fítico de 13,68mg g⁻¹ em amostras de grãos de soja controle. Redução de 6,65% foi observado após 48 horas de germinação, não sendo estatisticamente semelhante.

Estudo realizado por Vidal-Valverde et al. (2002) encontraram redução gradativa na estrutura molecular do ácido fítico (IP6 - IP5 - IP4 - IP3) após 2, 4 e 6 dias de germinação. Redução máxima de 88,5% foi encontrada após hidrólise de IP6 à IP3, não apresentando diferença estatística para as condições de germinação estudadas (ausência ou presença de luminosidade).

Durante o processo germinativo, as enzimas existentes na semente, entre elas as fitases e fosfatase ácidas, são ativadas já durante maceração dos grãos, e 20 a 70% do ácido fítico presente na semente (DESHPANDE, 1985; REDDY et al., 1982) é hidrolisado liberando H₃PO₄, Mg²⁺, Ca²⁺ e inositol (LABOURIAU, 1983). O inositol hexafosfato (IP6) é parcialmente desfosforilado para produzir compostos estruturalmente menores, como pentafosfato (IP5), tetrafosfato (IP4), trifosfato (IP3), difosfato (IP2) e monofosfato (IP1), por ação da fitase endógena (SILVA et al., 1999; DOMINGUEZ et al., 2002) e assim, requeridos no processo germinativo, como fonte de energia celular, auxiliando no crescimento e desenvolvimento do grão (DÍAZ-BATALHA et al., 2006; VIDAL-VALVERDE et al., 2002). A função biológica da enzima fitase em sementes esta relacionada com a liberação do fósforo inorgânico e orgânico a partir do fitato hidrolisado e na disponibilidade de cálcio, proteína, magnésio e lipídeo (KUMAR et al., 2010). Desta forma, a desfosforilação do fitato torna-se pré-requisito para melhoria

do valor nutricional do grão, favorecendo o aumento de nutrientes que estavam complexados à molécula do ácido fítico (SANDBERG et al., 1999; SHIMELIS et al., 2007).

Considerando a interação entre teor de Fósforo (P) e ácido fítico (Tabela 4), observa-se correlação alta e negativa (-0,9), ou seja, inversamente proporcional, com nível de significância menor que 0,0001. Levando em conta que, durante o desenvolvimento do grão, os teores de ácido fítico reduziram e teores de fósforo aumentaram em torno de 10 – 14% pode-se propor que o fitato foi hidrolisado e conseqüentemente o micronutriente fósforo foi liberado, reduzindo-se assim, os efeitos indesejáveis deste constituinte.

Tem-se observado que o efeito da germinação nos teores de fósforo em leguminosas difere de uma espécie para outra. Azeke et al. (2011) observaram redução de ácido fítico de 18 – 45% e aumento nos teores de fósforo de 1-3% após 3 dias de germinação em diferentes tipos de leguminosas. Mubarak et al. (2005) relataram aumento de 4% em fósforo após 3 dias de germinação de feijão Mungo, enquanto Hahm et al, (2009) verificaram aumento de 6% após 3 dias de germinação em grãos de gergelim.

Diversos autores (REDDY, 2002; SHIMELIS et al., 2007; VIDAL-VALVERDE et al., 2002) indicam que embora o teor de ácido fítico diminua durante processo germinativo, o aumento da atividade dessas enzimas dependerá das condições da germinação estudadas, entre elas, variações ambientais (luminosidade, temperatura, umidade relativa), localização de cultivo, tipos de solo, aplicação de fertilizantes, tipo e cultivar do grão analisado), bem como o tipo e tempo de maceração realizado anterior ao processo de germinação. Assim, com esta grande variação nos teores de ácido fítico, conclui-se que as condições de germinação os quais os grãos são submetidos, têm papel fundamental na composição do produto final.

Tajoddin et al. (2011) observaram reduções de 13-40% no teor de ácido fítico após 12 horas de hidratação de grãos de feijão Mungo de diferentes cultivares. Sucessivas reduções no conteúdo de fitato foram observadas com o aumento no tempo de germinação (24 horas e 48 horas). Este mesmo efeito foi observado por Shimelis et al. (2007) após 12 horas de hidratação em água destilada para três variedades de

feijão. Segundo Mandal et al. (1970) a perda de ácido fítico durante hidratação dos grãos, ocorre devido às características hidrossolúveis deste nutriente, que pode ocorrer lixiviação na água de maceração por meio de gradiente de concentração bem como o aumento da atividade das enzimas fitase e fosfatase ácida durante este processamento. No presente estudo, não foi quantificado o teor de fitato após hidratação dos grãos, porém deve-se levar em consideração que o processo de maceração foi somente de 8 horas, tempo este diferente ao utilizado nos estudos citados anteriormente.

Khattak et al. (2007) estudando o efeito do tempo de germinação (0, 24, 48, 72 e 96 horas) e tipos de luminosidade no teor de ácido fítico em grão de bico, observaram diminuição significativa durante 48 horas, para as amostras submetidas aos diferentes tipos de luminosidade (fluorescência, amarelo, azul, verde e vermelho), alcançando valores máximos após 120 horas, porém com valores ainda menores do que a amostra controle. Maiores concentrações de ácido fítico foram observadas nas amostras germinadas com ausência de luz.

Prazeres et al. (2004) observaram que durante a germinação de grãos de soja ocorre aumento na atividade das enzimas fosfatase com conseqüentes reduções no conteúdo de fosfato inorgânico e ácido fítico a partir do 2º dia de germinação.

Ayet et al. (1997) ao estudarem as condições de germinação nos aspectos antinutricionais da lentilha, verificaram que durante os três primeiros dias de germinação as quantidades de fosfato inositol total não diminuíram. A redução superior a 70% somente ocorreu após o sexto dia do processo germinativo.

Sattar, Neelofar e Athar (1990) observaram que os valores de ácido fítico diminuíram com o aumento do período de germinação (24-120 horas) e doses de irradiação (0,05-0,20kGy). A redução máxima de fitato ocorreu na amostra germinada e irradiada a 0,20 kGy. Segundo DeBoland et al. (1975) esta redução provavelmente ocorre devido a degradação química do fitato à inositol fosfatase pela ação dos radicais livres produzidos pela irradiação.

Também tem sido relatado, a habilidade do ácido fítico em formar quelatos com metais di e trivalentes, como Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} , formando compostos insolúveis, que

resultam na redução da biodisponibilidade desses minerais da dieta (DAVIDSSON et al., 2001; HURRELL et al., 2003; BOHN et al., 2008).

O fitato, encontrado em grãos integrais em maiores proporções que em outros alimentos vegetais, tem sido responsabilizado pela ineficiente absorção de minerais como o cálcio, em estudos feitos com animais experimentais e humanos. Heaney et al. (1991) ao estudarem a absorção de ^{45}Ca marcado proveniente de soja com altos (2445mg) e baixos (352mg) teores de fitato em 16 mulheres normais, observaram que quinze dessas mulheres apresentaram menor absorção de cálcio após ingestão de dieta com alto teor de fitato.

Quanto à interação fitato: zinco, Zhou et al. (1992) avaliaram o efeito inibitório do ácido fítico em produtos de soja sobre a biodisponibilidade de zinco em ratos e encontraram correlação linear negativa ($p < 0,05$) entre a percentagem de ácido fítico na farinha de soja e a concentração de zinco na tibia de ratos.

No presente estudo, foi observado que a interação, ácido fítico x disponibilidade de cálcio e ácido fítico x disponibilidade de zinco apresentaram correlação positiva (Tabela 4) com nível de significância de 0,0068 e 0,0006, respectivamente. Isso significa que o processo de germinação apresentou reduções substanciais para todas as variáveis analisadas. Em contrapartida, correlação negativa ($p = 0,0188$) foi observado entre fitato e disponibilidade de ferro.

Ghavidel et al. (2007) confirmaram através de análise estatística correlação significativa ($p < 0,05$) e negativa entre disponibilidade de Fe e teor de ácido fítico em diferentes tipos de leguminosas germinadas por 24 horas. Os mesmos também encontraram aumento na disponibilidade de Ca após germinação como resultado simultâneo na redução de ácido fítico, fibra dietética e taninos. Resultados semelhantes foram reportados por Ghanem; Hussein (1999) e Kamchan et al. (2004).

Embora o interesse nutricional na ação do fitato tenha sido primordialmente enfatizado em seu efeito adverso na absorção de minerais, ocasionado pela formação de quelatos com íons metálicos como o cálcio, ferro e zinco (SILVA et al., 1999) e na formação de ligações com proteínas e amido, ocasionando a redução da digestibilidade desses compostos (DÍAZ-BATALHA et al., 2006), essas interações moleculares tornam-se também benéfico à saúde humana. A interação do ácido fítico

com proteínas e minerais divalentes resulta em baixo índice glicêmico e reduzem a participação do ferro na oxidação do metal mediando efeitos relacionados com o baixo diabetes, na prevenção de doenças cardiovasculares, cálculos renais (hipercalcinúria) e risco de câncer de cólon (JENAB et al., 2002).

O efeito do ácido fítico como fator antinutricional ou composto bioativo não é dependente do ácido fítico ou de sua fonte, mas sim, da diversidade da dieta (DÍAZ-BATALHA et al., 2006). Há fortes evidências de que o ácido fítico pode conduzir à deficiência crônica e severa de minerais em populações que se alimentam basicamente de cereais e leguminosas (LIU et al., 2005; LESTIENNE et al., 2005; KAMCHAN et al., 2002; DUHAN et al., 2002). Weaver & Kannan (2002) defendem que a preocupação deve incluir grupos populacionais mais vulneráveis (crianças e gestantes, por exemplo), nos quais é comum a ingestão inadequada de Ca, Fe, Zn e Mg.

No entanto, o consumo de uma alimentação diversificada em que a ingestão de micronutrientes e sua biodisponibilidade sejam elevadas, o ácido fítico pode afetar positivamente no organismo humano (DÍAZ-BATALHA et al., 2006). Embora os dados sobre fitato e prevenção de câncer e cálculos renais ainda sejam limitados, muitos autores sugerem uma nova visão da ação do ácido fítico na saúde humana.

A atividade inibitória de tripsina foram quantificadas nas amostras e correlacionadas com os processos de germinação e irradiação e estas estão apresentadas na Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Unidade de tripsina inibida (UTI), expressa por mg de amostra encontrada nos grãos submetidos à irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle (média±desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	UTI mg⁻¹ Amostra
0	0	21,23 ± 0,5 ^a
0	48	14,3 ± 0,9 ^b
0	72	13,26 ± 0,3 ^b
0,025	0	18,35 ± 0,3 ^a
0,025	48	13,01 ± 1,3 ^b
0,025	72	14,19 ± 0,2 ^b
0,075	0	18,70 ± 0,4 ^a
0,075	48	14,01 ± 0,9 ^b
0,075	72	14,93 ± 0,7 ^b
0,15	0	18,44 ± 0,2 ^a
0,15	48	14,70 ± 0,8 ^b
0,15	72	14,21 ± 1,0 ^b

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

Tabela 6 - Coeficiente de Correlação de Pearson entre o teor de inibidor de tripsina e as variáveis, germinação e irradiação

Variáveis	Coeficiente de Correlação (R²)
Inibidor de tripsina (após germinação)	-0,9879
Inibidor de tripsina (após irradiação)	-0,3592

É possível verificar na tabela 5 que a amostra controle (grão cru) e as amostras submetidas somente ao processo de irradiação, não diferiram ao nível de 5% de probabilidade no teor de inibidor de tripsina. Além disso, essas amostras apresentaram maior atividade inibitória de tripsina que os grãos submetidos ao processo de germinação. O conteúdo de inibidor de tripsina encontrado para soja controle, está abaixo dos valores observados por Toledo et al. (2007), com variações de 42,60 a 71,64 UTI mg⁻¹ de amostra em cinco cultivares de soja, e similar ao encontrado

por Biscaro (2009) e Miura et al. (2005). A atividade inibitória de tripsina apresentou resposta altamente significativa e inversamente proporcional em relação ao processo de germinação, mostrando que este tratamento foi efetivo para a inativação deste composto antinutricional. Para visualizar esses resultados com maior clareza, pode-se observar, a partir da tabela 6, correlação alta e negativa (-0,97) entre os teores de tripsina e processo germinativo. Reduções de aproximadamente 49% e 60% foram encontradas após 48 e 72 horas de germinação, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Kumar et al. (2006) que observaram redução progressiva na atividade inibitória de tripsina a medida que a germinação prosseguiu a 144 horas para ambas variáveis, genótipos de soja e temperaturas, utilizadas no processo germinativo. A hidratação dos grãos durante 24 horas promoveu redução média de 7,11% e 12,9% nas temperaturas de 25°C e 35°C, respectivamente. Nas 48 e 72 horas do processo germinativo, foi observado diminuição média de 17,5%, 23,6% a 25°C e 30,45%, 40,4% a 35°C, respectivamente. Paucar-Menacho et al. (2010) também observaram reduções nos teores de inibidor de tripsina em soja de 60,62% e 65,35% após 42 e 72 horas a 25°C.

Sangronis e Machado (2007) observaram reduções de 52,5%, 25,6% e 19,2% na atividade inibitória de tripsina para feijão branco, feijão preto e feijão guandu respectivamente, após 5 dias de germinação com ausência de luz e temperatura controlada de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Murugkar et al. (2009) encontraram redução máxima de 69,2% e 74% após 48 e 72 horas de germinação em 4 diferentes variedades de soja. Redução média de 7% foi observado após 4 horas de hidratação dos grãos. A diminuição dos inibidores de tripsina antes da germinação pode estar atribuído a lixiviação das frações solúveis durante processo de hidratação dos grãos. Outra hipótese pode estar associada a atividade proteolítica das enzimas, que normalmente são ativadas durante germinação (CHAUHAN; CHAUHAN, 2007). Além disso, por ser um processo catabólico que utiliza as reservas de substâncias presentes nos cotilédones para o desenvolvimento e crescimento do embrião (SANGRONIS; MACHADO, 2007) há possibilidade dos inibidores de tripsina ser utilizados como fonte de energia durante os primeiros estágios de germinação dos grãos (BURBANO et al., 1999).

Resultados contraditórios em relação à variação nos teores de inibidores de proteases durante este processo foram relatados por Ribeiro, Ida e Oliveira (1999), que observaram aumento na atividade inibitória de tripsina de 22,05% e 17,10% nos cultivares de soja BR-13 e Paraná após 72 horas e Oloyo (2004), que encontrou aumento de 25,3 e 53,2% na atividade inibitória de tripsina após 48 e 72 horas de germinação. Segundo o autor, este aumento pode estar atribuído a síntese de compostos fenólicos durante o processo de germinação.

Quando consideramos o efeito da irradiação sobre a atividade inibitória de tripsina em grão de soja, não pode-se verificar alteração. Estudos utilizando doses de radiação maiores do que as utilizadas no presente estudo, também observaram reduções no conteúdo deste antinutriente. Dixit et al. (2011) ao estudarem o efeito da radiação gama (0,5kGy, 2,0kGy e 5,0 kGy) em três genótipos de soja observaram reduções médias de 17,90%, 37,30% e 56,12% nos teores de inibidor de tripsina com o aumento das doses de radiação utilizadas. Farag (1998) apresentou resultados semelhantes ao estudo anterior, com reduções de 42% na dose de radiação 5,0kGy. El-Morsi et al. (1992) observaram que a irradiação em doses de 1 e 2 kGy, acompanhado de germinação, causou a inativação de 6% a 10% no total de inibidor de tripsina em feijão fava (*Vicia faba* L.), respectivamente.

A grande variação na redução de inibidor de tripsina em soja, quando submetidos à irradiação, pode ser devido aos níveis de umidade ou às diferentes variedades de soja (DIXIT et al., 2011). Hafez et al. (1985) verificaram que a redução da atividade de tripsina inibida foi maior nos grãos irradiados contendo teores de umidade, acima de 15%. Segundo esses autores, a maior umidade dos grãos intensifica o efeito da irradiação gama devido à radiólise. Os radicais hidroxil formados durante o processo de irradiação podem interagir estruturalmente com os inibidores de tripsina promovendo sua redução e/ou inativação. Siddhurajul, Makkar e Beccker (2002) sugeriram que a inativação dos inibidores de tripsina de grãos irradiados pode ser atribuída à destruição dos grupos dissulfeto presentes em seu sítio alvo.

No presente estudo a irradiação foi realizada antes do processo germinativo, portanto a umidade dos grãos, segundo amostra controle, apresentou valor de 9,14%. Isso pode justificar a pouca redução deste fator antinutricional após doses

baixas de radiação gama. Provavelmente, se os grãos fossem irradiados após germinação, com umidade em torno de 60 a 68%, esta redução poderia ser muito maior do que os valores aqui apresentados.

Os resultados obtidos da Unidade Hemaglutinante (UH) dos 12 tratamentos analisados, estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Unidade Hemaglutinante (UH), expressa por mg de amostra encontrada nos grãos submetidos à irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle (média±desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Unidade Hemaglutinant. mg⁻¹ amostra
0	0	0,8 ^a
0	48	0,16 ^c
0	72	0,1 ^d
0,025	0	0,8 ^a
0,025	48	0,4 ^b
0,025	72	0,1 ^d
0,075	0	0,8 ^a
0,075	48	0,2 ^c
0,075	72	0,1 ^d
0,15	0	0,8 ^a
0,15	48	0,2 ^c
0,15	72	0,1 ^d

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

A tabela 7 mostra os resultados obtidos da atividade hemaglutinante determinada em grãos de soja irradiados e germinados. De acordo com os resultados apresentados, extratos de soja controle e somente irradiados apresentaram reações de hemaglutinação positivas até título de aglutinação 1/16, o que era esperado pois doses baixas de radiação não são suficientes para inativar as lectinas. Em contrapartida, extratos de soja germinados mostraram reações para todas as diluições, o que comprova a facilidade de inativacao das lectinas pelo processo germinativo. Os

resultados foram expressos em número de unidades hemaglutinantes (UH), que é calculado a partir do inverso do título de maior aglutinação que ainda apresentou aglutinação visível.

Chen et al. (1977) observaram redução de 84-100% na atividade hemaglutinante de oito variedades de grãos de ervilha e feijão durante 4 dias de germinação. Entretanto, Palmer; McIntosh e Puszati (1973) demonstraram que 8 dias de germinação, não conseguiu remover essa toxicidade.

El-Adawy (2002) verificou redução de 77% na atividade hemaglutinante de grão de bico após tres dias de germinação na ausência de luz. El-Beltagy (1996) relatou a atividade hemaglutinante de sementes de feijões diminui cerca de 84,4% após tres 72 horas de germinação.

Esses dados demonstram que os valores encontrados (Tabela 7) são satisfatórios, porém, a ausência na literatura com este tipo de produto impedem maiores considerações e analogias, no entanto, a comparação foi realizada em virtude de serem todas leguminosas.

Atualmente, os constituintes antinutricionais, entre eles as lectinas, os compostos fenólicos, inibidores de tripsina e ácido fítico podem reduzir a taxa sanguínea de colesterol, triglicérides e glicose, podendo reduzir também os riscos de câncer. Propõe que a interação dos antinutrientes com outros nutrientes da dieta vem demonstrando evidências benéficas inegáveis a ponto de requerer reavaliação do próprio termo “antinutricional” (THOMPSON, 1993).

A digestibilidade *in vitro* das proteínas da soja BRS216 foi avaliada e os resultados obtidos foram correlacionados com as alterações ocorridas com os fatores antinutricionais sob influência dos processos de germinação e irradiação.

Nas tabelas 8 e 9 estão as porcentagens de digestibilidade de proteína e suas correlações com fatores antinutricionais.

Tabela 8 - Digestibilidade de proteína, expressa em porcentagem, encontrada nos grãos submetidos à irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	%Digestibilidade Proteína
0	0	57,12 ± 0,67 ^a
0	48	83,55 ± 1,56 ^b
0	72	83,76 ± 0,35 ^b
0,025	0	64,30 ± 3,23 ^a
0,025	48	83,04 ± 3,19 ^b
0,025	72	84,81 ± 1,99 ^b
0,075	0	63,84 ± 4,32 ^a
0,075	48	84,62 ± 4,66 ^b
0,075	72	84,17 ± 1,25 ^b
0,15	0	60,20 ± 0,69 ^a
0,15	48	84,80 ± 2,68 ^b
0,15	72	84,53 ± 2,00 ^b

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

Tabela 9 - Coeficiente de correlação de Pearson e respectivas probabilidades estatísticas entre digestibilidade de proteína e fatores antinutricionais

X	Y	Coeficiente de Correlação	P
Digestibilidade de Proteína	Ácido fítico	-0,85615	<0,0001
Digestibilidade de Proteína	Taninos condensados	-0,49325	0,002
Digestibilidade de Proteína	Inibidor de tripsina	-0,93111	<0,0001
Digestibilidade de Proteína	Hemaglutinina	-0,94082	<0,0001

Os valores de digestibilidade das amostras em estudos evidenciam variação de 57,11 a 84,80%. Não foi observada diferença estatística quando comparado grão somente irradiado ao grão controle (grão cru). Com relação ao processo germinativo, as médias para ambos os tempos (48 e 72 horas), foram significativamente maiores ($p < 0,05$) que as médias dos grãos, controle e somente irradiados. Correlação alta e positiva (0,94) foi observado entre processo de germinação e digestibilidade protéica *in vitro*. Esse resultado demonstra que houve

melhora na qualidade nutricional da soja, indicando os efeitos positivos da germinação sobre a digestibilidade de proteína da soja estudada. Esse aumento foi de aproximadamente 46, 4% após 48 e 72 horas.

Os resultados de digestibilidade protéica do grão controle estão condizentes com os apresentados por Carvalho et al. (2002) que encontraram valores variando de 47 a 59% em cinco diferentes cultivares de soja. Barcelos et al. (1999) verificaram teor da ordem de 64,6%, valor este similar ao encontrado no presente estudo. Resultados superiores foram relatados por Toledo et al. (2007) com média de 86,7%; Biscaro (2009) valor médio de 93,21% e Felix (2005) com 92,57% da digestibilidade protéica em diferentes cultivares de grãos de soja cru.

O efeito da germinação e irradiação na qualidade das proteínas em leguminosas tem sido relatado por diversos pesquisadores. Ghavidel et al. (2007) observaram efeito altamente significativo e indiretamente proporcional entre germinação (24 horas) e digestibilidade protéica de lentilhas e grão de bico. Também foi observado que as amostras nas quais as cascas eram retiradas após germinação apresentaram em média aumento de 5,9% em sua digestibilidade quando comparado aos grãos germinados, os quais as cascas também eram analisadas. Correlações significativas e negativas foram observadas na interação entre digestibilidade protéica com ácido fítico, taninos e fibra dietética total.

A absorção de água pelo embrião e tecidos de reserva, causa geralmente o intumescimento do grão e, como resultado, o rompimento dos tecidos já amolecidos do tegumento da semente (TOLEDO; MARCOS FILHO, 1977). Essa primeira fase do processo germinativo caracterizado pela rápida absorção de água resulta na retirada da casca para que o grão possa germinar. Dessa forma, no presente estudo, as cascas foram retiradas naturalmente dos grãos como resultado do processo de germinação, não sendo utilizados para as análises propostas. Estando os polifenóis, dentre eles, taninos, localizados em maior quantidade no tegumento do grão (EJIGUI et al., 2005), essa perda de casca pode ter ocasionado a diminuição desses compostos. Pelo rompimento dos tecidos pode causar remoção nos compostos antinutricionais e conseqüentemente o aumento da digestibilidade protéica no grão germinado.

Sant`Ana et al. (2010) ao estudarem o efeito da casca de grãos de soja e feijão sobre a digestibilidade protéica, observaram aumento de 15,16% e 25,98%, respectivamente, após sua retirada. Segundo os autores, a maior diferença encontrada na digestibilidade do feijão pode ser explicada pela alta concentração de taninos na casca do mesmo, o que não acontece em grandes quantidades na soja. Deve-se levar em consideração que as características de cada cultivar são peculiares para cada variedade, como a cor que influencia a presença dos taninos na casca do grão e exerce reconhecido efeito sobre a baixa digestibilidade das proteínas (BEJARANO-LUJÁN; COSTA, 2004) pode variar de uma variedade para outra.

Shimelis et al. (2007) ao estudarem três variedades de feijão também observaram aumento significativo na digestibilidade da proteína após os tratamentos analisados: hidratação, cozimento em autoclave e germinação. Segundo os autores, os resultados da digestibilidade *in vitro* podem estar atribuídos não somente a remoção/redução de fatores antinutricionais, mas também a desintegração estrutural da proteína, em pequenos fragmentos facilitando a ação proteolítica das enzimas digestivas.

Savelkoul et al. (1992) relataram que a germinação de grãos de soja eleva a digestibilidade *in vitro* de suas proteínas, como resultado da diminuição no teor de lectinas, inibidores de tripsina e taninos e/ou a maior susceptibilidade das proteínas à hidrólise enzimática. No presente estudo, reduções nos fatores antinutricionais foram observados após processo de germinação, com correlação altamente negativa entre atividade inibitória de tripsina, atividade hemaglutinante, teor de ácido fítico e taninos com a porcentagem de digestibilidade protéica (Tabela 9). Esse resultado demonstra que com a redução desses fatores antinutricionais conseqüentemente houve melhora na qualidade protéica da soja estudada. Menor correlação, porém estatisticamente significativo foi observado entre taninos condensados e digestibilidade de proteína. Bressani et al. (1982) têm relatado que o efeito dos taninos em leguminosas na digestibilidade protéica das mesmas é relativamente pequeno, pois somente influenciam 7% da digestibilidade verdadeira das proteínas, enquanto outros fatores como inibidor de tripsina pode influenciar 25% da digestibilidade das proteínas.

Estudos têm demonstrado que a digestão de proteínas de leguminosas é limitada devido à formação de complexos fitato-proteína insolúvel e menos sujeitos à digestão proteolítica (RAVINDRAN et al., 1995). Além disso, a remoção parcial de fatores antinutricionais, como ácido fítico e taninos, aumenta a susceptibilidade da proteína ao ataque enzimático com conseqüente melhora na digestibilidade após irradiação (REHMAN; SHAH, 2001). Assim como no presente estudo, Chitra et al. (1995) também encontraram correlação alta e negativa entre porcentagem de digestibilidade de *proteína in vitro* e teor de ácido fítico em grão de bico.

El-Niely (2007) ao estudar o efeito da irradiação sobre os fatores antinutricionais e a digestibilidade protéica de diversas leguminosas, observou que o processo de irradiação nas doses 5, 7,5 e 10kGy reduz significativamente os teores de ácido fítico e taninos com conseqüente aumento em sua digestibilidade.

Como a digestibilidade de proteínas de soja é muito influenciada pela quantidade de inibidores de tripsina (VASCONCELOS et al., 2001), diferenças nos valores de digestibilidade encontrados em diferentes experimentos podem ocorrer devido a variações da quantidade e dos tipos de inibidores presentes em diferentes linhagens de soja (TAN-WILSON et al., 1987; ARMOUR et al., 1998) e os diferentes processamentos empregados para a inativação desses fatores antinutricionais (PERILLA et al., 1997; FARAG, 1998; MONTEIRO et al., 2003).

Nenê, Valul e Streenivasan (1993) também observaram aumento na digestibilidade *in vitro* das proteínas de grãos de feijão irradiado. Os autores atribuem esse aumento à degradação das proteínas em pequenos fragmentos, mais susceptíveis a ação de enzimas ou à parcial destruição dos inibidores de tripsina. Devido às baixas doses utilizadas no presente estudo, nenhum efeito positivo deste tratamento em relação à digestibilidade protéica da soja foi observado.

Desta forma, vários procedimentos e tratamentos têm sido adotados nos grãos como forma de inativação dos fatores antinutricionais e nas mudanças estruturais das proteínas.

A razão para este estudo sobre digestibilidade de grãos de soja é a aparente melhora na utilização da proteína desta oleaginosa quando submetidas aos processos de irradiação e germinação, porém, as informações sobre digestibilidade de

grãos de soja são escassas, ainda que o interesse por este grão venha crescendo devido ao conteúdo de proteína e benefícios à saúde.

Desta forma, o efeito da germinação na redução dos principais antinutricionais e na melhora da digestibilidade protéica, resulta em melhor qualidade nutricional da soja. Estas melhorias geradas pelo processo germinativo pode levar ao aumento do seu consumo e sua versatilidade sendo alternativa para as proteínas animais.

3.4 Conclusão

A partir dos dados encontrados, conclui-se que a germinação tem significativa influência nas concentrações de compostos antinutricionais, fósforo e na digestibilidade protéica de grãos de soja.

O processo de irradiação não promoveu alteração nutricional dos grãos de soja, porém pode ser efetivo na preservação dos mesmos ou apresentar efeito estimulante para o desenvolvimento das sementes.

Referências

ABU-TARBOUSH, H.M. Irradiation Inactivation of some antinutritional factors in plant seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 7, p. 2698-2702, 1998.

AHMED, M.B.; HAMED, R.A.; ALI, M.E.; HASSAN, A.B.; BABIKER, E.E. Proximate composition, antinutritional factors and protein fractions of Guar Gum seeds as influenced by processing treatments. **Pakistan Journal of Nutrition**, New York, v. 5, n. 5, p. 481-484, 2006.

AKESON, WR; STAHPMAN, MA. A pepsina pancreatin digest index of protein quality evaluation. **Journal Nutrition**, Philadelphia, v. 83, n. 3, p. 257-261, 1964.

ARMOUR, J.C.; PERERA, R.L.C.; BUCHAN, W.C.; GRANT, G. Protease inhibitors and lectins in soya beans and effects of aqueous heat-treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 78, n. 2, p. 225-231, 1998.

AYET, C.; BURBANO, C.; CUADRADO, C.; PEDROSA, M.M.; ROBREDO, L.M.; MUZQUIZ, M.; LA CUADRA, C.; CASTAÑO A.; OSAGIE, A. Effect of germination, under different environmental conditions, on saponins, phytic acid and tannins in lentils (*Lens culinaris*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 74, n. 2, p. 273-279, June 1997.

AZEKE, M.A.; ELSANHOTY, R.M.; EGIELEWAA, S.J.; EIGBOGBOA, M.U. The effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of some Nigerian-grown grain legumes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, n. 1, p. 75-79, 2011.

BARCELOS, M.F.P.; TAVARES, D.Q.; MIRANDA, M.A.C.; GERMER, S.P.M. Aspectos químicos e bioquímicos de leguminosas enlatadas em diferentes estádios de maturação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 59-72, jan./abr. 1999.

BAU, H.M.; VILLAUME, C.; NICOLAS, J.P.; MÉJEAN, L. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 73, n. 1, p. 1-9, 1997.

BEJARANO-LUJÁN, D. L. **Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade protéica, na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos**. 2004. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

BISCARO, L.M. **Efeitos da irradiação gama e da cocção sobre aspectos físicos, químicos e sensoriais de cultivares de soja (*Glycine Max*) com e sem lipoxigenase**. 2009, 131p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BOHN, L.; MEYER, A.S.; RASMUSSEN, S.K. Phytate: Impact on environment on human nutrition. A challenge for molecular breeding. **Journal of Zhejiang University: Science B**, Beijing, v. 9, n. 3, p. 165-191, 2008.

BROWN, K. Does a little radiation do you good? **Atom**, London, v. 378, p. 26-27, 1988.

BRESSANI, R.; ELÍAS, L.G.; BRAHAM, J.E. Reduction of digestibility of legume proteins by tannins. **Journal of Plant Foods**, London, v. 4, n. 1, p. 43-55, 1982.

BRIGIDE, P. **Disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiados**. 2002. 58 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

BURBANO, C.; MUZQUIZ, M.; AYET, G.; CUADRADO, C.; PEDROSA, M. Evaluation of antinutritional factors of selected varieties of *Phaseolus vulgaris*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 79, n. 11, p. 1468–1472, 1999.

BYUN, M.W.; KANG, IL-JUN; MORI, T. Effect of g-irradiation on the water soluble components of soybeans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 47, n. 1, p. 155-160, 1996.

CANNIATTI-BRAZACA, S.G. **Influência das modificações genéticas sobre as características físicas, químicas e nutricionais do feijão guandu (*Cajanus cajan*, L.)**. 1994. 167 p. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

CARVALHO, M.R.B.; KIRSCHNIK, P.G.; PAIVA, K.C.; AIURA, F.S. Avaliação da atividade dos inibidores de tripsina após digestão enzimática em grãos de soja tratados termicamente. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 267-272, set./dez. 2002.

CHAUHAN, O.P.; CHAUHAN, G.S. Development of anti-nutrients free soy beverage using germinated soybean. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 44, n. 1, p. 62-65, 2007.

CHEN, L.H.; THACKER, R.R.; PAN, S.H. Effect of germination on hemagglutinating activity of pea and bean seeds. **Journal of Food Science**, Chicago v. 42, n. 6, p. 1666-1670, 1977.

CHIARELLO, M.D.; GUERROUÉ, J.L.; CHAGAS, C.M.N.; FRNACO, O.L.; BIANCHINI, E.; JOAO, M.J. Influence of heat treatment and grain germination on the isoflavone profile of soy Milk. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 30, n. 2, p. 234-247, 2006.

CHITRA, U.; VIMALA, V.; SINGH, U.; GEERVANI, P. Variability in phytic acid content and protein digestibility of grain legumes. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 47, n. 2, p. 163–172, 1995.

CHOPRA, S.; SANKHALA, A. Effect of soaking and sprouting on tannin, phytate and in vitro iron in underutilized legumes – horse gram (*Dolichos biflorus*) and moth bean (*Phaseolus aconitifolius*). **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 41, p. 547–550, 2004.

DAVIDSSON, L.; DIMITRIOU, T.; WALCZYK, T.; HURRELL, R.F. Iron absorption from experimental infant formulas based on pea (*Pisum sativum*) –protein isolate: the effect of phytic acid and ascorbic acid. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 85, n. 1, p. 59-63, 2001.

DE BOLAND, A.R.; GARNER, G.B.; O'DELL, B.L. Identification and properties of phytate in cereal grains and oilseed products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 23, n. 6, p. 1186-1189, 1975.

DESHPANDE, S.S. **Investigations on dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.): microstructure, processing, and antinutrients**. 1985. Thesis (PhD) - University of Illinois, Urbana-Champaign, 1985.

DÍAZ-BATALHA, L.; WIDHOLM, J.M.; FAHEY, G.C. JR.; CASTAÑO-TOSTADO, E.; PAREDES-LÓPEZ, O. Chemical components with health implications in wild and

cultivated mexican common beans seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 6, p. 2045-2052, 2006.

DIXIT, A.K.; KUMAR, V.; RANI, A.; MANJAVA, J.G.; BHATNAGAR, D. Effect of gamma irradiation on lipoxygenases, trypsin inhibitor, raffinose family oligosaccharides and nutritional factors of different seed coat colored soybean (*Glycine max* L.). **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 80, n. 4, p. 597–603, 2011.

DOMÍNGUEZ, B.M.; GÓMEZ, M.V.I.; LEÓN, F.R. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analítica. **ALAN**, Caracas, v. 52, n. 3, p. 219-231, set. 2002.

DUHAN, A.D.; KHETARPAUL, N.; BISHNOI, S. Content of phytic acid and HCL extractability of calcium, phosphorus and iron affected by various domestic processing and cooking methods. **Food Chemistry**, London, v. 78, n. 1, p. 9-14, 2002.

EJIGUI, J.; SAVOIE, L.; MARTIN, J. Influence of traditional processing methods on the nutritional composition and antinutritional factors of red peanuts (*Arachis hypogaea*) and Small Red Kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Biological Sciences**, Australian, v. 5, n. 5, p. 597-605, 2005.

EL-ADAWY, T.A. Nutritional composition factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 83-97, 2002.

EL-BELTAGY, A. **Effect of home traditional methods on quality aspects of some legumes**. 1996. 200p. Thesis (MS) - Faculty of Agriculture, Menofiya University, Shibin El-Kom, Egypt, 1996.

EL-MORSI, E.A.; ABDEL-SALAM, H.S.; ISMAIL, H.A.; ABOUL-FETOUH, S.A.; FAWZAY, A.M. Effect of gamma irradiation on trypsin inhibitor and subunit structure of proteins in field bean (*Vicia faba* L.) seeds during germination. **Minia Journal of Agricultural Research and Development**, El-Minia, v. 14, p. 849–871, 1992.

EL-NIELY, H.F.G. Effect of radiation processing on antinutrients, in vitro protein digestibility and protein efficiency ratio bioassay of legume seeds. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, n. 6, p. 1050-1057, 2007.

EMBRAPA-SOJA. **A soja**, 2011. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=294&cod_pai=17>. Acesso em: 15 jul. 2011.

FARAG, M.D.E.H. The nutritive value for chicks of full-fat soybeans irradiated at up to 60 kGy. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 73, n. 3/4, p. 319–328, 1998.

FELIX, M.A. **Análise química e sensorial dos grãos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) tostados por diferentes tratamentos**. 2005. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

FERNANDEZ-OROZCO, R.; FRIAS, J.; ZIELINSKI, H.; PISKULA, M.K.; KOZLOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C. Kinetic of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. *emerald*, *Glycine max* cv. *jutro* and *Glycine max* cv. *merit*. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 111, n. 3, p. 622-630, 2008.

FRIAS, J.; MIRANDA, M.L.; DOBLADO, R.; VIDAL-VALVERDE, C. Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 211-220, 2005.

GHANEM, K.Z.; HUSSEIN, L. Calcium bioavailability from selected Egyptian foods with emphasis on the impact of germination and fermentation. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, New York, v. 50, n. 5, p. 351–356, 1999.

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 7, p. 1292–1299, 2007.

GRYNSPAN, F.; CHERYAN, M. Phytate-calcium interaction with soy protein. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 66, n. 1, p. 93-97, 1989.

HAFEZ, Y.S.; MOHAMED, A.I.; SINGH, G.; HEWEDY, F.M. Effect of gamma irradiation on protein and fatty acids of soybean. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 5, p. 1271-1274, 1985.

HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 26, n. 4, p. 809-812, 1978.

HAHM, T.S.; PARK, S.J.; LO, M. Effects of germination on chemical composition and functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. **Bioresource Technology**, Essex, v. 100, n. 4, p.1643–1647, 2009.

HEANEY, R.P.; WEAVER, C.M.; FITZSIMMONS, M.L. Soybean phytate content: effect on calcium absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 53, n. 3/4, p. 745-747, 1991.

HURREL, R. F.; REDDY, M. B.; JUILLERAT, M. A.; COOK, J.D. Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 77, n. 5, p. 1213-1219, 2003.

JENAB M.; THOMPSON, L.U. Role of phytic acid in cancer and other diseases. In: REDDY, N.R.; SATHE, S.K. (Ed.). **Food phytates**. Boca Raton: CRC Press, 2002. p. 225-248.

KAKADE, M.L.; SIMONS, N.; LIENER, I.E. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the anti tryptic activity of soybean samples. **Cereal Chemistry**, London, v. 46, p. 518-526, 1969.

KAMCHAN, A.; PUWASTIEN, P.; SIRICHAKWAL, P.P.; KONGKACHUICHAI, R. In vitro calcium bioavailability of vegetables, legumes and seeds. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 17, n. 3, p. 311-320, 2002.

_____. In vitro calcium bioavailability of vegetables, legumes and seeds. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 17, n. 3/4, p. 311–320, 2004.

KHATTAK, A.B.; ZEB, A.; BIBI, N.; KHALIL, S.A. Influence of germination techniques on phytic acid and polyphenols content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 3, p. 1074-1079, 2007.

KUMAR, V.; RANI, A.; PANDEY, V.; CHAUHAN, G.S. Changes in lipooxygenase isozymes and trypsin inhibitor activity in soybean during germination at different temperatures. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 3, p. 563-568, 2006.

KUMAR, V.; SINHA, A.K.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: a review. **Food Chemistry**, London, v. 120, n. 4, p. 945-959, 2010.

KWAK, C.S.; LEE, M.S.; PARK, S.C. Higher antioxidant properties of chungkookjang, a fermented soybean paste, may be due to increased aglycone and malonylaglycone isoflavone during fermentation. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 27, p. 719-727, 2007.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 171p.

LESTIENNE, I.; ICARD-VERNIERE, C.; MOUQUET, C.; PICQ, C.; TRECHÉ, S. Effects of soaking whole cereal and legumes seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chemistry**, London, v. 89, n. 3, p. 421–425, 2005.

LIENER, I.E. The photometric determination of hemagglutinating activity in soybean extracts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 54, n. 1, p. 223-227, 1955.

_____. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 1, n. 34, p. 31-67, 1994.

LIU, Z.; CHENG, F.; ZHANG, G. Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content. **Food Chemistry**, London, v.89, n. 1, p. 49-52, 2005.

LÓPEZ-AMORÓS, M.L.; HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I. Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 4, p. 277-283, 2006.

MANCINI FILHO, J. **Efeito das fito-hemaglutininas de feijões (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre a mucosa intestinal**. 1982. 74 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 1982.

MANDAL, N.C.; BISWAS, B.B. Metabolism of inositol phosphates. **Plant Physiology**, Washington, v. 45, p. 4-7, 1970.

MARTINEZ, A.P.C.; MARTINEZ, P.C.C.; SOUZA, M.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Chemical change in soybean grains with germination. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 23-30, jan./mar. 2011.

MECHI, R.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 109-114, jan./mar. 2005.

MIURA, E.M.Y.; SILVA, R.S.S.F.; MIZUBUTIS, I.Y.; IDA, E.I. Cinética de Inativação de inibidores de tripsina e de insolubilização de proteína de diferentes cultivares de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 5, p. 1659-1665, 2005.

MONTEIRO, M.R.P.; MOREIRA, M.A.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V. Evaluation of protein digestibility in soybean genotypes with and without the Kunitz trypsin inhibitor and lipooxygenase. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 1, p. 99-107, 2003.

MORAIS, A.A.C.; SILVA, A.L. Valor nutritivo e funcional da soja. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 306-315, 2000.

MUBARAK, A.E. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. **Food Chemistry**, London, v. 89, n.4, p. 489-495, 2005.

MURUGKAR, D.A.; JHAK, K. Effect of sprouting on nutritional and functional characteristics of soybean. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 46, n. 3, p. 240-243, 2009.

NÉNÉ, S.P.; VALUL, U.K.; STREENIVASAN, A. Effect of gamma irradiation on flatulence-causing oligosaccharides in green gram (*Phaseolus vulgaris*) starch. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n. 2, p. 389-394, 1993.

OLOYO, R.A. Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. **Food Chemistry**, London, v. 85, n. 4, p. 497-502, 2004.

PALMER, R.; MCINTOSH, A.; PUSZATI, A. The nutritional evaluation of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*): the effect on nutritional value of seed germination and changes in trypsin inhibitor content. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 24, n. 8, p. 937-944, 1973.

PAUCAR MENACHO, L.M. **Influencia do processo de germinação dos grãos de suas cultivares de soja BRS 133 e BRS 258 nos compostos bioativos da farinha integral de soja germinada**. 2009. 179 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2009.

PAUCAR-MENACHO, L.M.; BERHOW, M.A.; MANDARINO, J.M.G. CHANG, Y.K.; MEJIA, E.G. Effect of time and temperature on bioactive compounds in germinated Brazilian soybean cultivar BRS 258. **Food Research International**, Braking, v. 43, n. 7, p. 1856-1865, 2010.

PERILLA, N.S.; CRUZ, M.P.; BELALCAZAR, F.; DIAZ, G.J. Effect of temperature of wet extrusion on the nutritional value of full-fat soybeans for broiler chickens. **British Poultry Science**, London, v. 38, n. 4, p. 412-416, 1997.

PRAZERES, J.N.; FERREIRA, C.V.; AOYAMA, H. Acid phosphatase activities during the germination of *Glycine max* seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 42, n. 1, p. 15–20, 2004.

RAVINDRAN, V.; BRYDEN, W.L.; KORNEGAY, E.T. Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. **Poultry and Avian Biology Reviews**, Northwood, v. 6, n. 2, p. 125-143, 1995.

REDDY, N.R. Occurrence, distribution, content and dietary intake of phytate. In: REDDY, N.R.; SATHE, S.K (Ed.). **Food phytates**, Boca Raton: CRC Press, 2002. p. 25-51.

REDDY, N.R.; PIERSON, M.D.; SATHE, S.K. Dry bean tannins: a review of nutritional implications. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 62, n. 3, p. 541-549, 1985.

REDDY, N.R.; SATHE, S.K.; SALUNKHE, D.K. Phytates in legumes and cereals. **Advances in Food Research**, San Diego, v. 28, p. 1-92, 1982.

REHMAN, Z.U., SHAH, W.H. Tannin contents and protein digestibility of black grams (*Vigna mungo*) after soaking and cooking. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 56, n. 3, p. 265–273, 2001.

RIBEIRO, M.L.L.; IDA, E.I.; OLIVEIRA, M.C.N. Efeito da germinação de soja CV. BR-13 e Paraná sobre ácido fítico, fósforo total e inibidores de tripsina. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n.1, p. 31-35, jan. 1999.

SANDBERG, A.S.; BRUNE, M. CARLSSON, N.G. HALBERG, L.; SKOGLUND, E.; ROSSANDER-HULTHEN, L. Inositol phosphates with different number of phosphate groups influence iron absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 70, n. 4, p. 240-246, 1999.

SANGRONIS, E.; MACHADO, C.J. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. **LWT Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 1, p. 116-120, 2007.

SANT'ANA, R.C.O.; MENDES, F.Q.; PIRES, C.V.; VIEIRA, P.A.F.; OLIVEIRA, M.G.A. Influencia da retirada da casca na digestibilidade protéica de feijão vermelho e de soja utilizando o método in vitro. **Alimentos Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 4, p. 547-554, out./dez. 2010.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 56 p.

SATTAR, A.; NEELOFAR, K.; AKHTAR, M.A. Irradiation and germination effects on phytate, protein and amino acids of soybean **Plants Food for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 40, n. 3, p. 185-194, 1990.

SAVELKOUL, F.H.M.G.; BOER, H.; TAMMINGA, S.; SCHEPERS, A.J.; ELBURG, L. In vitro enzymatic hydrolysis of protein and protein pattern change of soya and faba beans during germination. **Plants Foods for Human Nutrition**, Amsterdam, v. 42, n. 3, p. 275-284, 1992.

SHIMELIS, E.A.; RAKSHIT, S.K. Effect of processing on antinutrients and in vitro protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa. **Food Chemistry**, London, v. 103, n. 1, p. 161-172, 2007.

SIDDHURAJU, P.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The effect of ionising radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, Oxford, v. 78, n. 2, p. 187-205, 2002.

SILVA, M.R; SILVA, M.A.A.P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 5-19, jan./abr. 1999.

SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE OS BENEFÍCIOS DA SOJA PARA A SAÚDE HUMANA, 1., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: EMBRAPA Soja, 2001.

SOUZA, A.S. **Efeitos da irradiação na composição e propriedades funcionais da soja**. 2006. 120 p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc Software**: usage and referente. 2nd ed. Cary, 1998. 2 v.

TAJODDIN, M.D.; SHINDE, M.; LALITHA, J. In vivo reduction the phytic acid content of mung bean (*Phaseolus aureus* L) cultivars during germination. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, Madrid, v. 10, n. 1, p. 127-132, 2011.

TAN-WILSON, A.L.; CHEN, J.C.; DUGGAN, M.C.; CHAPMAN, C.; OBACH, R.S.; WILSON, K.A. Soybean Bowman-Birk trypsin isoinhibitors: classification and report of a glycine-rich trypsin inhibitor class. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 35, n. 6, p. 974–981, 1987.

THOMPSON, L.U. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. **Food Research International**, Essex, v. 26, n. 2, p. 131-149, 1993.

TOLEDO, T.C.F. **Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ⁶⁰Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais de diferentes cultivares de grãos de soja *Glycine Max* (L.)**. 2006. 114 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

TOLEDO, T.C.F.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. PIEDADE, S.M.S. Effects of gamma radiation on total phenolics, trypsin and tannins inhibitors in soybean grains. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 1653–1656, 2007.

TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J. **Manual das sementes**: tecnologia da produção. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224 p.

VARYAR, P.S.; LIMAYE, A.; SHARMA, A. Radiation –Induced enhancement of antioxidant contents of soybean (*Glycine max* Merrill). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 11, p. 3385-3388, 2004.

VASCONCELOS, I.M.; MAIA, A.A.B.; SIEBRA, E.A.; OLIVEIRA, J.T.A.; CARVALHOS, A.F.F.U.; MELO, V.M.M.; CARLINI, C.R.; CASTELAR, L.L.M. Nutritional study of two Brazilian soybean (*Glycine max*) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. **The Journal of Nutritional biochemistry**, Amsterdam, v. 12, n. 1, p. 55-62, Jan. 2001.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J.; SIERRA, I.; BLAZQUEZ, I.; LAMBEIN, F.; KUO, Y.H. New functional legume foods by germination: effect on nutritive value of beans, lentils

and peas. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 215, n. 6, p. 472-477, 2002.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; GREINER, R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 57, n. 3/6, p. 289-293, 2000.

WEAVER, C.M.; KANNAN, S. Phytate and mineral bioavailability. In: REDDY, N.R.; SATHE, S.K. **Food phytates**. Boca Raton: CRC Press, 2002. p. 211-223.

YAMADA, L.T.P.; BARCELOS, M.F.P.; SOUSA, R.V.; LIMA, A.L. Composição química e conteúdo de ferro solúvel em soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 406-413, mar./abr. 2003.

ZHOU, J.R., FORDYCE, E. J., RABOY, V., DICKINSON, D.B., WONG, M.S., BURNS, R.A., ERDMAN, J.W. Reduction of phytic acid in soybean products improves zinc bioavailability in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 122, n. 12, p. 2466-2473, 1992.

4 VITAMINAS DO COMPLEXO B, TEOR E DISPONIBILIDADE DE MINERAIS EM GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* Merrill) CULTIVAR BRS216 GERMINADOS E IRRADIADOS

Resumo

O grão de soja germinado é nutricionalmente superior aos seus respectivos grãos, apresenta, altos níveis de nutrientes e menores quantidades de antinutrientes. O presente trabalho teve como proposta determinar os teores de vitaminas do complexo B e minerais bem como medir a disponibilidade de Ca, Mg, Zn e Fe em soja irradiadas nas doses de 0,025kGy; 0,075kGy e 0,150kGy e posteriormente germinadas por 48 e 72 horas. A influência da germinação e sua interação com a maioria dos minerais analisados em soja foram significativas. Maiores teores de vitaminas do complexo B (B₁, B₂ e B₆) foram observados após 48 e 72 horas de germinação, não havendo influência do processo de irradiação no conteúdo desses micronutrientes. A disponibilidade dos minerais Ca, Fe, Zn e Mg não apresentando alterações satisfatórias com o processo de germinação, resultados estes contraditórios à literatura. Esse comportamento ocorreu, provavelmente, devido ao curto tempo de germinação utilizado no presente estudo. Para a maioria dos minerais analisados, seus teores elevaram após processo de germinação com exceção somente dos minerais cobre e ferro. Assim, conclui-se que a germinação promoveu alterações satisfatórias na composição do grão, oferecendo melhor qualidade nutricional principalmente em termos vitamínicos para a saúde humana.

Palavras-chave: Vitaminas B₁, B₂ e B₆; Processo de germinação; Processo de irradiação; Análise mineral.

Abstract

The germinated bean is nutritionally superior to the control grain, as it presents high levels of nutrients and lower amounts of anti-nutrients. This study was designed to determine the levels of vitamins B and minerals as well as to measure the availability of Ca, Mg, Zn and Fe in irradiated soybean at doses of 0.025 kGy, 0.075 kGy and 0.150 kGy and then, germinated for 48 and 72 hours. The influence of germination and its interaction with most of the minerals analyzed in soybeans were significant. Higher contents of vitamins B (B₁, B₂ and B₆) were observed after 48 and 72 hours of germination, without any influence of the irradiation process on the content of these micronutrients. The availability of Ca, Fe, Zn and Mg did not show satisfactory changes to the process of germination, contradicting results in the literature. This behavior was probably due to short germination time used in this study. The contents of most of the minerals analyzed increased after the germination process with the exception of copper and iron minerals. Therefore, it is concluded that satisfactory germination promoted changes in the soybean composition, providing better nutritional quality, mainly in terms of vitamins, for human health.

Keywords: B₁, B₂ e B₆ vitamins; Germination process; Irradiation process; Minerals analysis.

4.1 Introdução

As leguminosas são fontes alimentares de importância para diversas culturas ao redor do mundo e o alimento básico principal dos estratos sociais economicamente menos favorecidos, que tem limitação em obter proteínas a partir de carnes, porque representam uma das principais fontes de energia e proteína na dieta (MESSINA, 1999).

Diversos estudos caracterizam as leguminosas como sendo ricas em proteínas, fibras, compostos bioativos (como, isoflavonóides), minerais (potássio, fósforo, sódio, ferro, magnésio, zinco e cálcio) e vitaminas do grupo B, como Tiamina (B₁), Riboflavina (B₂) e piridoxal, piridoxamina e piridoxina (B₆) (BEEBE et al., 2000; KOEHLER et al., 1987; SATHE et al., 1984; MEINERS et al., 1976a; MEINERS et al., 1976b; MESSINA, 1999) que são essenciais à nutrição humana, pois atuam no controle e diminuição de risco de doenças crônicas não transmissíveis (ACHOURI et al., 2005). Embora pertençam à mesma família botânica, *Leguminosae*, a concentração desses nutrientes está sujeita a variações de acordo com a espécie (GRUSAK, 2002). Por outro lado, apresenta compostos com características antinutricionais, como ácido fítico, inibidores de tripsina, lectinas, polifenóis e oligossacarídeos que podem interferir negativamente na biodisponibilidade de minerais (CARBONARO, 1997; ESTEVES; MONTEIRO, 2001; MANDARINO, 2008; URBANO et al., 2003)

A soja (*Glycine Max* Merril), em particular, é uma leguminosa de grande interesse na economia mundial e de importante significado na alimentação humana, em decorrência de suas propriedades nutricionais e funcionais.

Os efeitos benéficos dessa leguminosa na saúde têm levado os consumidores à procura por produtos de soja na tentativa de incluir alimentos saudáveis, com intuito de promover a saúde (MONTEIRO; MARTINO, 2006).

De acordo com seus diferentes usos, os cultivares de soja podem ser classificados em dois grupos: soja tipo grão e soja tipo ingrediente (LIU, 1999). Existe grande diversidade de cultivares de soja (*Glycine Max*), porém é escassa a informação

sobre a composição nutricional e mineral dessas separadamente nas tabelas de composição dos alimentos disponíveis. Essa falta de informação detalhada dificulta o levantamento sobre ingestão de nutrientes nos inquéritos alimentares ou a recomendação de consumo de um determinado cultivar cuja concentração nutricional seja superior. Além disso, para se considerar um alimento como sendo fonte de algum nutriente é preciso avaliar a quantidade do nutriente presente na porção alimentar usualmente consumida e o fator biodisponibilidade (COZZOLINO, 1997).

O termo biodisponibilidade ou disponibilidade biológica tem sido extensamente usado na área de alimentos e nutrição. Sua origem conceitual, entretanto, provém da farmacologia experimental, visando estabelecer a proporção em que determinada droga intacta alcança a circulação e a razão na qual isso ocorre (COZZOLINO, 1997). Define-se, assim biodisponibilidade como a proporção do nutriente nos alimentos que é efetivamente absorvida e utilizada (BARRUETO-GONZÁLEZ, 2007). Tal conceito engloba o processo de assimilação, transporte e conversão de um nutriente para suas formas biologicamente ativas (GERMANO; CANNIATTI-BRAZACA, 2002).

Para Van Dokkum (1992) diversos fatores podem favorecer ou não a utilização destes nutrientes pelo organismo, como: a forma química do mineral e como este é submetido aos processos digestivos e metabólicos no organismo; a presença de complexantes que podem interagir favorável ou desfavoravelmente na disponibilidade do nutriente em questão; o status individual de minerais e a demanda metabólica. Além disso, Sandberg (2002) afirma que a presença de ácido fítico, polifenóis e fibra alimentar nas leguminosas exercem efeitos antagônicos na absorção de alguns minerais como cálcio, ferro e zinco.

Da mesma forma, a ciência da nutrição tem atentado para pesquisar a melhor forma de processamento da soja visando aumentar o aproveitamento de nutrientes, compostos bioativos e inativar fatores antinutricionais (CARVALHO, 2009). Estes métodos de processamento de alimentos, que podem ser realizados tanto em escala industrial quanto caseira, parecem ser promissores para combater algumas deficiências nutricionais (GIBSON et al., 2000). Estudos demonstram que o tratamento térmico, a germinação, a fermentação, e a hidrólise química ou enzimática, promovem

alterações nos compostos químicos, alterando os isômeros das isoflavonas, hidrolisam as proteínas, reduzem os fatores antinutricionais (MOLTENI et al., 1995; ZHU et al., 2005) e conseqüentemente aumentam a biodisponibilidade dos minerais. Nestares et al. (2003) sugerem que os procedimentos de preparo doméstico podem influenciar, tanto de maneira positiva como negativa, a taxa de absorção de cálcio, fósforo e magnésio de feijões e também em grão-de-bico, previamente macerados e cozidos.

Desta forma, o processo de germinação tem sido identificado como uma tecnologia simples e eficaz para melhorar a qualidade nutricional da soja (BAU et al., 1997). Este processo geralmente é precedido pela hidratação dos grãos em água. Alguns dos materiais de reserva das sementes são degradados e utilizados, em parte, para a respiração e, em parte, para a síntese de novos constituintes celulares para o desenvolvimento do embrião durante germinação, provocando alterações importantes nas características bioquímica, nutricional e sensorial dos grãos (JYOTI; REDDY, 1981; SUBBULAKSHMI et al., 1976; VIDAL-VALVERDE et al., 1992).

Atualmente, verifica-se preocupação com a qualidade nutricional e sensorial do alimento, principalmente quanto aos teores de proteínas, vitaminas, minerais, redução das substâncias antinutricionais, aspecto físico de dureza, tempo de cocção, além da aparência e outros fatores que possam afetar as características do alimento. Por outro lado, a composição nutricional de um alimento não reflete necessariamente a verdadeira utilização destes nutrientes pelo organismo. Fatores extrínsecos e intrínsecos devem ser considerados como possíveis interferentes (COELHO; DOMENE, 2004).

Com esta finalidade, o presente trabalho teve como proposta o estudo dos teores de vitaminas do complexo B e minerais bem como a disponibilidade de Ca, Mg, Zn e Fe em soja germinadas a 48 e 72 horas e irradiadas nas doses de 0,025kGy; 0,075kGy e 0,150kGy.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Matéria-prima

Para a realização do experimento utilizou-se soja cultivar BRS216, doados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA- SOJA), Londrina-PR.

4.2.2 Irradiação

Os grãos de soja foram irradiados no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), com raios gama, provenientes do Cobalto60 em irradiador comercial para alimentos, do tipo Gammacell, nas doses de 0; 0,025; 0,075 e 0,150kGy, com taxa de dose de $0,456\text{kGy h}^{-1}$ e posteriormente foram germinados. A quantidade da dose absorvida durante a irradiação foi medida através de dosímetro polimetilmetacrilato (PMMA – Red perspex). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, e a dose de radiação absorvida foi relatada quantitativamente no intervalo de 530 nm. Para analisar os grãos somente irradiados, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* com a finalidade de obtenção da farinha. Essa farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

4.2.3 Germinação

Para a higienização os grãos de soja sofreram imersão em 300 mL de hipoclorito de sódio a 1% (v/v) por 20 min. Lavagem com água deionizada, hidratação dos grãos em 300 mL de água deionizada por 8h à temperatura ambiente, ao final foi retirado o excesso de água. Após a hidratação os grãos foram mantidos em laboratório com temperatura e luminosidade ambiente. A germinação ocorreu durante os meses de novembro de 2009 até maio de 2010 com a temperatura variando na faixa entre 30°C a 18,5°C (temperatura média de 24,2°C) e a umidade relativa do ar média de 77,3%. A cada 8h as sementes foram umedecidas e agitadas levemente. As amostras foram recolhidas para análises após 48h e 72h de germinação e congeladas a -80°C durante um dia, com a finalidade de parar a atividade metabólica e posteriormente foram liofilizadas e trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* para a realização das análises. Após o preparo até ser utilizada, a farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

4.2.4 Tratamentos

Após os processos de irradiação e germinação, foram realizados os tratamentos: T1- Tratamento 1: Grão controle (não foi realizado nenhum processo); T2- Tratamento 2: Grão germinado a 48 horas; T3- Tratamento 3: Grão germinado a 72 horas; T4- Tratamento 4: Grão irradiado a 0,025kGy; T5- Tratamento 5: Grão irradiado a 0,075 kGy; T6- Tratamento 6: Grão irradiado a 0,150 kGy; T7- Tratamento 7: Grão irradiado a 0,025 kGy e germinado a 48 horas; T8- Tratamento 8- Grão irradiado a 0,075 kGy e germinado a 48 horas; T9- Tratamento 9: Grão irradiado a 0,150 kGy e germinado a 48 horas; T10- Tratamento 10: Grão irradiado a 0,025 kGy e germinado a 72 horas; T11- Tratamento 11: Grão irradiado a 0,075 kGy e germinado a 72 horas; T12- Tratamento 12: Grão irradiado a 0,150 kGy e germinado a 72 horas.,

4.2.5 Teor de Minerais

Os minerais foram determinados pelo método descrito por Sarruge & Haag (1974), sendo utilizada a digestão com ácido nítrico a 50° por 10 a 15 minutos, a 100° até digerir todo o material e atingir a temperatura de 150°C. Após resfriamento e diluição do material com água desmineralizada procedeu-se a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica modelo PERKIM-ELMER 360. Utilizaram-se os seguintes comprimentos de ondas: 422,7 nm para cálcio; 324 nm para cobre; 248,3 nm para o ferro, 285,2 nm para magnésio; 279,5 nm para manganês e 213,9 nm para zinco. O potássio e o fósforo foram determinados em espectrofotômetro colorimétrico com comprimento de onda de 420 nm.

4.2.6 Ácido Fítico

O teor total de ácido fítico nas amostras foi determinado segundo o método descrito por Grynspar e Cheryan (1989), onde as amostras são digeridas em 10 mL de solução de HCl 0,65 N 1 h com agitação casual, posteriormente centrifugada a 300 rpm por 10 min. Na seqüência, foi pipetado 2 mL do sobrenadante que foi diluído em água destilada em balão volumétrico de 25 mL. Pipetou-se 10 mL da solução do balão para bureta previamente preparada fazendo com que a solução eluísse através de resina a velocidade de 1 gota por segundo, posteriormente o eluído foi descartado. Em seguida foi pipetado 15 mL de solução de NaCl 0,1 M para a bureta, sendo o eluído

descartado também. Pipetou-se 15 mL de solução de NaCl 0,7 M recolhendo o eluído em Becker limpo onde foi pipetado 5 mL em tubos de ensaio adicionados de 1 mL de reagente de Wade com agitação vigorosa. Após 15 minutos foi realizada a leitura da absorbância a 500 nm em espectrofotômetro Beckman modelo DU 640, obtendo-se assim o teor de ácido fítico a partir da construção de curva padrão. Os resultados foram expressos em mg de ácido fítico g⁻¹ de amostra.

4.2.7 Disponibilidade de Ferro, Cálcio, Magnésio e Zinco

A análise de diálise de ferro foi realizada segundo o método proposto por Whittaker et al. (1989). As amostras foram homogeneizadas em água deionizada e adicionadas de HCl 6 N até que o pH atingisse valor 2, em seguida, adicionou HCl 0,01 N até completar o volume de 100mL. A digestão foi realizada adicionando-se HCl-Pepsina com incubação a 37°C e agitação a 200rpm por 2 horas. A acidez titulável foi realizada pela adição da solução de pancreatina-bile seguida de titulação com KOH 0,5 N até pH 7,5. A partir do volume de KOH titulável, foi feita a diluição de mesmo volume de NaHCO₃ 0,5N.

A diálise foi realizada sendo colocado o digerido em “sacos de diálise” acrescentando-se três vezes o volume de NaHCO₃ 0,5N de modo que o digerido ficasse submerso. Os frascos foram cobertos e agitados durante 30min a 37°C. Foi adicionada suspensão de bile pancreatina, com incubação por mais 2 horas. O conteúdo dialisável foi completado a 25 mL, com água deionizada. Em seguida, foram pipetados 5 mL do dialisado para o tubo de centrifuga com adição de solução precipitante de proteínas. Adicionou-se a solução cromogênica ao sobrenadante. Após 10 minutos, foi realizada a leitura a 533 nm em espectrofotômetro Beckman modelo DU 640. A quantidade de ferro dialisado foi obtida por meio de curva padrão previamente preparada. Os resultados foram expressos em porcentagem.

4.2.8 Vitaminas B₁, B₂ e B₆

A extração das vitaminas B₁ B₂ e B₆ foi realizada em uma mesma etapa, conforme descrito por Moreschi (2006), porém com algumas modificações. As amostras que sofreram o processo de germinação foram primeiramente liofilizadas e o conteúdo

de matéria seca foi determinado gravimetricamente por secagem a 105°C. Em seguida, dissolveram-se 5 gramas de amostra em 50 mL de ácido clorídrico 0,1N, através de autoclave (30 min/121°C). Após a hidrólise ácida o pH foi ajustado em 4,6 com acetato de sódio 2,5M. Posteriormente, foi adicionado 1 mL da solução de diástase (20g da enzima em 40 mL de água mili-Q), 1mL da solução diástase (20g da enzima em 40 mL de água milliq), 1 mL da solução de β -glucosidase (2,9 mg da enzima em 38 mL de água milliq) e 1mL da solução de fosfatase (6,1 mg da enzima em 36 mL de água milliq), ao extrato e levou ao banho-maria durante 18 horas a 42°C. Logo após, o extrato foi filtrado através de papel filtro e o filtrado foi transferido para balões de 50 mL o qual foi completado o volume com água milliq quando necessário.

O método de análise cromatográfico da vitamina B₁ foi baseado no procedimento de Moreschi (2006). As condições cromatográficas utilizadas foram: fase móvel: tampão fosfato pH 7,2 e dimetilformamida (85:15); fluxo: 1,2mL min⁻¹; volume de injeção: 20 μ L; coluna: C₁₈ de fase reversa RP-18 esférica 5 μ m/250 x 4,6 mm com pré-coluna 5 μ m/10x4,6 mm Lichrospher; detecção por fluorescência: Ex 368 nm; Em 440 nm.

Para preparo da solução padrão de vitamina B₁, uma massa de 50,0 mg de mononitrato de tiamina foi transferida com água milliq e 5 mL de ácido clorídrico 1 M para balão volumétrico âmbar de 100 mL e completou-se o volume com água milique. A partir da solução acima, pipetou-se 10 mL e transferiu para um balão âmbar de 100 mL e completou o volume com água milliq (“Solução Padrão”).

Para a reação de conversão da tiamina em tiocromo, foram adicionados aproximadamente 2 mL da solução padrão e 3 mL da solução de ferricianeto de potássio, em um balão volumétrico âmbar de 10 mL. O volume total foi agitado em agitador de tubos e colocado em repouso por 2 min para que ocorresse a reação. Após este tempo, foram adicionados 450 μ L de ácido ortofosfórico 85%. A solução foi então resfriada e o volume final foi completado com água deionizada, obtendo uma solução final na concentração de 10 μ g de mononitrato de tiamina /mL. A curva padrão utilizada apresentava as seguintes concentrações, em ng/mL: 25, 50, 100, 200 e 500. Estas soluções foram injetadas no cromatógrafo imediatamente após o preparo.

O método de análise da vitamina B₂ foi baseado no procedimento descrito por Presoto & Almeida-Muradian (2005) com modificação na composição da fase móvel. As

condições cromatográficas utilizadas foram: fase móvel: tampão fosfato pH 7,2 e dimetilformamida (82:18); fluxo: $1,5 \text{ mL min}^{-1}$; volume de injeção: $20 \mu\text{L}$; coluna: C18 de fase reversa RP-18 esférica $5 \mu\text{m}/250 \times 4,6 \text{ mm}$ com pré-coluna $5 \mu\text{m} / 10 \times 4,6 \text{ mm}$ Lichrospher; detecção por fluorescência: Ex 450 nm; Em 530 nm.

Para preparo da solução padrão de vitamina B₂, foi pesada uma massa de 25,0 mg de riboflavina, levada à fervura branda (85 a 90°C), sob agitação, com 70 mL de água milique e 0,6 mL de ácido acético glacial grau HPLC até total dissolução, transferida quantitativamente para um balão volumétrico âmbar de 100 mL com água milique, obtendo uma solução de $250 \mu\text{L mL}^{-1}$. A fim de se obter uma solução final de concentração $5 \mu\text{g}$ de riboflavina mL^{-1} , pipetou 2 mL da solução $250 \mu\text{L mL}^{-1}$ em um balão volumétrico âmbar de 100 mL e completou com água milliQ. A solução padrão concentrada foi diluída a fim de se obter uma curva padrão com as seguintes concentrações, em ng mL^{-1} : 25, 50, 125, 250 e 500.

O procedimento de análise da vitamina B₆ foi baseado no descrito por Presoto & Almeida-Muradian (2005). As condições cromatográficas utilizadas foram: fase móvel: tampão fosfato pH 2,5 e metanol (98:2); fluxo da bomba: $0,6 \text{ mL min}^{-1}$; volume de injeção: $20 \mu\text{L}$, coluna: C18 de fase reversa Superspher 100 RP-18 *endcapped* $5 \mu\text{m}/250 \times 4,6 \text{ mm}$ com précoluna $5 \mu\text{m}/10 \times 4,6 \text{ mm}$ Lichrospher 100 RP-18; detecção por fluorescência: Ex 296 nm; Em 390 nm.

Para preparo da solução padrão de vitamina B₆, as formas cloridrato de piridoxina, cloridrato de piridoxal e dicloridrato de piridoxamina (30 mg cada) foram diluídas separadamente em água milique e depois foi completado em um balão volumétrico âmbar de 100 mL, obtendo uma solução de $300 \mu\text{g mL}^{-1}$. Para obter uma solução final de concentração $3 \mu\text{g mL}^{-1}$, foi pipetado 1 mL de cada solução (piridoxamina, piridoxal e piridoxina) e completado em um balão volumétrico de 100 mL com água milliQ. A curva padrão utilizada apresentava as seguintes concentrações, em ng mL^{-1} , contendo as três formas da vitamina B₆, uma vez que os três vitâmeros da vitamina B₆ foram analisados simultaneamente: 37,5; 75; 150; 375 e 750.

4.2.9 Análise dos dados

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento para todas as análises químicas, sendo os resultados expressos em média $\pm$ desvio-padrão. Foi realizada análise de variância pelo teste F e a comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos segundo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) através do programa *Software Statistical Analysis System* (SAS) (SAS, 1998). Fez-se também a correlação de Pearson, entre todas as variáveis estudadas com o processo de germinação e irradiação. A construção dos gráficos e tabelas foi feita pelo programa Excel (MICROSOFT OFFICE EXCEL, 2007).

4.3 Resultados e Discussão

Na tabela 10 e 11 estão apresentados os teores médios de Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, P, K, Na, Mn, S quantificados após irradiação e germinação dos grãos de soja BRS216. Na Tabela 12 estão expostas suas correlações com os processos citados anteriormente.

Tabela 10 - Valores médios expressos em base seca (média $\pm$ desvio padrão) de macronutrientes para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	MACROELEMENTOS (g kg ⁻¹)					
		Fósforo (g kg ⁻¹)	Potássio (g kg ⁻¹)	Cálcio (g kg ⁻¹)	Magnésio (g kg ⁻¹)	Enxofre (g kg ⁻¹)	Sódio(g kg ⁻¹)
0	0	6,03 $\pm$ 0,18 ^d	19,65 $\pm$ 2,43 ^b	1,45 $\pm$ 0,03 ^d	2,24 $\pm$ 0,06 ^c	3,30 $\pm$ 0,07 ^d	2,81 $\pm$ 0,00 ^c
0	48	16,26 $\pm$ 0,39 ^c	50,04 $\pm$ 2,46 ^a	3,88 $\pm$ 0,21 ^a	6,03 $\pm$ 0,27 ^{a,b}	7,48 $\pm$ 0,86 ^c	8,09 $\pm$ 0,35 ^b
0	72	19,71 $\pm$ 1,77 ^{a,b}	43,18 $\pm$ 10,34 ^a	3,43 $\pm$ 0,47 ^{a,b,c}	6,65 $\pm$ 0,95 ^{a,b}	10,20 $\pm$ 0,93 ^{a,b}	11,92 $\pm$ 2,11 ^a
0,025	0	6,05 $\pm$ 0,22 ^d	20,67 $\pm$ 0,71 ^b	1,36 $\pm$ 0,03 ^d	2,21 $\pm$ 0,00 ^c	2,78 $\pm$ 0,62 ^d	3,20 $\pm$ 0,16 ^c
0,025	48	16,40 $\pm$ 0,85 ^c	52,30 $\pm$ 0,42 ^a	3,86 $\pm$ 0,22 ^{a,b}	6,40 $\pm$ 0,16 ^{a,b}	7,89 $\pm$ 1,64 ^{b,c}	8,16 $\pm$ 0,41 ^b
0,025	72	18,97 $\pm$ 0,92 ^{a,b}	49,57 $\pm$ 2,06 ^a	3,06 $\pm$ 0,55 ^{b,c}	6,29 $\pm$ 0,39 ^{a,b}	10,66 $\pm$ 0,11 ^a	13,20 $\pm$ 0,09 ^a
0,075	0	6,03 $\pm$ 0,17 ^d	20,33 $\pm$ 0,71 ^b	1,38 $\pm$ 0,06 ^d	2,20 $\pm$ 0,11 ^c	2,93 $\pm$ 0,61 ^d	3,28 $\pm$ 0,16 ^c
0,075	48	16,05 $\pm$ 0,43 ^c	46,81 $\pm$ 3,14 ^a	3,57 $\pm$ 0,20 ^{a,b,c}	5,65 $\pm$ 0,40 ^b	8,03 $\pm$ 1,11 ^{b,c}	7,77 $\pm$ 0,38 ^b
0,075	72	20,68 $\pm$ 0,51 ^a	53,19 $\pm$ 0,88 ^a	3,39 $\pm$ 0,31 ^{a,b,c}	7,08 $\pm$ 0,17 ^a	10,73 $\pm$ 0,30 ^a	13,74 $\pm$ 0,00 ^a
0,15	0	6,03 $\pm$ 0,43 ^d	20,19 $\pm$ 1,65 ^b	1,25 $\pm$ 0,03 ^d	2,17 $\pm$ 0,17 ^c	3,11 $\pm$ 0,23 ^d	3,01 $\pm$ 0,17 ^c
0,15	48	19,26 $\pm$ 0,33 ^{a,b}	46,85 $\pm$ 1,55 ^a	2,81 $\pm$ 0,33 ^c	6,42 $\pm$ 0,40 ^{a,b}	8,92 $\pm$ 1,62 ^{a,b,c}	12,78 $\pm$ 0,67 ^a
0,15	72	17,95 $\pm$ 1,35 ^{b,c}	51,91 $\pm$ 2,59 ^a	2,96 $\pm$ 0,17 ^c	6,89 $\pm$ 0,43 ^a	10,69 $\pm$ 0,32 ^a	12,24 $\pm$ 0,10 ^a

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

Tabela 11 - Valores médios expressos em base seca (média $\pm$ desvio padrão) de microelementos para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	MICROELEMENTOS (mg kg ⁻¹)			
		Cobre (mg kg ⁻¹)	Ferro (mg kg ⁻¹)	Manganês (mg kg ⁻¹)	Zinco (mg kg ⁻¹)
0	0	68,02 $\pm$ 0,83 ^a	805,27 $\pm$ 66,57 ^a	31,92 $\pm$ 0,40 ^b	72,93 $\pm$ 27,01 ^{c,d}
0	48	47,46 $\pm$ 1,03 ^{b,c}	303,71 $\pm$ 94,38 ^b	70,62 $\pm$ 1,94 ^a	157,45 $\pm$ 2,10 ^a
0	72	34,27 $\pm$ 4,59 ^{d,e}	185,77 $\pm$ 24,63 ^{b,c}	68,64 $\pm$ 9,71 ^a	98,65 $\pm$ 12,09 ^{b,c}
0,025	0	29,61 $\pm$ 3,76 ^e	134,11 $\pm$ 6,56 ^c	25,27 $\pm$ 0,23 ^b	56,54 $\pm$ 10,77 ^d
0,025	48	49,85 $\pm$ 4,93 ^b	249,91 $\pm$ 13,24 ^{b,c}	70,07 $\pm$ 2,47 ^a	156,51 $\pm$ 7,22 ^a
0,025	72	34,82 $\pm$ 1,45 ^{d,e}	185,05 $\pm$ 2,04 ^{b,c}	68,65 $\pm$ 1,45 ^a	94,73 $\pm$ 0,39 ^{b,c}
0,075	0	36,92 $\pm$ 1,38 ^{d,e}	215,73 $\pm$ 66,91 ^{b,c}	27,26 $\pm$ 0,25 ^b	55,48 $\pm$ 0,99 ^d
0,075	48	40,63 $\pm$ 1,78 ^{c,d}	212,01 $\pm$ 11,06 ^{b,c}	67,42 $\pm$ 2,74 ^a	141,63 $\pm$ 1,89 ^a
0,075	72	34,82 $\pm$ 0,91 ^{d,e}	232,97 $\pm$ 52,90 ^{b,c}	71,84 $\pm$ 1,08 ^a	106,66 $\pm$ 10,57 ^b
0,15	0	32,55 $\pm$ 3,11 ^e	154,61 $\pm$ 20,60 ^c	26,25 $\pm$ 2,21 ^b	54,90 $\pm$ 5,02 ^d
0,15	48	34,72 $\pm$ 2,51 ^{d,e}	167,25 $\pm$ 28,47 ^c	68,91 $\pm$ 8,23 ^a	87,89 $\pm$ 1,52 ^{b,c}
0,15	72	31,12 $\pm$ 0,83 ^e	162,72 $\pm$ 1,35 ^c	69,30 $\pm$ 1,46 ^a	93,63 $\pm$ 0,63 ^{b,c}

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

Tabela 12 - Coeficiente de Correlação de Pearson entre os tratamentos (germinação e irradiação) e os minerais analisados

Minerais	Germinação	Irradiação
P	0,996	-0,3779
K	0,9492	0,2078
Ca	0,8884	-0,9122
Mg	0,9794	-0,9601
Enxofre	0,9976	-0,039
Na	0,99515	0,21014
Cu	-0,9979	-0,5825
Fe	-0,9882	-0,61545
Mn	0,9476	-0,522
Zn	0,4719	-0,6864

Tabela 13 - Teor de Fósforo Total (teor de Ácido fítico + teor de Fósforo) e porcentagem de Fósforo Fítico e Fósforo livre dos 12 tratamentos estudados

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Fósforo Total (g.kg ⁻¹)	% P Fítico	% Fósforo livre
0	0	23,48 ^d	74,31 ^a	25,68 ^e
0	48	30,51 ^c	46,7 ^{bc}	53,29 ^{cd}
0	72	33,38 ^{ab}	41,03 ^{de}	58,96 ^{ab}
0,025	0	25,21 ^d	75,97 ^a	23,99 ^e
0,025	48	30,78 ^{bc}	46,71 ^{bc}	53,28 ^{cd}
0,025	72	32,37 ^{abc}	41,39 ^{de}	58,6 ^{ab}
0,075	0	24,7 ^d	75,58 ^a	24,41 ^e
0,075	48	31,07 ^{abc}	48,34 ^b	51,65 ^d
0,075	72	33,52 ^{ab}	38,3 ^e	61,69 ^a
0,15	0	23,35 ^d	74,17 ^a	25,82 ^e
0,15	48	33,74 ^a	42,91 ^{cd}	57,08 ^{bc}
0,15	72	30,79 ^{bc}	41,72 ^{de}	58,29 ^{ab}

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

No processo de germinação, o embrião requer minerais como K, Mg, Ca e P, para a síntese de ATP, co-enzimas e ácidos nucleicos antes do início da absorção pelas raízes. Estes minerais são armazenados na forma de sais, que se acumulam na semente durante a maturação. O fósforo é estocado na forma de hexofosfato de fitina, sendo abundante em sementes de soja. A enzima fitase começa a atuar durante a germinação, liberando minerais (METIVIER, 1979). Também ocorre considerável translocação de elementos minerais individuais durante a germinação (LORENZ, 1980; CHAVAN; KADAN, 1989). Desta forma, as amostras submetidas a este tratamento poderiam apresentar tendência neste sentido, mas como expostos na Tabela 10 e 11, alguns minerais apresentaram aumento em seus conteúdos. Deve-se levar em consideração que este aumento pode ser devido à perda de matéria seca ocorrida durante a germinação, onde os nutrientes são convertidos em energia ou estar relacionada às poeiras depositadas nas bandejas de germinação, já que este processo foi realizado em recipiente aberto, ou seja, sem proteção a deposição de partículas existentes no ambiente.

Para o mineral fósforo, verificou-se que este significativo aumento foi diretamente proporcional com a evolução do processo germinativo, apresentando correlação alta e positiva ($r = 0,9960$) entre essas duas variáveis (Tabela 12). Em contrapartida, a irradiação não apresentou influência no referido mineral, já que não diferiram estatisticamente, ao nível de 5%, da amostra controle e por apresentar baixa correlação ($-0,3779$) entre Fósforo e Irradiação.

No perfil mineral de leguminosas publicado na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006), a soja possui teor médio de 539mg de fósforo em 100 gramas de farinha crua. No presente estudo, a soja controle obteve teor de 603mg de fósforo em 100 gramas de amostra, valor este superior ao encontrado na tabela TACO (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006) e inferior aos 638mg $100g^{-1}$ reportados por Destro et al. (2002), que analisaram 72 genótipos de soja para alimentação humana cultivadas na região de Londrina-PR. Com o processo germinativo, os teores de P se elevaram para 1626 mg e 1971 mg em 100gramas de soja BRS216 após 48 e 72 horas, respectivamente.

Assim, levando em consideração as recomendações diárias de P, para pessoas de 9-18 anos (1250mg dia^{-1}) e pessoas acima de 19 anos, (700mg dia^{-1}) para ambos os sexos, verifica-se que 100 gramas de soja germinada a 48 e 72 horas são capazes de alcançar as recomendações segundo DRI (2004).

Este mesmo efeito do processo de germinação sobre os grãos (Tabela 10) foi encontrado por Oloyo (2004), que estudando o teor de minerais em grãos e brotos de *Cajanus cajan* durante cinco dias, verificou que a germinação aumentou significativamente os conteúdos de cálcio, magnésio e fósforo no quarto dia do processo germinativo. Resultado contraditório foi observado por Kaushik et al. (2010) que observaram diminuições gradativas no conteúdo de P em soja com a evolução do processo de germinação, alcançando redução de 15,93% após o terceiro dia do processo. Segundo o autor, o P em grãos de soja ocorre principalmente na forma de fitato inositol-hexafosfato e esta diminuição pode estar atribuída ao aumento da atividade da enzima fitase durante a germinação, resultando em fósforo livres parcialmente hidrossolúveis derivados do fitato. Assim, minerais solúveis em água, muitas vezes se perdem durante processo de maceração ou até mesmo nas lavagens dos grãos ocorridas durante o processo de germinação.

Abdullah & Baldwin (1984), estudando o conteúdo de minerais e vitaminas em grãos e brotos de soja e feijão mungo germinado por três dias verificaram que os níveis de fósforo em grãos de soja cru, $710\text{ mg }100\text{g}^{-1}$, foram maiores do que os teores observados na Tabela 10¹, porém quando analisado o broto de soja, em média, $772\text{mg }100\text{g}^{-1}$, esse valor foi muito inferior ao encontrado na soja aqui estudada. Esse aumento foi de 8,7% no estudo citado e aproximadamente 3 vezes o valor inicial (amostra controle) no presente estudo.

Em grãos, este mineral está armazenado, principalmente, na forma de ácido fítico (fitato, mio-inositol hexafosfato, InsP6), que contribui com 50 a 70% do total de fósforo presente no grão (HEGEMAN et al., 2001). Durante a germinação o fitato é hidrolisado pela atividade da enzima fitase, liberando fosfato inorgânico e mio-inositol para o crescimento do embrião. Conseqüentemente, durante a germinação ocorrem reduções nos teores de ácido fítico, o qual possivelmente aumentará a biodisponibilidade dos minerais.

Assim, considerando o teor de P total e de ácido fítico encontrado no presente estudo, pode-se fazer uma relação entre os teores de P total, P fítico e P livre durante germinação dos grãos de soja (Tabela 13). No tempo e irradiação zero, tem-se que 74,31% do P total encontram-se sob a forma de ácido fítico. Ao término de 48 horas e 72 horas, estes valores diminuíram para 46,7% e 41,03% P fítico, respectivamente. As amostras somente irradiadas nas doses 0,025, 0,075 e 0,150 kGy apresentaram valores de P fítico de 75,97%, 75,58% e 74,17%, respectivamente, não diferindo ao nível de 5% de probabilidade da amostra controle. Com reduções de P fítico durante processo de germinação nos tempos de 48 e 72 horas, verificou-se aumento nas porcentagens de P livre. Segundo Ribeiro et al. (1999), o aumento no conteúdo de P livre pode ser explicado devido ao aumento da disponibilidade de P atribuído à hidrólise do ácido fítico durante processo de germinação.

Azeke et al. (2011) observaram redução de ácido fítico de 18 – 45% e aumento nos teores de fósforo de 1-3% após 3 dias de germinação em diferentes tipos de leguminosas. Segundo os autores, este aumento é decorrente da perda de matéria seca devido ao metabolismo do grão. Neste caso, alguns compostos são degradados para fornecimento de energia requerida durante o processo de germinação (EL-ADAWY, 2002; BAU et al., 1997). Mubarak et al. (2005) relataram aumento de 4% em fósforo após 3 dias de germinação de feijão mungo com redução de 30,5% nos teores de ácido fítico. Para esses autores este aumento foi devido à translocação do fosfato durante o metabolismo ocorrido na germinação.

Em relação ao mineral K, é possível verificar que as amostras submetidas à germinação foram estatisticamente maiores ($p < 0,05$) que os demais tratamentos analisados, revelando correlação alta e positiva (0,9492) entre essas duas variáveis. Confirma também que a irradiação, independente das doses utilizadas, por não diferir ao nível de 5% de probabilidade da amostra controle, não apresentou efeito sobre o conteúdo deste mineral (Tabelas 10 e 12).

O teor encontrado para a soja controle ($1625 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ou $19,65\text{mg g}^{-1}$) no presente estudo está de acordo com Shi et al. (2010) porém inferior ao apresentado na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, $1922\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006), na tabela U.S.Department of Agriculture (USDA,

2001), 1797mg 100g⁻¹ e no estudo realizado por Zhou et al. (2009), com teor de 16,15 g kg⁻¹.

Considerando o teor médio de K de todas as amostras germinadas em 48 e 72 horas, 4900mg 100g⁻¹ e 4946 mg 100g⁻¹, respectivamente, verificou que a germinação aumentou o conteúdo, em torno de 2,5 vezes seu valor inicial (controle). Resultado contraditório foi observado na tabela internacional USDA (2001), que relataram teor de 484mg 100g⁻¹ para “feijão-soja, semente madura, broto cru”. Assim como Shi et al. (2010) que encontraram reduções nos teores do referido mineral de 5,39% e 7,35% após 48 e 72 horas de germinação, Kaushik et al. (2010) também observaram declínios progressivos na quantidade de K de 11% no primeiro dia, 16% no terceiro dia e 19% no quinto dia do processo germinativo. Estudos feitos com *Vigna radiata*, mostraram que os teores de K diminuíram no primeiro dia de germinação (11,825µg g⁻¹ a 11,370 µg g⁻¹) e, em seguida, tiveram seus valores aumentados no terceiro dia (11,960µg g⁻¹ no terceiro dia) e quinto dia (13,305µg g⁻¹ no quinto dia) (LEE; KURANANITHY, 1990). Resultado contraditório aos estudos anteriormente citados, foi observado por Plaza et al. (2003) que observaram aumentos de 5 vezes nos teores de K em soja germinada por 96 horas quando comparado ao seu valor inicial (amostra controle).

Segundo DRI (Dietary Reference Intake, 2004) a recomendação de ingestão diária de potássio para um adulto é de 4700mg. Assim, os resultados mostram que 100 gramas de todas as amostras germinadas em 48 e 72 horas, são capazes de fornecer as necessidades diárias desse mineral.

Devido à presença de ácido fítico nos grãos em geral na forma de fitato como sais de potássio-magnésio, o que possivelmente reduzirá a disponibilidade de minerais, tenha-se a impressão que, com a hidrólise do fitato no processo de germinação esses minerais aumentassem. A verdade é que esses minerais estariam mais prontamente disponíveis. No caso do presente estudo, a determinação de minerais não foi por método de disponibilidade e sim por análise do teor de minerais, o qual quantifica os minerais tanto quelados como prontamente disponíveis.

Para o mineral Ca (Tabela 10) também foi observado aumento nos teores após germinação em ambos os tempo, porém quando analisados separadamente

observou-se maiores conteúdos deste mineral no tempo de 48 horas, seguido de pequena redução após 72 horas de germinação. Correlação alta e positiva (0,8884) foi encontrada, após teste de correlação de Pearson, entre tempo de germinação e teor de cálcio (Tabela 12). Em relação às amostras somente irradiadas, nota-se que apesar de não diferirem estatisticamente da amostra controle, também apresentaram correlação alta e negativa (-0,9122) entre as doses de radiação utilizadas e conteúdo do referido mineral (Tabela 12).

A amostra controle apresentou teor de 145 mg de Ca em 100 gramas de amostra; valor este inferior ao encontrado pela Tabela TACO (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006) e USDA (2001), 206 mg 100 g⁻¹ e 277 mg 100g⁻¹, respectivamente, e aos 280mg de Ca em 100 gramas de soja reportados por Dave et al. (2008). Com a germinação esse valor aumentou cerca de 2,4 e 2,2 vezes após 48 e 72 horas, respectivamente.

As recomendações nutricionais para Ca variam conforme faixa etária e as condições clínicas dos indivíduos. Em geral, são de 1200 mg dia⁻¹ para indivíduos acima de 51 anos e de 1000 mg dia⁻¹ para indivíduos adultos entre 19 a 50 anos (DRI, 2004). Desta forma, conclui-se que em cada 100 gramas de soja germinada a 48 e 72 horas são capazes de suprir cerca de 29,5 e 26,7% as necessidades diárias na faixa etária acima de 51 anos e cerca de 35% e 32% para indivíduos entre 19 – 50 anos, respectivamente.

Em relação ao efeito da germinação nos teores de Ca, tem se observado aumento no conteúdo deste mineral após este processo. Sangronis e Machado (2007) observaram que a germinação aumentou 8,4% o conteúdo de Ca em feijão branco, 5% em feijão preto e 17,2% para o feijão guandu. Trugo et al. (2000) também relataram aumento de 7,1% nos níveis de Ca para *Phaseolus vulgaris* L. Dave et al. (2008) relataram aumento na concentração de Ca de 14% e 28,5% após hidratação e germinação de grãos de soja, respectivamente. A germinação em grão de soja também elevou o conteúdo de Ca em 2,5% no primeiro dia, 5% no segundo dia e 4% no quarto dia (KAUSHIK et al., 2010).

Em estudo conduzidos com grãos da espécie *L. albus* cv Multolupa, também foi verificado aumento de 2,02 mg de cálcio g⁻¹ no grão e 2,32 mg de cálcio g⁻¹ no broto

(DONANGELO et al., 1995). Os mesmos autores observaram em soja o aumento dos valores de Ca de 2,50 mg de cálcio g⁻¹ para o grão e 2,80 mg de cálcio g⁻¹ para o broto.

O Mg teve seus teores elevados após germinação dos grãos, não havendo alterações quando submetidos somente ao processo de irradiação (Tabela 10). Observando a tabela 12, verifica-se correlação alta e positiva para os teores de minerais e processo germinativo. No entanto, apesar das amostras somente irradiadas serem estatisticamente semelhante à amostra controle, quando realizado teste de correlação de Pearson, verificou-se interação altamente negativa entre essas variáveis. Isso nos mostra que embora não apresentem diferença estatística, os teores de Mg reduziram em ordem crescente: 1,4% para as amostras irradiadas a 0,025kGy; 1,78% a 0,075kGy e 3,12% a 0,150kGy.

Considerando o teor médio de Mg nas amostras germinadas a 48 e 72 horas, verificou-se aumento de aproximadamente 3 vezes, o seu conteúdo inicial (controle). Em termos de recomendações diárias (DRI, 2004), os resultados mostram que 100 gramas de amostra germinada, em ambos os tempos, são capazes de suprir cerca de 2 vezes e 1,5 vezes as necessidades recomendadas para mulheres e homens, respectivamente.

A concentração média de Mg em grão de soja apresentado na tabela USDA, (2001) foi de 250mg 100g⁻¹ com redução em seu teor para 72 mg em 100g de broto de soja, porém não foi informado o período da germinação utilizado. No presente estudo, as amostras controle apresentaram 224 mg de Mg em 100 gramas de amostra; valor este similar ao encontrado na tabela acima, como também similar ao valor reportado na tabela TACO (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006) (242mg 100g⁻¹) e ao observado por Fachman et al. (2000) (220mg 100 g⁻¹ de soja, base seca) e superior ao relatado por Dave et al. (2008). Quando analisado o grão germinado, verifica-se resultado contraditório à tabela USDA (2001). Neste caso, o Mg teve seus teores elevados após a germinação dos grãos.

Sangronis e Machado (2007) observaram que a germinação com feijão branco por 5 dias (*P. vulgaris*), reduziu consideravelmente o teor de Mg em 23,7%. Kumar et al. (1978) também verificaram perdas de magnésio para *P. aureus*, *V. sinensis* e *C. arietinum*. Os mesmos atribuíram essa perda à lixiviação que ocorre durante o processo

germinativo. Urbano et al. (2005) ao estudarem o efeito das sementes de ervilha germinadas em 2, 4 e 6 dias na ausência e presença de luz, também verificaram redução no teor de Mg. Este mineral foi perdido durante hidratação dos grãos, e com a evolução do processo de germinação essa redução foi atenuada. Esse decréscimo foi de 5,5% entre grão cru e hidratação; 16,5% entre a hidratação e o segundo dia da germinação; 5,5% entre o segundo e o quarto dia e 4,65% entre o quarto e o sexto dia do processo germinativo. As perdas de Mg antecedentes à germinação são decorrentes da alta solubilidade deste cátion em água, provocando sua perda na forma livre e/ou complexados aos ácidos fítico ou compostos fenólicos (LÓPEZ-AMORÓS, 2000; VIDAL-VALVERDE et al., 2002). Desta forma, Urbano et al. (2005) concluíram que embora durante os 6 dias de germinação ocorra redução continua nos teores de Mg, essas perdas foram em ordem decrescentes, o que sugere que a quantidade deste mineral solúvel passível de lixiviação, diminui com os períodos crescentes da germinação.

Resultados contraditórios aos trabalhos citados anteriormente foi reportado por Akinlosotu et al. (1991). Os autores observaram que a germinação nas primeiras 96 horas aumentou consideravelmente os teores de P, Zn e Mg. Reduções nos teores de Ca e Fe foram observados após esse período. No caso do mineral Mg, foram encontrados os seguintes valores: aumento de 3,08% nas primeiras 24 horas; redução de 3,3% entre os tempos de 24 e 48 horas; posterior aumento de 2,20% entre 48 e 72 horas e aumento de 1,62% entre os períodos de 72 horas e 96 horas. Segundo os autores, o aumento no teor de Mg está relacionado ao aumento da atividade da enzima fitase durante a germinação. Com a diminuição do ácido fítico, conseqüentemente aumenta a biodisponibilidade de Cu, Mg, Mn e Zn na dieta. Os decréscimos observados em Ca e Fe, bem como no mineral K, pode ser decorrente da lixiviação durante ou após hidratação dos grãos. Esse mesmo efeito foi também observado por Plaza et al. (2003) que reportaram aumento de aproximadamente 16,5% nos teores do referido mineral após 96 horas de germinação na ausência de luminosidade. Deve-se levar em consideração, que as variações nos teores de minerais em grãos germinados, até então observados, são dependentes das condições os quais as sementes são submetidas no processo germinativo, bem como o tipo e variedade

das leguminosas estudadas (PLAZA et al., 2003). Dave et al. (2008) também relataram aumento de 23% e 69% nos teores de Mg após hidratação e germinação de grãos de soja.

Com a evolução do processo de germinação, verifica-se na tabela 10 que os teores de S aumentam consideravelmente. Em contrapartida o processo de irradiação não apresentou influência estatisticamente significativa sobre o conteúdo deste mineral.

Quanto ao elemento Na, nota-se que após germinação de 48 e 72 horas, seus teores aumentaram em 3 vezes e 4,5 vezes, respectivamente, em relação ao valor inicial (controle) (Tabela 10). O processo de irradiação, para todas as doses utilizadas, não mostrou efeito significativo sobre este mineral, pois estatisticamente não diferiu ao nível de 5% de probabilidade da amostra controle.

Para o mineral Cu (Tabela 11) foi observado reduções em seus teores para todos os tratamentos, os quais diferiram estatisticamente da amostra controle. Resultado contraditório foi encontrado por Kaushik, Satya e Naik (2010) com aumento nos conteúdos durante o progresso da germinação em um período de 5 dias.

Quanto ao elemento Fe (Tabela 11), verifica-se que ambos os tratamentos apresentaram efeito estatisticamente significativo quando comparados à amostra controle. Foi observado redução de 62,4% e 77,0% para as amostras germinadas a 48 e 72 horas. Para a irradiação essa diminuição foi de 83,35%, 73,29% e 81,00% para doses 0,025; 0,075 e 0,150kGy, respectivamente. Quando observada a tabela 12, pode ser constatada alta correlação negativa para as amostras germinadas. Apesar da irradiação ter apresentado maior redução no conteúdo desse mineral quando comparado à germinação, conclui-se que esta menor correlação foi por não ter apresentado diminuição crescente com o aumento das doses utilizadas (0,025; 0,075 e 0,150kGy).

Vale ressaltar que os teores de Fe encontrado no presente estudo foram superiores aos observados por Paucar-Menacho (2009); Kaushik et al. (2010); Plaza et al. (2003) e Fachmann et al. (2000). A análise de Pearson apontou correlação alta e negativa (-0,9882) entre germinação e Fe.

As recomendações diárias de ferro são de 11 mg dia⁻¹ para homens e 18mg dia⁻¹ para mulheres (NRC, 2001). Os resultados encontrados mostram que 100 gramas de amostra estudada são capazes de suprir de 90% a 250%, as quantidades necessárias de ferro ao organismo humano.

Reduções nos teores de Fe também foram observados por Trugo et al. (2000) em torno de 42,6% quando comparados aos feijões não germinados. Sangronis e Machado (2007) observaram diminuições no conteúdo de ferro de 78,3%, 42,6% e 82,6% para feijão branco, feijão preto e feijão guandu, respectivamente, após o quinto dia de germinação. No presente estudo, esta diminuição variou de 62,26% a 83,36%, considerando a maior e menor redução das amostras analisadas.

Kaushik, Satya e Naik (2010) estudando o efeito da germinação no conteúdo mineral da soja, observaram redução de 6% no teor de Fe após primeiro dia de germinação. No segundo dia do processo verificou-se aumento em torno de 6% deste mineral. Somente a partir do terceiro dia, os teores de ferro foram reduzidos com progresso do processo germinativo.

Resultados contraditórios foram observados por Shi et al. (2010) que reportaram aumento nos teores de Fe após germinação de soja de 48 e 72 horas. Esse aumento foi de 4,52 e 6,3% na ausência de luminosidade e na presença de luz foi encontrado aumento de 15% após 48 horas e redução de 2,05% entre 48 e 72 horas do processo germinativo, ou seja, aumento de 11% quando comparado à amostra controle.

Nos valores encontrados para os teores de Mn, verifica-se que somente a germinação difere em nível de 5% de probabilidade da amostra controle, não havendo alterações em seus conteúdos quando submetidos à irradiação. O processo de germinação aumentou consideravelmente o conteúdo deste mineral, para ambos os tempos analisados, não havendo diferença estatística entre eles. Resultados similares foram encontrados por Kaushik, Satya e Naik (2010).

As recomendações diárias deste mineral, para adultos são de 1,6 a 2,3 mg dia⁻¹ (NRC, 2001). Portanto, todos os tratamentos (incluindo amostra controle), são capazes de suprir tais necessidades, pois os valores encontrados estão acima da faixa requerida.

Para o mineral Zn, a análise de variância apontou diferenças estatísticas significativas somente para os tratamentos: germinada 48 horas, germinada 48 horas irradiada nas doses 0,025 e 0,075kGy e germinada 72 horas irradiada 0,075kGy. Para essas amostras foi observado aumento de 115%, 114%, 94% e 46%, respectivamente. Os tratamentos, com exceção das amostras somente irradiadas, apesar de apresentarem aumento no conteúdo de Zn, não diferiram ao nível de 5% de probabilidade da amostra controle.

A concentração média para Zn apresentado na tabela USDA (2001) foi de 4,89 mg 100 g⁻¹ de semente madura, crua de soja. Já nas tabelas nacionais, os teores de Zn foram pouco menores, 4,5 mg 100 g⁻¹ de farinha de soja. Comparando estes valores com os resultados apresentados na Tabela 11, verifica-se que as concentrações de Zn em soja BRS 216 foram maiores do que os apresentados anteriormente, valor este de 7,29 mg.100g⁻¹ de amostra.

Dave et al. (2008) relataram aumento de 11,5 e 14 vezes o valor inicial de Zn em soja após processo de hidratação durante 24 horas e germinação por 48- 72 horas. Kaushik et al. (2010) encontraram grandes variações nos teores de Zn em soja. Foi observado aumento de 7% no segundo dia, com redução de 6,3% no terceiro dia e acréscimo de 10,5% no quarto dia do processo germinativo.

Efeito contraditório em relação aos grãos de soja germinados foi observado por Shi, Nam e Ma (2010) com redução de 11,6% e 14,7% após 48 e 72 horas do processo germinativo. Lestienne et al. (2005) ao estudarem o processo de hidratação de grãos de soja durante 24 horas relataram reduções de 3,84% e 15,7% nos teores de Zn e Fe. Segundo os autores, o efeito da lixiviação no meio de imersão, sobre o mineral zinco foi inferior ao encontrado para Fe. Este fenômeno pode ser decorrente da localização desses minerais nos grãos e suas relações com os nutrientes presentes nos mesmos.

As recomendações diárias para zinco são de aproximadamente, 10 mg dia⁻¹ para uma pessoa adulta (NRC, 2001). Assim, convertendo os resultados em mg 100g⁻¹ de amostra, verificou-se que os tratamentos que diferiram estatisticamente da amostra controle são capazes de suprir cerca de 150% das necessidades diárias do organismo humano. Os tratamentos de soja germinada 72 horas; irradiada 0,025, 0,075 e 0,150kGy; germinada 72 horas e irradiada nas doses 0,025 e 0,150kGy e germinada 48

horas e irradiada 0,150kGy suprim aproximadamente 54% a 94% das necessidades de Zn.

Têm-se observado, que as diferenças nas concentrações de um determinado nutriente são plausíveis de acontecer principalmente nos alimentos de origem vegetal, mesmo pertencendo à mesma espécie e família botânica. Isso pode ocorrer devido às suas próprias características genéticas, sistema de nutrição das plantas e métodos analíticos aplicados.

No entanto, observa-se que o tratamento de germinação é capaz de suprir grande parte das necessidades diárias de minerais da alimentação, demonstrando que a soja, além de ser fonte de proteína possui em sua composição uma série de outros nutrientes importantes para compor uma alimentação equilibrada. Contudo, Miller (1996) afirma que o perfil mineral bem como a concentração de cada elemento presente no alimento não é necessariamente indicadores seguros do valor nutritivo deste, como fonte do nutriente em questão. Por este motivo, na tabela 14, estão apresentados os valores de biodisponibilidade *in vitro* de Ferro, Cálcio, Zinco e Magnésio.

Tabela 14 - Porcentagem de disponibilidade *in vitro* de Ca, Fe, Zn e Mg (média $\pm$ desvio padrão) para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	%Cálcio	% Ferro	% Zinco	% Magnésio
0	0	0,14 $\pm$ 0,03 ^a	0,01 $\pm$ 0,004 ^a	0,17 $\pm$ 0,04 ^{ab}	0,16 $\pm$ 0,02 ^a
0	48	0,047 $\pm$ 0,004 ^{abc}	0,29 $\pm$ 0,09 ^a	0,14 $\pm$ 0,003 ^b	0,03 $\pm$ 0,01 ^b
0	72	0,04 $\pm$ 0,008 ^c	0,17 $\pm$ 0,07 ^a	0,17 $\pm$ 0,008 ^{ab}	0,03 $\pm$ 0,007 ^b
0,025	0	0,09 $\pm$ 0,02 ^{abc}	0,10 $\pm$ 0,03 ^a	0,20 $\pm$ 0,08 ^{ab}	0,17 $\pm$ 0,03 ^a
0,025	48	0,098 $\pm$ 0,03 ^{abc}	0,11 $\pm$ 0,03 ^a	0,14 $\pm$ 0,008 ^b	0,04 $\pm$ 0,01 ^b
0,025	72	0,08 $\pm$ 0,02 ^{abc}	0,11 $\pm$ 0,01 ^a	0,17 $\pm$ 0,03 ^{ab}	0,03 $\pm$ 0,01 ^b
0,075	0	0,09 $\pm$ 0,004 ^{abc}	0,07 $\pm$ 0,04 ^a	0,26 $\pm$ 0,04 ^a	0,16 $\pm$ 0,03 ^a
0,075	48	0,068 $\pm$ 0,01 ^{bc}	0,13 $\pm$ 0,04 ^a	0,16 $\pm$ 0,006 ^{ab}	0,04 $\pm$ 0,003 ^b
0,075	72	0,078 $\pm$ 0,02 ^{abc}	0,19 $\pm$ 0,10 ^a	0,16 $\pm$ 0,03 ^{ab}	0,03 $\pm$ 0,01 ^b
0,15	0	0,107 $\pm$ 0,02 ^{ab}	0,08 $\pm$ 0,02 ^a	0,22 $\pm$ 0,08 ^{ab}	0,16 $\pm$ 0,004 ^a
0,15	48	0,07 $\pm$ 0,01 ^{abc}	0,3 $\pm$ 0,006 ^a	0,21 $\pm$ 0,006 ^{ab}	0,03 $\pm$ 0,01 ^b
0,15	72	0,089 $\pm$ 0,007 ^{abc}	0,19 $\pm$ 0,07 ^a	0,18 $\pm$ 0,03 ^{ab}	0,02 $\pm$ 0,01 ^b

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 13, não foi possível observar diferenças significativas entre as amostras submetidas à germinação e a amostra controle para a disponibilidade dos minerais Ca e Zn, com exceção da amostra germinada a 48 horas/irradiada 0,075kGy e germinada por 72 horas que diferiram ao nível de 5% de probabilidade da amostra controle para o mineral Ca.

Como uma alternativa para estudos com humanos e animais, que são difíceis, caro e limitado, a disponibilidade de minerais ou elementos traços tem sido estimadas por meio de análises *in vitro*. Os métodos *in vitro* são geralmente baseados na simulação da digestão gastrointestinal, a qual estima a proporção dos nutrientes absorvidos no trato digestivo, através da medição da fração solúvel ou da fração dialisável na membrana (SEBASTIÁ et al., 2001). Assim, os métodos *in vitro* por serem alternativas mais rápidas, de menor custo e mais simples, foi optado para a realização da biodisponibilidade dos minerais no presente estudo. No entanto, estes métodos avaliam somente eventos pré-absortivos. Embora este método não possa reproduzir completamente as condições de testes *in vivo*, os seus resultados servem como um *screening* de interações, que podem ocorrer entre componentes da dieta no lúmen intestinal e estudos de biodisponibilidade de minerais com humanos (LUTEN et al., 1996).

Para o mineral Mg, foi observado que nas amostras somente irradiadas e controle o elemento estava mais disponível quando comparados às amostras submetidas à germinação. As amostras germinadas, apesar de diferirem estatisticamente do controle, não apresentaram diferenças entre os tempos analisados (48 e 72 horas).

Em estudo realizado por Ghavidel et al. (2007) foi observado reduções nos teores de Ca, porém com aumento de 57,32%, 69%, 58,7 % e 70,4% na biodisponibilidade do mineral em grão-de-bico, feijão mungo, caupi e lentilha, respectivamente quando comparados às amostras controle. A partir da análise de coeficiente de correlação, os autores observaram interação significativa ($p < 0,05$) e negativa entre disponibilidade de Ca e ácido fítico, taninos e fibra dietética total.

Kamchan et al. (2004) ao estudarem a biodisponibilidade *in vitro* de Ca em vegetais, leguminosas e grãos e a presença de alguns fatores que inibem a absorção

deste mineral, observaram alta biodisponibilidade de Ca (20,3%) em broto de soja com menores teores de fibra dietética, fitato e oxalato quando comparados as amostras com médio ou baixa biodisponibilidade do referido mineral.

De acordo com Martinez-Domínguez et al. (2002), a estrutura do ácido fítico faz dele um excelente agente quelante, apresentando grande afinidade por todos os elementos traço polivalentes e minerais como Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, Mg^{2+} e Ca^{2+} . Também estes autores afirmam que a maior parte dos estudos realizados sobre interações entre fitatos e minerais apontam a existência de uma relação inversa entre a absorção destes micronutrientes e a presença de ácido fítico. Há grandes diferenças no comportamento individual de cada elemento mineral e os efeitos adversos do ácido fítico na biodisponibilidade de minerais depende de grande número de fatores, como: concentração de fitatos e força de união com diferentes cátions; condições de processamento do alimento (especialmente pH); tipo de ácido fítico (adicionado ou endógeno) e a concentração de minerais no alimento; se o ácido fítico é ingerido na mesma refeição que a fonte mineral ou em refeições separadas; a concentração de proteínas da dieta e conseqüentemente a presença de proteínas, peptídios ou aminoácidos no intestino que possam interferir na formação do complexo ácido fítico-mineral; a presença de outros agentes como fibra alimentar, ácido oxálico, ácido ascórbico, ácido cítrico ou taninos que possam competir com o ácido fítico na união com minerais, a presença de fitases de origem intestinal, bacteriana ou alimentar, assim como a inibição desta enzima e a adaptação metabólica do indivíduo a altos níveis de ácido fítico.

Juntando estes dados, os índices sugerem que a disponibilidade de Ca, Mg e Zn não foram afetados pelos fitatos presentes no grão. Verificou-se correlação positiva de 0,44; 0,54 e 0,89, respectivamente entre disponibilidade de minerais e o composto antinutricional. No entanto, era esperado o aumento na disponibilidade desses minerais já que a germinação promoveu reduções nos fatores antinutricionais, dentre eles, taninos, lectinas e ácido fítico. Provavelmente essa alteração não foi suficiente para promover o aumento da disponibilidade dos minerais analisados, neste caso, seria necessário o aumento no tempo do processo germinativo (acima de 72 horas) para a obtenção do resultado desejado.

Ghavidel et al. (2007) também observaram que na germinação a porcentagem de biodisponibilidade de Fe aumentou significativamente para 64,6%; 67,8%; 75,8% e 81,3% em grão-de-bico, feijão mungo, caupi e lentilha, respectivamente quando comparados às amostras controle. A presença de taninos e ácido fítico no tegumento das sementes como inibidores demonstraram efeito redutor na absorção de Fe. A análise estatística confirmou que a porcentagem da biodisponibilidade de Fe apresentou correlação significativa ($p < 0,05$) e negativa com o ácido fítico, taninos e teor de fibra dietética total.

Hemalatha et al, (2007) relataram que a biodisponibilidade de Zn em grão de bico não foi afetada durante germinação por 24 e 48 horas. Reduções na biodisponibilidade de Zn foram observados em grãos de capim-pé-de-galinha (30 e 38%, respectivamente) e feijão verde (38 e 44%, respectivamente). Por outro lado, a germinação dos grãos apresentou aumento na biodisponibilidade de Fe em 38 e 62% (feijão verde), 37 e 39% (grão-de-bico), respectivamente. Os mesmos reportaram que o teor de fitato não foi afetado durante processo de germinação, enquanto taninos reduziram significativamente após os tempos analisados. Esta redução foi de 43 e 74% para feijão verde, 44 e 50% para grãos de capim-pé-de-galinha e 47% e 52% para grão-de-bico, respectivamente, após 24 e 48 horas de germinação. Para os autores, a redução na biodisponibilidade de Zn pode ser atribuída, mais ao efeito da hidratação do que da germinação. No estudo, a água que foi utilizada para a hidratação dos grãos não foi descartada. Assim, os grãos germinados utilizados para análise não foram destituídos dos fitatos solúvel que provavelmente foram lixiviados durante processo de maceração.

Chopra e Sankhala (2004) analisaram a influência da hidratação e germinação de *Dolichos biflorus* e *Phaseolus aconitifolius*, que são ricos em fitato e taninos, sobre a disponibilidade de Fe *in vitro*. A hidratação dessas leguminosas por 8 e 16 horas, reduziu os níveis de taninos e fitatos, porem a degradação desses antinutricionais somente foi acentuada após 24 horas de germinação. A disponibilidade *in vitro* de ferro aumentou significativamente após hidratação bem como após germinação dessas leguminosas.

Luo et al. (2009) ao investigarem os efeitos dos processamentos (hidratação, germinação e fermentação) sobre a disponibilidade de Fe *in vitro* e nos teores de ácido fítico em feijão fava observaram reduções significativas nos conteúdos de fitato após hidratação (tempos: 4, 8, 12 e 24 horas) e germinação (tempos: 24, 48, 72, 96 e 120 horas) com a evolução dos processos. No entanto, somente foi observado aumento na biodisponibilidade de ferro após 24 horas de hidratação e 120 horas de germinação.

Martinez et al. (2011) não encontraram melhora na disponibilidade de Fe em soja germinada por 48 horas. Os autores atribuíram a essa ausência de melhora na disponibilidade devido à pequena redução embora não significativa, nos teores de ácido fítico e também ao pequeno tempo de germinação utilizado.

Davidsson et al. (1994) observaram que a biodisponibilidade de Fe aumenta com a remoção de fitato, ou aumento no teor de ácido ascórbico em fórmulas infantis a base de soja.

Estudos sobre a diálise de minerais em leguminosas são escassos e normalmente difíceis de comparar porque são realizados por diferentes metodologias, em diferentes minerais (Ca, Fe, Zn, entre outros), diferentes leguminosas (feijão, grão de bico, lentilhas, ervilhas e soja) e os mais diversos tratamentos utilizados (cozimento, germinação, irradiação, extrusão, autoclave, entre outros).

Considerando que a dieta da população brasileira tem se mostrado muitas vezes inadequada em relação ao consumo de minerais, uma melhor compreensão da absorção, biodisponibilidade e dos fatores que podem influenciá-los, além de como otimizar o consumo desse nutriente por meio de fontes alimentares e melhor forma de suplementação, é importante para desenvolver estratégias que possibilitem a maior ingestão desses micronutrientes (PEREIRA et al., 2009).

Em grãos de soja são também importantes as vitaminas hidrossolúveis. O teor de tiamina (vitamina B₁), riboflavina (vitamina B₂) e vitamina B₆, representada pelos vitâmeros piridoxamina, piridoxal e piridoxina, no grão controle, irradiado e/ou germinado estão expostos na Tabela 15.

Tabela 15 - Teor de Vitaminas B₁, B₂, B₆ e seus respectivos vitâmeros (Piridoxamina, Piridoxal, Piridoxina) para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Tiamina (mg 100g ⁻¹)	Riboflavina (mg 100 g ⁻¹)	Piridoxina (mg 100g ⁻¹)	Piridoxal (mg 100g ⁻¹)	Piridoxamina (mg 100g ⁻¹)	Vitamina B ₆ Total (mg 100g ⁻¹)
0	0	0,22 ± 0,002 ^{ef}	0,41 ± 0,008 ^e	0,11 ± 0,007 ^{cd}	0,09 ± 0,002 ^a	0,12 ± 0,007 ^c	0,33 ± 0,01 ^{de}
0	48	0,42 ± 0,009 ^a	0,68 ± 0,02 ^b	0,14 ± 0,003 ^{ab}	0,07 ± 0,004 ^{abcd}	0,18 ± 0,006 ^{ab}	0,4 ± 0,008 ^c
0	72	0,25 ± 0,01 ^{de}	0,52 ± 0,002 ^d	0,15 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,0002 ^d	0,21 ± 0,006 ^a	0,44 ± 0,01 ^{ab}
0,025	0	0,17 ± 0,003 ^g	0,43 ± 0,01 ^e	0,11 ± 0,002 ^{cd}	0,08 ± 0,001 ^{abc}	0,13 ± 0,012 ^c	0,33 ± 0,01 ^{de}
0,025	48	0,32 ± 0,01 ^c	0,63 ± 0,0006 ^c	0,13 ± 0,003 ^{bcd}	0,07 ± 0,001 ^{abcd}	0,14 ± 0,003 ^{bc}	0,35 ± 0,002 ^{de}
0,025	72	0,23 ± 0,006 ^{def}	0,74 ± 0,01 ^a	0,14 ± 0,009 ^{ab}	0,06 ± 0,01 ^d	0,20 ± 0,03 ^a	0,45 ± 0,009 ^a
0,075	0	0,23 ± 0,004 ^{def}	0,41 ± 0,02 ^e	0,11 ± 0,003 ^{cd}	0,08 ± 0,002 ^{ab}	0,12 ± 0,005 ^c	0,32 ± 0,008 ^e
0,075	48	0,22 ± 0,009 ^f	0,61 ± 0,01 ^c	0,13 ± 0,002 ^{bc}	0,07 ± 0,002 ^{abcd}	0,15 ± 0,002 ^{bc}	0,35 ± 0,006 ^d
0,075	72	0,35 ± 0,01 ^b	0,68 ± 0,01 ^b	0,14 ± 0,009 ^{ab}	0,07 ± 0,002 ^{cd}	0,21 ± 0,013 ^a	0,41 ± 0,003 ^{bc}
0,15	0	0,21 ± 0,0003 ^f	0,39 ± 0,01 ^e	0,12 ± 0,005 ^{bcd}	0,09 ± 0,002 ^a	0,12 ± 0,002 ^c	0,33 ± 0,008 ^{de}
0,15	48	0,34 ± 0,004 ^{bc}	0,60 ± 0,02 ^c	0,13 ± 0,005 ^{bcd}	0,08 ± 0,005 ^{abcd}	0,15 ± 0,002 ^{bc}	0,35 ± 0,005 ^d
0,15	72	0,26 ± 0,007 ^d	0,76 ± 0,02 ^a	0,15 ± 0,007 ^a	0,07 ± 0,003 ^{bcd}	0,21 ± 0,006 ^a	0,44 ± 0,003 ^a

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa (p≤0,05), n=3.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 15, verifica-se que os teores de tiamina, riboflavina e vitamina B₆ total elevaram com a germinação. Com a evolução do processo germinativo foi verificado que os teores de Vitamina B₂ e B₆ aumentaram em média de 54% e 63% (B₂), 9% e 32% (B₆), após os tempos de 48 e 72 horas respectivamente.

Independente das doses de radiação utilizadas, não foi observado diferenças significativas quando comparados à amostra controle. Somente a dose de 0,025kGy observada na coluna de Vitamina B₁ diferiu estatisticamente da controle, porém como as maiores doses utilizadas, 0,075 e 0,150kGy não apresentaram efeito no conteúdo de tiamina, conclui-se que esta redução, de aproximadamente 23%, não foi decorrente do processo de irradiação.

Observou-se também que embora o processo de irradiação não apresente efeito sobre as vitaminas estudadas, ocorreram diferenças estatisticamente significativas no teor de riboflavina principalmente nas amostras após 72 horas de germinação.

Plaza et al. (2003) encontraram aumento de 4 vezes, 11,5 vezes e 2,65 vezes em broto de soja após 96 horas quando comparado ao grão controle, para vitamina B₁, B₂ e B₆, respectivamente. Na literatura foi observado que o conteúdo de tiamina em brotos foi ligeiramente maior, ou praticamente inalterado ou significativamente menor do que nos grãos crus.

O termo genérico vitamina B₆ é usado para designar todos os compostos derivados 3-hidroxi-2metilpiridina (SNELL, 1986), sendo os três vitâmeros, a piridoxina (PN), o piridoxal (PL) e a piridoxamina (PM). As três formas são igualmente eficazes na nutrição e a maior parte da vitamina B₆ nos alimentos está na forma de piridoxal e piridoxamina (VILLAVICENCIO, 1998).

Assim, quanto aos vitâmeros da vitamina B₆ verifica-se que a piridoxamina obteve maiores teores (Tabela 15) seguida de piridoxina e piridoxal. Piridoxina e piridoxamina tiveram seus teores elevados após germinação. Por outro lado, piridoxal apresentou redução, porém somente as amostras submetidas à germinação por 72 horas diferiram estatisticamente do controle.

Sierra et al. (1999) observaram que a germinação em grãos de ervilha por 2, 4 e 6 dias a 20°C e com lavagens diárias aumento de 2, 3 e 4 vezes, respectivamente, o

conteúdo total de Vitamina B₆. Em relação aos seus vitâmeros, notou-se que em ervilhas cruas a piridoxina foi a mais predominante seguida de piridoxamina e piridoxal. O conteúdo de piridoxal aumentou cerca de 7,5 vezes nas sementes germinadas após 6 dias. Também foi encontrada redução crescente no teor de tiamina. Já os teores de riboflavina apresentaram aumento significativo (22%, 75% e 97% nos tempos de 2, 4 e 6 dias, respectivamente) nas mesmas condições de germinação oferecidas.

Aslam et al. (2008) ao estudarem as condições *in vitro* (controladas) e *ex vitro* em grãos de bico germinados por 3, 5, 7, 9 e 11 dias observaram aumento linear nos teores de vitamina B₁ com a evolução da germinação, porém após o 11º dia do processo germinativo seus conteúdos começaram a reduzir. As vitaminas B₆ não foram detectadas até o terceiro dia do processo, no entanto, após esse período os grãos submetidos às condições *in vitro* mostraram aumento progressivo até os 9 dias da germinação. Os autores observaram que os teores de vitaminas do complexo B foram diretamente influenciados pelos períodos e condições de germinação estudada. Relataram que os teores de vitamina B₁ e B₂ foram elevados sob condições ambientais naturais e em contrapartida, a vitamina B₆ aumentou consideravelmente sob condições *in vitro*. Para os autores, estas variações nos teores de vitaminas podem ser decorrentes da intensidade de luz, que conseqüentemente regula as vias metabólicas de um determinado tipo de vitamina.

El-Adawy (2002) encontrou aumento de 16,15% e 3,57% nos teores de riboflavina e piridoxina, respectivamente, e diminuição de 37,5% no conteúdo de tiamina após 3 dias de germinação de grão de bico na ausência de luminosidade.

Vidal-Valverde et al. (2002) relataram reduções variando entre 2-8% nos teores de vitamina B₁ em feijão e lentilha. Em contrapartida o conteúdo de vitamina B₂ aumentou progressivamente durante a germinação (2, 4, 6 dias).

Abdullah e Baldew (1984) observaram aumento acentuado nos teores de tiamina, riboflavina e niacina após 3 dias de germinação em gaze úmida e lavagem 3 vezes ao dia, em soja e feijão. Prodanov et al. (1997) concluíram que o conteúdo de tiamina e riboflavina em lentilhas e feijões dependiam da freqüência de lavagem dos grãos, presença de luminosidade e tempo de germinação.

4.4 Conclusão

Pelo exposto, conclui-se que durante a germinação houve alterações em relação ao conteúdo mineral do grão, promovendo aumento nos teores de grande parte dos minerais analisados assim como de vitaminas B₁, B₂ e B₆. Os resultados referentes à disponibilidade de Ca, Fe, Zn e Mg, não apresentaram melhora com o processo de germinação devido às grandes variações na composição química dos grãos, às diferentes condições de germinação, às diversas metodologias analíticas empregadas e as diferentes variedade dos grãos até então estudados.

O processo de germinação provocou mudanças significativas na composição nutricional da soja e embora alguns desses aumentos sejam considerados aparentes, a soja germinada possui características nutricionais diferenciadas e qualidade superior em relação à soja controle, podendo oferecer mais nutrientes tanto em termos minerais, quanto vitamínicos para o organismo humano.

Referências

- ABDULLAH, A.; BALDWIM, R.E. Mineral and vitamin contents seeds and sprout of newly available small-seed soybean and simple of mungbeans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, n. 22, p. 656-657, 1984.
- ACHOURI, A.; BOYE, J.I.; BELANGER, D. Soybean isoflavones: efficacy of extraction condition and an effect of food type on extractability. **Food Research International**, Barking, v. 38, n. 10, p. 1199-1204, May 2005.
- AKINLOSOTU, A.; AKINYELE, I.O. Effect of germination on the Oligosaccharide and nutrient content of cowpeas (*Vigna unguiculata*), **Food Chemistry**, London, v. 39, n. 2, p. 157-165, 1991.
- ASLAM, J.; MOHAJIR, M.S.; KHAN, S.A.; KHAN, A.Q. HPLC analysis of water-soluble vitamins (B₁, B₂, B₃, B₅, B₆) in *in vitro* and *ex vitro* germinated chickpea (*Cicer arietinum* L.). **African Journal of Biotechnology**, Kenya, v. 7, n. 14, p. 2310-2314, 2008.
- AZEKE, M.A.; ELSANHOTY, R.M.; EGIELEWA, S.J.; EIGBOGBO, M.U. The effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of some Nigerian-grown grain legumes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, n. 1, p. 75–79, 2011.

BAU, H.M.; VILLAUME, C.; NICOLAS, J.P.; MÉJEAN, L. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 73, n. 1, p. 1-9, 1997.

BEEBE, S.; GONZALEZ, A. V.; RENGIFO, J. Research on trace element minerals in the common bean. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 21, p. 387-391, 2000.

BARRUETO-HONZÁLES, N.B. **Biodisponibilidade de cálcio, magnésio, cobre e zinco na soja (*Glycine max*) e em novas variedades de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*), obtidas por melhoramento genético clássico e sua relação com fatores antinutricionais não protéicos**. 2007. 122 p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

CARBONARO, M.; CAPPELLONI, M.; NICOLI, S.; LUCARINI, M.; CARNOVALE, E. Solubility-digestibility relationship of legume proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 9, p. 3387-3394, 1997.

CARVALHO, A.W. **Biodisponibilidade de ferro e qualidade protéica do cultivar de soja UFVNT 105AP com elevado teor protéico**. 2009. 100 p. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

CHAVAN, J.K.; KADAN, S.S. Nutritional improvement of cereals by sprouting. **Critical Reviews in Food Science and Technology**, London, v. 28, n. 5, p. 401-437, 1989.

CHOPRA, S.; SANKHALA, A. Effect of soaking and sprouting on tannin, phytate and in vitro iron in underutilized legumes – horse gram (*Dolichos biflorus*) and moth bean (*Phaseolus aconitifolius*). **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 41, p. 547–550, 2004.

COELHO, R.G.; DOMENE, S.M.A. Interações nutricionais. In: REIS, N.T. **Nutrição clínica interações fármaco x fármaco, fármaco x nutriente, nutriente x nutriente, fitoterápico x fármaco**. Rio de Janeiro; Rúbio, 2004. p.367-391.

COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 10, n. 2, p. 87-98, jul./dez.1997.

DAVE, S.; YADAV, B.K.; TARAFDAR, J.C. Phytate phosphorus and mineral changes during soaking, boiling and germination of legume and pearl millet. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 45, n. 4, p. 344-348, 2008.

DAVIDSSON, L.; GALAN, P.; KASTENMAYER, P.; CHEROUVRIER, F.; JUILLERAT, M.A.; HERCBERG, S.; HURRELL, R.F. Iron bioavailability studied in infants: the influence of phytic acid and ascorbic acid in infant formulas based on soy isolate. **Pediatric Research**, Baltimore, v. 36, n. 6, p. 816–822, 1994.

DESTRO, D.; MIRANDA, Z.F.S.; MARTINS, A.L.; MANDARINO, J.M.G.; MIRANDA, L.A.; SOUZA, H.M.; FAVARETO, R.; MONTALVÁN, R. Agronomic and chemical characterization of soybean genotypes for human consumption. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 4, p. 599-608, 2002.

DONANGELO, C.M.; TRUGO, L.C.; TRUGO, N.M.F.; EGGUM, B.O. Effect of germination of legume seeds on chemical composition and on protein and energy utilization in rats. **Food Chemistry**, London, v. 53, n. 1, p. 23-27, 1995.

EL-ADAWY, T.A. Nutritional composition factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 83-97, 2002.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. Agricultural Research Service. **National nutrient database for standard reference**: release 14. Washington, 2001.

ESTEVES, E.A.; MONTEIRO, J.B.R. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 43-52, 2001.

FACHMANN, W.; SOUCI, S.W.; KRAUT, H. **Food composition and nutrition tables**. Boca Raton: CRC Press, 2000. 1182 p.

GERMANO, R.M.A.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Importância do ferro em nutrição humana. **Nutrire – Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 24, p. 85-104, dez. 2002.

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 7, p.1292–1299, 2007.

GIBSON, R.S.; HOTZ, C.; TEMPLE, C.; YEUDALL, F.; MTITIMUNI, B.; FERGUSON, E. Dietary strategies to combat deficiencies of iron, zinc, and vitamin A in developing countries: development, implementation, monitoring, and evaluation. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 21, p. 219–231, 2000.

GRUSAK M. A. Enhancing mineral content in plant food products. **Journal of the American College of Nutrition**, New York, v. 21, n. 3, p. 178S-183S, 2002.

GRYNSPAN, F.; CHERYAN, M. Phytate-calcium interaction with soy protein. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 66, n. 1, p. 93-97, 1989.

HEGEMAN, C.E.; GOOD, L.L.; GRABAU, E.A. Expression of D-myo-inositol-3-phosphate synthase in soybean. Implications for phytic acid biosynthesis. **Plant Physiology**, Washington, v. 125, n. 4, p. 1941-1948, 2001.

HEMALATHA, S.; PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Influence of germination and fermentation on bioaccessibility of zinc and iron from food grains. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 61, n. 3, p. 342-348, 2007.

KAMCHAN, A.; PUWASTIEN, P.; SIRICHAKWAL, P. P.; KONGKACHUICHA, R. In vitro calcium bioavailability of vegetables, legumes and seeds. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 17, n. 3/4, p. 311-320, 2004.

KAUSHIK, G.; SATYA, S.; NAIK, S.N. Effect of domestic processing techniques on the nutritional quality of the soybean. **Mediterranean Journal of Nutrition Metabolism**, London, v. 3, n. 1, p. 39-46, 2010.

KOEHLER, H.H.; CHANG, C.H.; SCHEUR, G.; BURKE, D.W. Nutrient composition, protein quality, and sensory properties of thirty six cultivars of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n. 5, p. 1335-1340, 1987.

KUMAR, K.; VENKATARAMAN, L.; JAYA, T.; KRISHNAMURTHY, K. Cooking characteristics of some germinated legumes: changes in phytins, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ and pectins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n. 1, p. 85-88, 1978.

JYOTI, E.; REDDY, P.R. The effect of germination and cooking on the in vitro digestibility of starch in some legumes. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 23, p. 799-804, 1981.

LEE, C.K.; KARUNANITHY, R. Effect of germination on the chemical composition of *Glycine* and *Phaseolus* Beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 51, n. 4, p. 437-445, 1990.

LESTIENNE, I.; ICARD-VERNIERE, C.; MOUQUET, C.; PICQ, C.; TRECHE, S. Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chemistry**, London, v. 89, n. 3, p. 421-425, 2005.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology and utilization**. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999. 532 p.

LÓPEZ-AMORÓS, M.L. **Estudio de compuestos fenólicos em legumbres, influencia de la variedad y del proceso de germinacion**. 2000. 287 p. Tesis. (Doutorado em Ciências) – Universidade Autonoma de Madri, Madri, 2000.

LORENZ, K. Cereal sprouts: composition, nutritive value, food applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 13, n. 4, p. 353-385, 1980.

LUO, Y.; GU, Z.; HAN, Y.; CHEN, Z. The impact of processing on phytic acid, *in vitro* soluble iron and Phy/Femolar ratio of faba bean (*Vicia faba* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 89, n. 5, p. 861-866, 2009.

LUTEN, J.; CREWS, H.; FLYNN, A.; DAEL, P.V.; KASTENMAYER, P.; HURRELL, R.; DEEISTRA, H.; SHEN, L.H.; FAIRWEATHER-TALT, S.; HICKSON, K.; FARRÉ, R.; SCHIEMMER, U.; FROHLICH, W. Interlaboratory trial on the determination of the in vitro iron dialysability from food. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 72, n. 4, p. 415-424, 1996.

MANDARINO, J.M.G. Compostos antinutricionais da soja: caracterização e propriedades funcionais. In: COSTA, N.M.B.; PELUZIO, M.C. **Alimentos funcionais: benefícios para a saúde**. Viçosa: UFV, 2008. p. 55-80.

MARTINEZ, A.P.C.; MARTINEZ, P.C.C.; SOUZA, M.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Chemical change in soybean grains with germination. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 23-30, jan./mar. 2011.

MARTINEZ-DOMÍNGUEZ, B.M.; IBÁÑEZ GÓMES, M.V.; RINCÓN LÉON, R. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 52, n. 3, p. 219-231, 2002.

MEINERS, C.R.; DERISE, N.L.; LAU, H.C.; RITCHEY, S.J.; MURPHY, E.W. Proximate composition and yield of raw and cooked mature dry legumes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 24, n. 6, p. 1122-1125, 1976a.

MEINERS, C.R.; DERISE, N.L.; LAU, H.C.; CREWS, M.G.; RITCHEY, S.J.; MURPHY, E.W. The content of nine minerals elements in raw and cooked mature dry legumes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 24, n. 6, p. 1126-1130, 1976b.

MESSINA, M.J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **American Journal Clinical Nutrition**, New York, v. 70, p. 439S-450S, 1999. Supplement.

MELLO FILHO, O.L.; SEDIYAMA, C.S.; MOREIRA, M.A.; REIS, M.S.; MASSONI, G.A.; PIOVESAN, N.D. Grain yield and seed quality of soybean selected for high protein content. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 5, p. 445-450. 2004.

METIVIER, J.R. Dormência e germinação. In: FERRI, M.G. (Coord.). **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EPU; EDUSP, 1979. v. 2, cap. 12, p. 343-392.

MILLER, D.D. Mineral. In: FENNEMA, O.R. **Food chemistry**. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 618-649.

MOLTENI, A.; BRIZIO-MOLTENI, L.; PERSKY, V. *In vitro* hormonal effects of soybean isoflavones. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, n. 3, p. 751-756, 1995.

MONTEIRO, M.R.P.; MARTINO, H.S.D. Avaliação nutricional e sensorial do extrato hidrossolúvel da soja. **Revista Mineira de Enfermagem**, Belo Horizonte, v. 10, n. 2, p. 113-117, 2006.

MORESCHI, E.C.P. **Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos e avaliação da estabilidade de vitaminas hidrossolúveis em alimentos**. 2006. 220 p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

MUBARAK, A.E. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. **Food Chemistry**, London, v. 89, n. 4, p. 489-495, 2005.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. **Dietary reference intake, for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin d and fluoride**. Washington: National Academic Press; 1997. 432 p.

_____. **Dietary reference intake, for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate**. Washington: National Academic Press; 2004. 618 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington: National Academic Press, 2001. 381p.

NESTARES, T.; BARRIONUEVO, M.; LÓPES-FRÍAS, M.; VIDAL, C.; URBANO, G. Effect of different soaking solution on nutritive utilization of minerals (calcium, phosphorus, and magnesium) from cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in growing rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 515-520, 2003.

OLOYO, R.A. Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. **Food Chemistry**, London, v. 85, n. 4, p. 497–502, 2004.

PAUCAR MENACHO, L.M. **Influência do processo de germinação dos grãos de suas cultivares de soja BRS 133 e BRS 258 nos compostos bioativos da farinha integral de soja germinada**. 2009. 179 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Tecnologia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2009.

PEREIRA, G.A.P.; GENARO, P.S.; PINHEIRO, M.M.; SZEJNFELD, V.L.; MARTINI, L.A. Cálcio dietético – estratégias para otimizar o consumo. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 49, n. 2, p. 164-180, 2009.

PLAZA, L.; ANCOS, B.; CANO, M.P. Nutritional and health-related compounds in sprouts and seeds of soybean (*Glycine max*), wheat (*Triticum aestivum* L.) and alfalfa (*Medicago sativa*) treated by a new drying method. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 216, n. 2, p. 138-144, 2003.

PRESOTO, A.E.F.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Analysis of water-soluble vitamins and iron oat flours used as raw material in dry cereal food enriched. In: INTERNATIONAL CONGRESSO OF NUTRITION, 18., 2005, Durban. **Abstracts...**

PRODANOV, M.; SIERRA, I.; VIDAL-VALVERDE, C. Effect of germination on the thiamine, riboflavin and niacin contents in legumes. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 205, n. 1, p. 48-52, 1997.

RIBEIRO, M.L.L.; IDA, E.I.; OLIVEIRA, M.C.N. Efeito da germinação de soja CV. BR-13 e Paraná sobre ácido fítico, fósforo total e inibidores de tripsina. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 31-36, jan. 1999.

SANDBERG, A.S. Bioavailability of mineral in legumes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 88, suppl. 3, p. 281-285, 2002.

SANGRONIS, E.; MACHADO, C.J. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. **LWT Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 1, p. 116-120, 2007.

SARRUGE, J.R.; HAAG, N.P. **Análise química em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 59 p.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*. A review. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 21, n. 1, p. 41-93, 1984.

SEBASTIÁ, V.; BARBERÁ, R.; FARRÉ, R.; LAGARDA, M.J. Effects of legume processing on calcium, iron and zinc contents and dialysabilities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 81, n. 12, p. 1180-1185, 2001.

SHI, H.; NAM, P.K.; MA, Y. Comprehensive profiling of isoflavones, phytosterols, tocopherols, minerals, crude protein, lipid and sugar during soybean (*Glycine max*) germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 8, p. 4970-4976, 2010.

SIERRA, I.; VIDAL-VALVERDE, C. Kinetics of free and glycosylated B₆ vitamers, thiamin and riboflavin during germination of pea seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 79, n. 2, p. 307-310, 1999.

SNELL, E.E. Pyridoxal phosphate: history and nomenclature. In: DOLPHIN, D.; POULSON, R.; AVRAMOVIC, O. (Ed.). **Vitamin B₆ pyridoxal phosphate**. New York: John Wiley, 1986. pt. A: Chemical, biochemical and medical aspects, p. 1-12.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc Software: usage and referente**. 2nd ed. Cary, 1998. 2v.

SUBBULAKSMI, G.; GANESHKUMAR, K.; VENKATARAMAN, L.V. Effect of germination on the carbohydrate, proteins, trypsin inhibitor, amylase inhibitor and hemagglutinin in horsegram and Mothbean. **Nutrition Report International**, Los Altos, v. 13, n. 1, p. 19-31, 1976.

TRUGO, L.C.; DONANGELO, C.M.; TRUGO, N.M.F.; BACH-KNUDSEN, K.E. Effect of heart treatment on nutritional quality of germinated legume seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 6, p. 2082-2086, 2000.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 2. ed. Campinas: NEPA, UNICAMP, 2006. 113 p.

URBANO, G.; ARANDA, P.; GOMEZ-VILLALVA, E.; FREJNAGEL, S.; PORRES, J.M.; FRÍAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C.; LÓPEZ-JURADO, M. Nutritional evaluation of pea (*Pisum sativum* L.) protein diets after mild hydrothermal treatment and with and without added phytase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 8, p. 2415–2420, 2003.

URBANO, G.; LÓPEZ-JURADO, M.; FREINAGEL, S.; GOMEZ-VILLALVA, E.; PORRES, J.M.; FRIAS, J.; VIDAL-VALVERDE, C.; ARANDA, P. Nutritional assessment of raw and germinated pea (*Pisum sativum* L.) protein and carbohydrate by *in vitro* and *in vivo* techniques. **Nutrition**, New York, v. 21, n. 2, p. 230-239, 2005.

VAN DOKKUM, W. The concept of mineral bioavailability. In: PILAR VAQUERO, M.; GARCÍA-ARIAS, T.; CARVAJAL, A.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. (Ed.). **Bioavailability of micronutrients and minor dietary compounds**: metabolic and technological aspects. Kerela: Ed. Research Signpost, 2003. p. 1-18.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J. Changes in carbohydrates during germination of lentils. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, Tokyo, v. 194, n. 5, p. 461-464, 1992.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J.; SIERRA, I.; BLAZQUEZ, I.; LAMBEIN, F.; KUO, Y.H. New functional legume foods by germination: effect on nutritive value of beans, lentils and peas. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 215, n. 6, p. 472-477, 2002.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H. **Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ⁶⁰Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais dos feijões *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** 1998. 138 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

WHITTAKER, P.; SPIVEY FOX, M.R.; FORBES, A.L. *In vitro* prediction of iron bioavailability for food fortification. **Nutrition Report International**, Los Altos, v. 39, n. 6, p. 1205-1215, 1989.

ZHOU, E.; PAN, X. Determination of Ca, K and Mg in soybean meal, cottonseed meal and cotton shell by atomic absorption spectrometry. **Siliao Yanjiu**, Beijing, v. 4, p. 52–53, 2009.

ZHU, D.; HETTIARACHCHY, N.; HORAX, R.; CHEN, P. Isoflavone contents in germinated soybean seeds. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 60, n. 3, p. 147-151, 2005.

5 IMPACTO DA IRRADIAÇÃO E GERMINAÇÃO SOBRE OS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA SOJA (*Glycine max* Merrill) BRS216

Resumo

O consumo de soja tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, devido à suas propriedades funcionais com a presença de diversos compostos bioativos que, em determinadas concentrações, trazem benefícios para a saúde dos consumidores. O objetivo deste trabalho foi estudar a influências dos parâmetros tempo do processo de germinação e doses de radiação gama sobre a cultivar de soja BRS216, desenvolvida pela EMBRAPA, nos compostos fenólicos totais, clorofila, carotenóides e capacidade antioxidante de soja germinada e/ou irradiada. Os grãos foram irradiados com Cobalto⁶⁰, nas doses 0, 0,025; 0,075 e 0,15 kGy para estimular a germinação. Após o tratamento de irradiação ocorreu a germinação que foi realizada em temperatura e luminosidade ambiente durante 48 e 72 horas. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas e realizadas as análises de fenólicos totais, clorofila, carotenóides e a capacidade antioxidante determinado por DPPH e ABTS. Os resultados revelam que o processo de irradiação nas diferentes doses utilizadas não influenciou nas concentrações dos compostos analisados. Os teores de fenólicos totais apresentaram aumento estatisticamente significativo após 72 horas de germinação. A capacidade antioxidante da soja determinada pelo método ABTS⁺ apresentou valores superiores ao encontrado pelo método de DPPH, porém quando realizado teste de correlação de Pearson, alta correlação foi observado entre o método DPPH e o teor de fenólicos. Foi observado também aumento considerável, progressivo e significativo nos teores de clorofila e carotenóides durante a germinação dos grãos, o que evidencia, após realização do teste de coeficiente de Pearson, correlação alta e positiva entre a síntese desses componentes e processo germinativo. Contudo conclui-se que o consumo de soja germinada durante 72 horas associados aos mecanismos de defesa endógenos pode ser eficiente no combate de processos oxidativos naturais do organismo, que ocorrem devido às formas de oxigênio reativas denominadas “substâncias reativas oxigenadas” ou ROS, as quais englobam os radicais livres.

Palavras-chave: Soja BRS216; Tempo de germinação; Dose de radiação; Antioxidantes; Atividade antioxidante

Abstract

Soy consumption has increased considerably in recent years due to its functional properties, as it has several bioactive compounds that, at certain concentrations, benefit human health. The objective of this work was to study the effects of time of the germination process and gamma radiation on the soybean cultivar BRS216 developed by EMBRAPA, in terms of total phenolic compounds, chlorophyll, carotenoids and antioxidant capacity of germinated and/or irradiated soybean. The grains were irradiated with Cobalt⁶⁰ at doses 0, 0.025, 0.075 and 0.15 kGy to stimulate germination. After the irradiation treatment, germination occurred at room temperature and light for 48 and 72 hours. Then, the samples were frozen and lyophilized and analyses were carried out of

phenolic compounds, chlorophyll, carotenoids and antioxidant capacity determined by DPPH and ABTS. The results show that the irradiation process at different doses did not influence the concentrations of the compounds analyzed. The contents of phenolic compounds showed a statistically significant increase after 72 hours of germination. The antioxidant capacity of soybean determined by the ABTS⁺ method presented higher values than in the DPPH method, but when the Pearson correlation test was performed, a high correlation was observed between the DPPH method and phenolic content. A considerable, progressive and significant increase was also observed in contents of chlorophyll and carotenoids during the grain germination, which shows, after running the Pearson correlation test, a high positive correlation between the synthesis of these components and the germination process. Therefore, it was concluded that consumption of soybean germinated for 72 hours associated with the endogenous defense mechanisms can be effective in combating the natural oxidation processes of the body that occur due to oxygen reactive forms called “reactive oxygen substances” or ROS, which include the free radicals.

Keywords: Soybean BRS 216; Time of germination; Dose of radiation; Antioxidants; Antioxidant activity.

5.1 Introdução

Os seres humanos estão expostos a uma série de agentes oxidantes que podem causar danos oxidativos a biomoléculas (lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos) e estar envolvidos com a etiologia de várias patologias, incluindo doenças crônicas não transmissíveis (ZULUETA et al., 2006; HUANG; PRIOR, 2005). Assim, presume-se que a ingestão de antioxidantes capazes de neutralizar os radicais livres possa ter papel importante na prevenção de doenças (HARBORNE et al., 2000; FRITZ et al., 2003). A possibilidade de prevenir e/ou combater doenças por meio da dieta tem atraído a atenção, tanto na comunidade científica como das indústrias alimentícias, com o objetivo comum de desenvolver os atualmente conhecidos como “alimentos funcionais” ou alimentos ricos em um ou mais compostos bioativos que apresentam efeitos positivos na saúde humana (CASTILLO et al., 2000; KIKUZAKI et al., 2002; BARBOSA et al., 2006).

Deste modo, a mídia, nos últimos anos vem divulgando alimentos com alegação de saúde, dentre os quais, destaca-se a soja. O interesse por essa leguminosa como alimento tem aumentado em proporção considerável, devido evidências quanto ao seu potencial efeito na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e sintomas da menopausa (GENOVESE; HASSIMOTTO; LAJOLO,

2005). Suas características químicas e nutricionais a qualificam como alimento funcional, pois além de possuir proteína de alta qualidade, (HASLER, 1998), possuem compostos fitoquímicos e neutracêuticos, como isoflavonas, tocoferóis, fitoesteróis, saponinas, lunasina e compostos fenólicos que estão implicados na remoção de ROS (espécies reativas de oxigênio), quelação de íons metais e ativação de enzimas antioxidantes (SAKAC et al., 2000; TRIPATHI; MISRA, 2005). Concomitante as suas excelentes fontes de compostos bioativos e sua atividade antioxidante, a soja vem ganhando interesse no setor industrial, por desenvolver ingredientes para uso em alimentos funcionais e outras aplicações (LIN; LAI, 2006).

Baseado nas evidências da soja em ajudar a prevenir os riscos de doenças cardíacas, o FDA (Food and Drug Administration) aprovou a indicação no rótulo de que os produtos à base de soja trazem benefícios à saúde. Para isso, tais produtos necessitam apresentar teor de 6,25 g de proteína de soja por porção consumida, além de conter baixos teores de gordura saturada e colesterol. Esse valor equivale a $\frac{1}{4}$ (representando quatro refeições diárias) dos 25 g de proteína de soja considerados necessários para se promover à diminuição dos níveis de lipídios no sangue e ajudar a prevenir doenças cardíacas (ESTADOS UNIDOS, 2002).

Por definição, antioxidante é qualquer substância que, mesmo presente em baixas concentrações quando comparada ao substrato oxidável atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz (SITES; STAHL, 1995). Os antioxidantes exógenos estão naturalmente presentes nos alimentos e abrangem número relativamente grande de substâncias, as quais estão relacionadas a três grandes grupos: as vitaminas, os fenólicos e os carotenóides (SEIFFRIED et al., 2007; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997). Estes podem ser fisicamente classificados por sua solubilidade em: hidrofílicos, tais como ácido ascórbico e a maioria dos polifenóis, e lipofílicos, os quais incluem os carotenóides. Diferentemente dos hidrofílicos, que são excretados na urina, os antioxidantes lipofílicos se acumulam no corpo, penetram na membrana celular lipoprotéica mais facilmente e alcançam alto grau de biodisponibilidade (HALLIWELL, 1996).

Atualmente, está amplamente aceita a idéia de que a atividade antioxidante em soja está relacionada com seu alto teor de compostos fenólicos. Esses, sendo um dos

maiores grupos de componentes dietéticos não essenciais, têm suas pesquisas justificadas pela inibição de doenças crônico-degenerativas. A bioatividade dos fenólicos pode estar relacionada com o seu potencial efeito antioxidante, os quais são atribuídos as características como quelar metais, inibir a lipoxigenase e seqüestrar radicais (SCHUBERT; LANSKY; NEEMAN, 1999; ANGELO; JORGE, 2007). Outro nutriente reconhecido por apresentar propriedade antioxidante, são os carotenóides. Os carotenóides são pigmentos naturais que possuem um papel muito importante na fisiologia dos vegetais; conferindo-lhes cor e participando da fotossíntese, conjuntamente com a clorofila. Muitos dos carotenóides presentes nos vegetais apresentam atividade de pró-vitamina A e atividade antioxidante (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

No entanto, para melhorar a qualidade nutricional da soja e utilizá-la como alimento, há necessidade de remover alguns constituintes. Desta forma, alguns processamentos como moagem, hidratação, cozimento, fermentação, extração com solventes e germinação (RACKIS et al., 1979; BRESSANI, 1983; ABDULLAH et al., 1984; MOSTAFA; RAHMA, 1987; BELEIA et al., 1990) tem sido propostos como alternativa para melhorar essas qualidades nutricionais da soja (MOSTAFA; RAHMA, 1987)

Durante a germinação, ou seja, desenvolvimento do grão, alguns nutrientes de reserva são degradados e utilizados para a respiração e síntese de novos constituintes, causando alterações significativas nas características bioquímicas, nutricionais e sensoriais. Sabe-se que o processo de germinação geralmente melhora a qualidade nutricional não só pela redução dos compostos antinutricionais, mas também pelo aumento dos teores de aminoácidos, carboidratos, fibra alimentar e compostos bioativos (DANISOVA et al., 1995; URBANO et al., 1995; AYET et al., 1997; VIDAL-VALVERDE et al., 2002; VIDAL-VALVERDE et al., 2003). Conseqüentemente estes compostos, aumentam a funcionalidade e a capacidade antioxidante dos grãos (LÓPEZ-AMORÓS et al., 2006; FRIAS et al., 2002; VIDAL-VALVERDE et al., 2002).

Deste modo, o desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação da atividade antioxidante ou a quantificação de antioxidantes específicos em alimentos, tem sido justificado pela relevância comercial e farmacológica destes

aditivos com características extremamente importantes. Todavia, muitos métodos foram desenvolvidos e aplicados para determinar a capacidade antioxidante, que podem ser baseados no poder de redução do metal (FRAP - ferric reducing antioxidant power), na captura do radical orgânico (DPPH - 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl e ABTS - 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) na captura do radical peroxila (ORAC - Oxygen radical absorption capacity) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; KIM et al., 2002; OUT et al., 2002; RE et al., 1999; RUFINO et al., 2007; THAIPONG et al., 2006; VAN DEN BERG et al., 2001) e na quantificação dos produtos formados durante a peroxidação de lipídeos (TBARS, oxidação do LDL; co-oxidação do caroteno) (RUFINO et al., 2007). Dentre esses, os métodos colorimétricos mais utilizados são o DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) e o ABTS (sal de amônio do ácido 2,2-azinobis (3-etilbenzenotiazolina-6-sulfônico) (WOJDYLO; OSYMIANSKI; CZMERY, 2007). Ambos são caracterizados por sua excelente reprodutibilidade sob condições estabelecidas, porém podem mostrar diferenças significantes em suas respostas antioxidantes (KUSKOSKI et al., 2005).

A maioria dos métodos de determinação empregam o mesmo princípio: um composto radical sintético com coloração é gerado e a habilidade das amostras biológicas (antioxidantes) em neutralizar os radicais é monitorado por espectrofotômetro; com a aplicação de um padrão apropriado para quantificar a capacidade antioxidante, exemplo: capacidade antioxidante por equivalente de TROLOX (TEAC) ou capacidade antioxidante por equivalente de vitamina C (VCEAC) (FLOEGEL et al., 2011). O método ABTS é baseado através do monitoramento do decaimento do radical ABTS, produzido pela reação de oxidação do 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico - ABTS), causada pela adição de uma amostra contendo compostos antioxidantes (CAMPOS; LISSI, 1997). Por outro lado, o método do DPPH baseia-se na reação entre o antioxidante com o reagente DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), que converte-se em sua forma reduzida (1,1-difenil-2-picrilhidrazina). Nesta reação, a solução metanólica de DPPH, inicialmente de coloração violeta, torna-se amarelada e o grau de descoloramento indica a habilidade do antioxidante em sequestrar o radical livre (ABDILLE et al., 2005).

Estes métodos para a determinação da capacidade antioxidante por serem numerosos e estão sujeitos a interferências, além de se basearem em

fundamentos diversos. Dessa forma, atualmente preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente para determinar a atividade antioxidante irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (HUANG et al., 2005; PRIOR et al., 2005).

Além do processo de germinação, a irradiação também tem sido bastante estudada para verificar as alterações que este pode ocasionar no conteúdo de fitoquímicos em grãos de soja. Sabe-se que a irradiação gama tem sido vista como o melhor método para eliminar microorganismos patogênicos, prevenindo a deterioração e principalmente, não comprometendo as propriedades nutricionais e qualidade sensoriais dos alimentos (WHO, 1999). A utilização de baixas doses de radiação em alimentos é conhecido por aumentar a sua brotação e não na diminuição dos compostos indesejáveis presentes no grão (ZAKA et al., 2004). Isto ocorre, pois a radiação interage com a água presente no alimento e cria grande número de radicais com curta meias-vidas, dos quais os óxidos e peróxidos são normalmente os elementos finais. Óxidos e peróxidos atuam na matéria biológica provocando alterações, dentre as quais podemos destacar: iniciam a síntese de proteínas (PUNTARULO et al., 1988; MOON, 1985) e modificam o funcionamento da membrana. Este aumento no processo germinativo pode ser influenciado por fatores que incluem a espécie da planta, o estágio em que os tecidos das plantas foram irradiados e as condições ambientais em que ocorreu a irradiação (ZAKA et al., 2004).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o teor de fenólicos totais, carotenóides, clorofila e capacidade antioxidantes de grãos de soja germinados (48 e 72 horas) e irradiados (0,025; 0,075 e 0,150kGy) isolados e combinados.

5.2 Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil.

5.2.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada para a realização do experimento foi soja BRS216, desenvolvido pela EMBRAPA, Londrina, PR.

5.2.2 Irradiação

Os grãos foram irradiados no CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura), utilizando raios gama, provenientes do Cobalto⁶⁰, comercial, do tipo Gammacell, nas doses de 0; 0,025; 0,075 e 0,150 kGy com taxa de dose de 0,456 kGy h⁻¹ e posteriormente foram germinados. A quantidade da dose absorvida durante a irradiação foi medida através de dosímetro polimetilmetacrilato (PMMA – Red perspex). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, e a dose de radiação absorvida foi relatada quantitativamente no intervalo de 530 nm. Para analisar os grãos somente irradiados, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* com a finalidade de obtenção da farinha. Essa farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

5.2.3 Germinação

Para a germinação os grãos de soja sofreram imersão em 300mL de hipoclorito de sódio a 1% (v/v) por 20 min. Lavagem com água deionizada, hidratação dos grãos em 300mL de água deionizada por 8h à temperatura ambiente e ao final foi retirado o excesso de água. Após a hidratação os grãos foram mantidos no laboratório com temperatura e luminosidade ambiente. A germinação ocorreu durante os meses de novembro de 2009 até maio de 2010 com a temperatura variando na faixa entre 30°C a 18,5°C (temperatura média de 24,2°C) e a umidade relativa do ar média de 77,3%. A cada 8h as sementes eram umedecidas e agitadas levemente. As amostras foram recolhidas para análises após 48h e 72h de germinação. As amostras foram congeladas a -80° C durante um dia e posteriormente foram liofilizadas e trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* para a realização das análises. Após ser obtida, a farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

5.2.4 Tratamentos

Após os processos de irradiação e germinação, foram realizados os tratamentos:

T1- Grão controle	T5- Gão germinado 48 horas	T9- Grão germinado 72 horas
T2- Grão irradiado 0,025kGy	T6- Grão germinado 48 horas e irradiado 0,025kGy	T10- Gão germinado 72 horas e irradiado 0,025kGy
T3- Grão irradiado 0,075kGy	T7- Grão germinado 48 horas e irradiado 0,075kGy	T11- Grão germinado 72 horas e irradiado 0,075kGY
T4- Grão irradiado 0,150kGy	T8- Grão germinado 48 horas e irradiado 0,150kGy	T12- grão germinado 72 horas e irradiado 0,150kGY

Em seguida, os grãos de soja que foram germinados foram congelados para posterior liofilização. Após esta etapa, todas as amostras foram moídas em moinho até a obtenção de farelo.

5.2.5 Fenólicos Totais

O conteúdo total de fenólicos foi determinado por Desphande e Cheryan (1987) utilizando o reagente de Folin Ciocalteu, Carbonato de sódio anidro e catequina adicionadas de 2 mL de água destilada e 0,25 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos à temperatura ambiente, foram adicionados 0,25 mL de solução saturada de carbonato de sódio. Os tubos foram levados para o banho-maria a 37°C por 30 minutos para desenvolver coloração. Solução de catequina foi utilizada como padrão. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro.

5.2.6 Clorofila e Carotenóides Totais

A clorofila e os carotenóides totais foram avaliados de acordo com a metodologia de Lichtenthaler (1987), pesando-se aproximadamente 2 gramas da

amostra fresca triturada e acrescentando-se 8 mL de acetona a 80%. A seguir, a mistura foi centrifugada em 5000 rpm por 3 a 4 minutos. A leitura do sobrenadante realizou-se em espectrofotômetro a 663 nm (clorofila a), 646 nm (clorofila b) e 470 nm (carotenóides). Os dados foram calculados em $\mu\text{g mL}^{-1}$ para cada amostra.

Os teores de clorofila e carotenóides foram calculados pelas seguintes equações:

$$\text{Clorofila a (Ca)} = 12,25 \times A_{663} - 2,79 \times A_{646}$$

$$\text{Clorofila b (Cb)} = 21,50 \times A_{646} - 5,10 \times A_{663}$$

$$\text{Clorofila total (Ct)} = 7,15 \times A_{663} + 18,71 \times A_{646}$$

$$\text{Carotenóides (C)} = [1000 \times A_{470} - (1,82 \times \text{Ca} + 85,02 \times \text{Cb})]/198$$

Onde:

A_{663} , A_{646} e A_{470} = leitura no espectrofotômetro nos comprimentos de onda indicados

Ca = teor de clorofila a

Cb = teor de clorofila b

5.2.7 Atividade Antioxidante

5.2.7.1 Método DPPH

A capacidade antioxidante dos extratos da soja foi medida segundo método proposto por Brand-William; Cuvelier e Berset (1995), que se baseia na redução da absorbância a 517nm do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), por antioxidantes.

A solução de DPPH foi preparada de forma a apresentar absorbância em 517nm. Dependendo da amostra (maior poder antioxidante ou menor) pesou-se 0,8 gramas em Becker e dilui em 10 mL de metanol. Agitar em mesa agitadora por 15 minutos, e a seguir transferir em tubo de centrífuga. Centrifugar por 10 minutos a 2000 rpm. Pipeta-se 500 μL do sobrenadante em tubo de ensaio com 3 mL de etanol e 300 μL da solução DPPH. A reação foi mantida a temperatura ambiente por 15 minutos, no escuro. As leituras das absorbâncias serão realizadas em 517nm em espectrofotômetro. A absorbância das amostras (A_m) correlacionada à absorbância do controle (A_c) resulta na porcentagem de seqüestro de radicais livres (%SRL) que pode ser expressa pela seguinte fórmula. (SINGH; MURTH; JAYAPRAKASHA, 2002).

$$\%SRL = \left(\frac{Ac - Am}{Ac} \right) \times 100$$

5.2.7.2 Método ABTS

O padrão TEAC descrito por Berg et al. (1999) e Re et al. (1999) que usa a determinação dos valores de TEAC com algumas modificações, será utilizado. A TEAC será calculada em relação a solução de Trolox (Arts et al, 2004). A solução estoque de Trolox será diluída em 5 pontos (2,5 µM (1:799); 5 µM (1:399); 10 µM (1:199); 15 µM (1:132)) e a curva padrão será preparada.

5.2.8 Análise dos dados

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento para todas as análises químicas, sendo os resultados expressos em média±desvio-padrão. Foi realizada análise de variância pelo teste F e a comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos segundo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) através do programa *Software Statistical Analysis System* (SAS) (SAS, 1998). Fez-se também a correlação de Pearson, entre todas as variáveis estudadas com o processo de germinação e irradiação. A construção dos gráficos e tabelas foi feita pelo programa Excel (MICROSOFT OFFICE EXCEL, 2007).

5.3 Resultados e Discussão

A tabela 16 apresenta os valores de compostos fenólicos totais (mg g^{-1} em base seca) em grãos de soja submetidos à germinação e/ou irradiação e a amostra controle.

Tabela 16 - Médias obtidas referentes aos teores de compostos fenólicos totais (mg g^{-1} soja) em base seca, para os grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Teor Fenólicos Totais (mg g^{-1} amostra)
0	0	$2,29 \pm 0,04^c$
0	48	$2,70 \pm 0,2^{abc}$
0	72	$3,14 \pm 0,01^{ab}$
0,025	0	$2,56 \pm 0,21^c$
0,025	48	$2,69 \pm 0,1^{abc}$
0,025	72	$3,16 \pm 0,07^a$
0,075	0	$2,63 \pm 0,28^c$
0,075	48	$2,67 \pm 0,15^{bc}$
0,075	72	$3,17 \pm 0,02^a$
0,15	0	$2,57 \pm 0,3^c$
0,15	48	$2,68 \pm 0,07^{bc}$
0,15	72	$3,17 \pm 0,06^a$

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

Conforme dados apresentados na Tabela 16, aumento estatisticamente significativo no conteúdo de fenólicos totais foi observado somente após 72 horas de germinação quando relacionado à amostra controle. Vale ressaltar, que apesar de ter observado tendência no aumento do teor de fenólicos com a evolução do processo germinativo, os grãos de soja submetidos à germinação por 48 horas não diferiram ao nível de 5% de probabilidade das amostras irradiadas, controle, germinadas por 72 horas e germinadas por 72 horas/irradiada a 0,025 kGy.

Convertendo os resultados da amostra controle (Tabela 16) em base fresca, ou seja, aproximadamente 218 mg de fenólicos em 100 gramas de soja, verifica-se que os teores reportados por Genovese et al. (2005) estão muito próximo do valor aqui apresentado. Estes autores ao estudarem 14 variedades de soja brasileira e dentre elas a cultivar BRS216, desenvolvidas pela EMBRAPA, encontraram que a quantidade de fenólicos totais das amostras analisadas variou de 143 a 225 mg por 100 gramas de amostra fresca. Em especial, a soja BRS216, apresentou teor de 213 mg de fenólicos

totais em 100 gramas de amostra analisada. Por outro lado, este resultado (Tabela 16) diverge dos valores encontrados por Biscaro (2009) e Toledo et al. (2007), que relataram teor de $599\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ e variações de 508 a $593\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ de amostra fresca, respectivamente, em diferentes cultivares de soja. As concentrações de fenólicos totais expressas em base fresca podem ser influenciadas por alterações no conteúdo de umidade durante o processo de hidratação e germinação dos grãos, que poderá apresentar efeito de diluição sobre a síntese de compostos fenólicos. No entanto, quando os resultados são expressos em base seca, a umidade é eliminada e nenhum efeito de diluição é observado, o que explica o fato de, no presente estudo, as concentrações estarem todas expressas em base seca. Barbosa et al. (2006) ao quantificarem o teor de fenólicos totais em grãos de soja, encontraram que em 100 gramas de amostra em base seca continham 200 mg de fenólicos totais, valor este próximo ao encontrado no presente estudo, $229\text{ mg } 100\text{ g}^{-1}$. Amarowicz, Troszynska, Barylko-Pikielna e Shahidi (2004), Fernandez-Orozco, Zielinski e Piskula (2003), Madhujith, Naczek e Shahidi (2004), e Zielinski (2003) relataram valores de compostos fenólicos totais variando de 190 a $570\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ de amostra seca para diferentes leguminosas cruas, entre elas a soja.

O efeito da germinação sobre os compostos fenólicos, observado na Tabela 15, está de acordo com o estudo realizado por Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos (2010), que relataram durante fase de crescimento para a maioria dos grãos analisados, dentre eles a soja, que em média 59,7% dos fenólicos totais encontrados nos brotos (sete dias de germinação) foram sintetizados após hidratação dos grãos. Os mesmos autores também observaram que a fase de hidratação dos grãos, por 17 horas, mostrou-se ser um período ativo para a síntese de fenólicos. No entanto, esse aumento é justificável porque a síntese de fenólicos é necessária para a lignificação, ou seja, para o desenvolvimento e estrutura de todos os tecidos das plantas (RANDHIR; SHETTY, 2005), e como proteção contra fatores ambientais (CEVALLOS-CASALS; CISNEROS-ZAVALLOS, 2010).

Xu et al. (2009) ao quantificarem o teor de compostos fenólicos em aveia nos diferentes tempos de maceração (hidratação; 8h, 16h e 24 horas) e germinação (12, 24, 36 e 48 horas), observaram aumento gradual no conteúdo de fenólicos livres e

diminuições gradativas nos fenólicos ligados aos polissacarídeos das paredes celulares. Conseqüentemente, a somatória dos compostos fenólicos livres e ligados, mostraram aumento de 6,8% para 59% nos teores de fenólicos totais durante o final do processo de maceração até 48 horas de germinação, respectivamente. Para Kaukovirta-Norja, Wilhelmsson e Poutanem (2004) a germinação e hidratação podem produzir enzimas que rompem as paredes celulares liberando os fenólicos anteriormente ligados e resultando em aumento dos compostos fenólicos totais. Desta forma, conclui-se que o aumento dos fenólicos livres está associado à liberação dos fenólicos ligados durante os processos analisados.

Trosznska, Wolejszo e Narolewska (2006) relataram efeito da germinação altamente significativo sobre os teores de fenólicos em feijão mungo (*Vigna radiata* L.). O conteúdo de fenólicos aumentou proporcionalmente com a evolução do processo, atingido acréscimo de 49% e 56% após 48 e 72 horas. Efeito similar foi encontrado por Zielinsk (2003) o qual relatou que a germinação de *Glycine max* cv. *mazovia* causou aumento no teor de compostos fenólicos de 2,6 mg de catequina g⁻¹ de amostra para 3,1 mg de catequina g⁻¹ de amostra após 7 dias de germinação e por Dikshit & Ghadle (2003), que atribuíram a esse aumento à decomposição dos complexos polifenóis levando ao aumento na eficiência da extração dos compostos fenólicos totais em grãos de soja germinados. Contudo, o aumento no conteúdo de fenólicos tem mostrado papel potencialmente importante durante a germinação de sementes, bem como o reforço no valor nutracêutico das sementes por este processo (CEVALLOS-CASALS et al., 2010).

Em contraste, Randhir, Lin e Shetty (2004) verificaram que a germinação causou diminuição nos compostos fenólicos totais em grãos de *Vigna radiata* (feijão-mungo). Para Mwikya et al. (2001) a diminuição da quantidade do composto fenólico das leguminosas germinadas em curto prazo foi atribuída às perdas de compostos de pigmentação no tegumento, quando as sementes são embebidas e germinadas. Já o aumento deste composto está atribuído ao metabolismo bioquímico durante a germinação de sementes, que pode produzir metabólitos secundários, tais como antocianinas, flavonóides agliconas ou liberação de glicosídeos conjugados dos tegumentos e cotilédones devido à ativação enzimática (MWIKYA et al., 2001).

Baseando-se nos trabalhos citados, o aumento nos teores de fenólicos durante germinação foram superiores ao observado no presente estudo, o qual atingiu aumento de aproximadamente 18% e 37% após os períodos de 48 e 72 horas. Porém as diversidades das variações ocorridas nos compostos fenólicos durante germinação não são apenas dependentes do tipo e/ou cultivar dos grãos, mas também das condições de germinação pelos quais os grãos são submetidos, como presença ou ausência de luminosidade, tempo de germinação, temperatura e umidade relativa (LÓPEZ-AMORÓS et al., 2006). Além disso, a discrepância nos resultados pode ser também atribuída ao emprego de diferentes métodos de extração e estimativa de compostos fenólicos (por exemplo, tempo de extração, diferentes proporções metanol/água para a extração), usando diferentes cultivares de soja (por exemplo: diferenças genéticas) e o uso de diferentes padrões de compostos fenólicos para reportar a concentração (MACHADO et al., 2008).

Diferentemente do resultado encontrado (Tabela 16), Fernando-Orozco et al. (2008), observaram pequena redução, porém estatisticamente semelhantes, nos teores de fenólicos de *Glycine max* cv. *jutro* após 2 e 3 dias de germinação. Por outro lado, os mesmos observaram que a variedade de soja *Glycine max* cv *merit*, apresentaram comportamento divergente em relação à outra variedade estudada e anteriormente citada. Com a germinação, seus teores elevaram, porém foram estatisticamente diferente da amostra controle somente após o quarto dia do processo germinativo, atingindo aumento de 17% no 6º dia. É interessante relatar, que os autores encontraram valor médio de aproximadamente 30% superior ao teor reportado no presente estudo para a soja cru, com aumento de 3% e 4% após o segundo e terceiro dia do processo germinativo, respectivamente (3,06 e 3,10 mg g⁻¹ de amostra seca). Desta forma, nota-se que os compostos fenólicos após germinação apresentaram aumento inferior quando comparado à tabela 1, porém quando analisados os teores em mg g⁻¹ de amostra, verifica-se que no estudo realizado por Fernando-Orozco et al. (2008), esses teores foram 13% superior ao encontrado pelo presente estudo para sojas submetidas à germinação por 48 horas e 1,27% inferior às sojas germinadas a 72 horas.

Independente das doses de radiação utilizadas (0,025kGy; 0,075kGy e 0,150kGy – Tabela 16) observou-se que as alterações ocorridas no conteúdo de fenólicos totais após esse processo não diferiram estatisticamente da amostra controle. Comportamento diferente, porém em doses maiores do que utilizados no presente estudo, foi encontrado por Dixit et al. (2010) o qual analisou três genótipos indianos de soja, Kalitur (coloração preto), Hara (cor verde) e NRC37 (cor amarelo), irradiados nas doses de 0,5; 2,0 e 5,0 kGy. Os autores relataram aumento de 17%, 14% e 13% quando irradiados a 0,5kGy para o genótipo Kalitur, NRC37 e Hara, respectivamente. Na dose de 2kGy, o máximo aumento foi encontrado no genótipo Hara (38%), NRC37 (28%) e Kalitur (20%). No entanto, os três genótipos mostraram diminuições no conteúdo de fenólicos na dose mais alta, 5kGy. Variyar, Limaye e Sharma (2004) sugeriram que a irradiação induz à quebra de glicosídeos, resultando na liberação de compostos fenólicos livres, dentre eles isoflavonas, flavonóides e outros, que por sua vez têm suas quantidades aumentadas com a radiação, principalmente com doses maiores de 1kGy.

Resultados semelhantes foram encontrados por Villavicencio et al. (2000), Oigiangbe e Onigbinde (1996) e Pinn et al. (1993) que não observaram efeito da irradiação na concentração de composto fenólico para os feijões da variedade carioca e macaçar.

Assim, considerando a importância sob ponto de vista nutricional dos compostos fenólicos, é de grande valia seu aumento durante processo germinação, uma vez que têm sido associados à potencialização de efeitos promotores à saúde humana.

A tabela 17 mostra os valores encontrados para a atividade antioxidante da soja BRS216, com os métodos DPPH (equivalentes em μl de trolox por grama de amostra) e ABTS (equivalentes em μmol por grama de amostra).

Tabela 17 - Atividade antioxidante ($\mu\text{Mol Trolox g}^{-1}$) determinada pelos métodos DPPH e ABTS de extratos metanólicos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e a soja controle (base fresca, média $\pm$ desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	ABTS	DPPH
		$\mu\text{m de TROLOX g}^{-1}$ amostra	$\mu\text{m de TROLOX g}^{-1}$ amostra
0	0	$4,66 \pm 0,27^c$	$0,62 \pm 0,008^c$
0	48	$6,07 \pm 0,47^b$	$0,64 \pm 0,05^c$
0	72	$7,06 \pm 0,34^{ab}$	$0,81 \pm 0,01^{ab}$
0,025	0	$4,69 \pm 0,67^c$	$0,62 \pm 0,019^c$
0,025	48	$6,72 \pm 0,19^{ab}$	$0,63 \pm 0,04^c$
0,025	72	$6,50 \pm 0,42^b$	$0,80 \pm 0,05^{ab}$
0,075	0	$3,67 \pm 0,36^c$	$0,64 \pm 0,015^c$
0,075	48	$5,98 \pm 0,75^b$	$0,64 \pm 0,03^c$
0,075	72	$7,77 \pm 0,03^a$	$0,75 \pm 0,04^b$
0,15	0	$4,21 \pm 0,2^c$	$0,62 \pm 0,03^c$
0,15	48	$6,30 \pm 0,42^b$	$0,65 \pm 0,007^c$
0,15	72	$6,33 \pm 0,10^b$	$0,88 \pm 0,001^a$

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

A capacidade antioxidante da soja determinada pelo método ABTS⁺ apresentou valores superiores ao encontrado pelo método de DPPH (Tabela 17). Esta discrepância nos resultados podem ser devido às características e ao mecanismo de ação dos compostos bioativos e a metodologia utilizada para avaliar a sua propriedade antioxidante (MELO et al., 2006). No entanto, para ambos os métodos houve aumento na atividade antioxidante da soja após processo de germinação, não encontrando alterações estatisticamente significativas quando submetidos às doses de radiação. Ao realizar teste de coeficiente de Pearson, o qual mede o grau de correlação entre duas variáveis, notou-se correlação alta e positiva entre a atividade atioxidante, determinado pelos método ABTS e DPPH e processo germinativo ($r= 0,99$ e $0,78$, respectivamente). Por outro lado, a irradiação apresentou pequena interação negativa com este componente ($r= -0,72$ e $-0,46$, para os métodos ABTS e DPPH, respectivamente).

Ao avaliar a capacidade sequestrante do DPPH·, verificou-se que o aumento da atividade antioxidante durante germinação somente foi considerado estatisticamente significativo ($p < 0,05$) após 72 horas do processo germinativo. Em contraste, no método de ABTS⁺ para ambos os tempos, 48 e 72 horas, foram estatisticamente diferentes da amostra controle, porém semelhantes entre si, revelando tendência aparente no aumento da atividade antioxidante das sojas germinadas com a evolução do processo.

As alterações ocorridas durante germinação, nos teores de fenólicos totais, carotenóides, isoflavonas, vitaminas e outros compostos com características antioxidantes refletem no poder redutor da amostra analisada (LIN & LAI, 2006). Estas modificações podem ser atribuídas ao metabolismo bioquímico das sementes durante o processo germinativo, produzindo alguns metabólitos secundários de plantas, tais como antocianinas e flavonóides ou a liberação de agliconas a partir dos glicosídeos conjugados pela ativação enzimática (RANDHIR; LIN; SHETTY, 2004). Deste modo, foi observado no presente estudo, aumento progressivo nos teores de fenólicos totais (Tabela 16) e carotenóides (Tabela 18) com a evolução do processo de germinação. Os aumentos nos compostos antioxidantes conseqüentemente refletem no maior poder redutor das amostras germinadas nos tempos de 48 e 72 horas.

Barbosa et al. (2006) estudando os teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados encontraram que o grão cru apresenta atividade antioxidante de 3,7 μmol equivalentes de Trolox por grama de amostra. Este valor é inferior ao encontrado no presente estudo, que foi de 4,66 μmol equivalentes de Trolox.g⁻¹ amostra. Porém vale ressaltar que a metodologia utilizada por Barbosa et al., (2006) fundamenta-se na descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico, diferindo das metodologias aqui utilizadas, DPPH· e ABTS⁺.

Efeito do processo de germinação na atividade antioxidante de leguminosas, foram reportados por Fernandez-Orozco et al. (2008) que observaram que os grãos de soja cultivar *Glycine max* cv. *jutro* e *Glycine max* cv. *merit* apresentaram valores iniciais de 3,2 e 2,9 μmol trolo g⁻¹ de amostra base seca com significativo aumento ($p \leq 0,05$) de 28% e 70% após 4 e 6 dias de germinação, respectivamente pelo método

PRTC (Peroxil radical trapping capacity). Método este específico para determinação de radicais peroxil, que estão implicados na oxidação do ácido graxo. Os mesmo autores também avaliaram valores de TEAC os quais encontraram teores iniciais de 37,3 e 63 μmol de trolox por g de amostra seca com aumento de 8-11% após 4 dias e 10-14% após 6 dias para *Glycine max* cv. *jutro* e *Glycine max* cv. *merit*, respectivamente. López-Amorós, Hernández e Estrella (2006) também reportaram aumento na capacidade antioxidante, pelo método de DPPH, em ervilha, feijão e lentilha após 4 e 6 dias do processo germinativo. Para os mesmos, tempo de germinação e luminosidade são fatores que podem influenciar nesta capacidade. Os resultados sugerem que juntamente com os compostos fenólicos as leguminosas contêm outros compostos bioativos em diferentes concentrações que também afetam a atividade antioxidante dos grãos (PRODANOV et al., 1998; ATIENZA et al., 1999). Estes podem exercer efeito sinérgico entre si e com compostos fenólicos, o que justifica as possíveis disparidade na atividade antioxidantes das diferentes leguminosas (LÓPEZ-AMORÓS; HERNÁNDEZ; ESTRELLA, 2006).

Lin e Lai (2006) observaram que o método DPPH obteve boa repetibilidade para determinar a atividade antioxidante de sete diferentes variedades de soja. Assim como observado na Tabela 16, os mesmos autores também relataram que alguns desses cultivares apresentaram aumento significativo na capacidade antioxidante após 1 e 4 dias de germinação.

A difícil comparação dos resultados de atividade antioxidante de diferentes autores é devido a utilização de protocolos que variam na concentração inicial do radical (22,5-250 μM), tempo de reação (5-60min), solvente e pH reacional, que afetam o resultado obtido e por consequência tornam difícil essa comparação válida entre os resultados (SHARMA et al., 2009).

Atualmente, esta amplamente aceita a idéia de que a atividade antioxidante em alimentos está relacionada com a presença do alto teor de compostos fenólicos totais. No presente estudo foi encontrada alta correlação, acima de 0,7 entre a atividade antioxidante avaliada pelo método DPPH (nível de significância menor que 0,0001) e o teor de fenólicos totais, o que demonstra a importância dos compostos fenólicos como agentes antioxidantes e com potencial na redução do risco de desenvolvimento de

doenças crônicas. Para o método ABTS, essa correlação foi de 0,59 com nível de significância de 0,0001. Nesse sentido, é possível inferir que os compostos fenólicos têm grande importância no comportamento antioxidante de amostras germinadas de soja e contribuem significativamente para a capacidade antioxidante total. Verificou-se que os maiores teores de compostos fenólicos nas amostras germinadas a 72 horas, proporcionaram maior capacidade antioxidante, seguido das amostras submetidas à germinação por 48 horas.

Genovese, Hassimoto e Lajolo (2005) estudando 14 variedades de soja da EMBRAPA, observaram variação na atividade antioxidante de 184 a 239mg equivalente de catequina por 100 gramas de soja entre as amostras. Além disso, ao contrário do presente estudo, verificaram que não existia correlação entre o conteúdo de fenólicos totais das amostras e sua atividade antioxidante, porém eles concluíram que essa falta de correlação por ter ocorrido pela metodologia utilizada para avaliar a atividade antioxidante, que se baseava na habilidade das amostras em inibir a descoloração do B-caroteno, causada pela geração de radicais livres durante a peroxidação do ácido linolênico.

Concordando com os resultados aqui encontrados, Barbosa et al. (2006) também encontraram alta correlação, acima de 0,7, entre a atividade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH e sistema co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico e o teor de flavonóides e fenólicos totais em grãos de soja e produtos derivados.

A tabela 18 apresenta os valores de clorofila total e carotenóides em grãos de soja BRS 216 submetidos ao processo de irradiação e/ou germinação e a amostra controle.

Tabela 18 - Teores de clorofila total e carotenóides ($\mu\text{g g}^{-1}$ de amostra) (base fresca, média $\pm$ desvio padrão), para soja BRS216 que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Clorofila ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Carotenóides ($\mu\text{g g}^{-1}$)
0	0	$0,59 \pm 0,03^e$	$6,98 \pm 0,46^{gh}$
0	48	$1,05 \pm 0,06^d$	$8,44 \pm 0,32^{def}$
0	72	$1,93 \pm 0,01^{ab}$	$18,81 \pm 0,12^a$
0,025	0	$0,88 \pm 0,26^{de}$	$6,71 \pm 0,74^h$
0,025	48	$0,96 \pm 0,02^d$	$8,63 \pm 0,78^{def}$
0,025	72	$1,58 \pm 0,04^{bc}$	$16,03 \pm 0,21^{bc}$
0,075	0	$0,77 \pm 0,22^{de}$	$8,26 \pm 0,72^{efg}$
0,075	48	$0,97 \pm 0,09^d$	$9,31 \pm 0,26^{de}$
0,075	72	$1,46 \pm 0,07^c$	$14,82 \pm 0,13^c$
0,15	0	$0,88 \pm 0,12^{de}$	$7,63 \pm 0,25^{fgh}$
0,15	48	$1,01 \pm 0,05^d$	$9,72 \pm 0,14^d$
0,15	72	$1,99 \pm 0,15^a$	$16,96 \pm 0,71^b$

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

É importante ressaltar que a análise de clorofila por pigmentos por espectrofotometria fornece dados relativos ao conteúdo total de pigmentos esverdeados, incluindo clorofila a, clorofila b e seus derivados, como feofitinas e feoforbídeos, e não diferencia individualmente entre os seus componentes, uma vez que seus espectros e máximos de absorbância são muito parecidos (BORRMAN, 2009). Assim, a tabela 18 revela que os teores de clorofila total variaram entre 0,59 a $1,99 \mu\text{g g}^{-1}$ de amostra. Mostrou-se também aumento considerável, progressivo e significativo nos teores de clorofila durante a germinação dos grãos, o que evidencia, após realização do teste de coeficiente de Pearson, correlação alta e positiva ($r=0,93$) entre a síntese de clorofila e processo germinativo. Por outro lado, as amostras submetidas somente ao processo de irradiação, não diferiram ao nível de 5% de probabilidade da amostra controle, porém foram também estatisticamente semelhantes a todas as amostras germinadas por 48 horas. Isso leva a concluir que houve pequena síntese no conteúdo de clorofilas nos grãos irradiados, porém esse aumento não foi

suficiente para ser estatisticamente significativa. Os resultados relacionados ao efeito da germinação sobre os conteúdos de clorofila estão em concordância com os reportados por Padmaja et al. (1990) que verificaram aumento no teor deste composto até o quarto dia de germinação permanecendo constante no quinto dia do processo germinativo de grãos de feijão mungo.

Apesar de encontrar diversos estudos envolvendo teores de clorofila nos grãos, os resultados são de difícil comparação devido à escassa literatura referente à germinação caseira de soja para consumo humano e as supostas influências que este processo pode ocasionar no teor de clorofilas. Neste caso, foram encontrados artigos relacionando teor de clorofila à parâmetros agrônômicos, e não especificamente, ao processo de germinação. Assim, são necessárias mais pesquisas à respeito desse assunto, visto a precariedade de estudos nesta área.

Além disso, existem poucos trabalhos científicos que correlacionam a ingestão de clorofila com algum efeito benéfico sobre a saúde humana. Desde então, os estudos publicados atribuem a este componente, a atividades antioxidante, antimutagênica e anticarcinogênica, mas até o momento não existem provas concludentes de que a clorofila ou seus derivados realmente estejam envolvidos com a inibição ou retardo de doenças crônico-degenerativas (BOTTING et al., 1999; LAI et al., 1980; YEN et al., 2001). Isso porque, infelizmente, os trabalhos que relatam efeitos benéficos à saúde humana trazidos pela ingestão de principalmente vegetais foram realizados com extratos vegetais e não com a clorofila isolada e a escassez de investigações mais aprofundadas com a clorofila em si deve ser atribuída, ao menos parcialmente à reduzida estabilidade química dessa substância (LANFER-MARQUEZ, 2003).

Quanto ao teor de carotenóides totais em soja BRS216 verificou-se que, assim como observado para o composto clorofila, a germinação promoveu o aumento de aproximadamente 20% e 170% após 48 e 72 horas do processo. De modo geral, as amostras germinadas, em ambos os tempos, diferiram estatisticamente entre si e da amostra controle. Em contrapartida, a irradiação não apresentou efeito significativo neste composto, já que não foi evidenciada diferença estatística quando comparados à soja controle. Somente a amostra irradiada na dose de 0,075kGy apresentou efeito

contraditório às outras doses de radiação utilizadas, porém conclui-se que a ausência de alterações no teor de clorofila em dose maior, ou seja 0,150kGy, leva a acreditar que pode ter ocorrido erros analíticos durante a determinação de carotenóides. Para visualizar esses resultados com maior clareza foi realizado teste de coeficiente de Pearson, que encontrou correlação alta e positiva entre teor de carotenóides e processo de germinação ($r=0,82$) e correlação baixa e positiva entre irradiação e carotenóides ($r=0,60$).

Khattak, Zeb e Bibi (2008) ao estudarem o impacto do tempo de germinação (0, 24, 48, 72 e 96 horas) e tipo de iluminação (preto, fluorescente, amarelo, verde, azul e vermelho) sobre o conteúdo de β -caroteno em grão-de-bico irradiado a 3 Krad, verificaram aumento significativo com o progresso do processo germinativo. Maior conteúdo de β -caroteno foi observado para os brotos germinados sob luminosidade amarelo durante 72 horas e menores teores para os grupos de amostras submetidas à luz azul após 120 horas de germinação. O grupo de brotos irradiados, obtiveram conteúdos mais elevados de β -caroteno durante todo o período de germinação analisado.

Há numerosos estudos com carotenóides, porém a ausência de trabalhos empregando o efeito da germinação no conteúdo de carotenóides em leguminosas levou a optar por utilizar artigos empregando trigo germinado e broto de brócolis.

Concordando com os resultados aqui encontrados, Yang; Basu; Ooraikul (2001) também relataram aumento progressivo na concentração de β -caroteno em trigos germinados na ausência de luz e condições de germinação controladas durante um período de 9 dias.

Waje et al (2009) ao avaliarem os efeitos das diferentes doses de radiação sobre a germinação de sementes de brócolis na composição de carotenóides e clorofila, verificaram que os teores desses compostos aumentaram durante a germinação, e conseqüentemente contribuíram para a coloração verde e amarelo observado nos brotos. Inicialmente o conteúdo de carotenóides foi afetado pela irradiação das sementes, mas no último dia do processo germinativo (11º dia), o teor de carotenóides em brotos irradiados a 1 e 3kGy não diferiram estatisticamente dos brotos controle. Todavia, as sementes tratadas com 5kGy apresentaram teor de carotenóides

inferior do que sementes não irradiadas. Quanto ao teor de clorofila em broto de brócolis, os mesmos não encontraram significativo efeito da irradiação na dose de 1kGy no conteúdo deste composto. Somente foi notado considerável diminuição no teor de clorofila com doses de 3 e 5kGy. Para sementes de alfafa Fan et al. (2003) verificaram que a irradiação não afetou o conteúdo de clorofila nos brotos.

Com isso, esses dados demonstram que os valores encontrados neste trabalho correspondente ao processo de germinação são bastante satisfatórios sobre os teores deste composto, porém a ausência de literatura com este tipo de alimento impede maiores considerações e analogias.

5.4 Conclusão

A caracterização físico-química do cultivar soja BRS216 permitiu concluir que a germinação promoveu alterações significativas nos teores de fenólicos totais, clorofila e carotenóides, principalmente após 72 horas do processo. A partir desse aumento nos compostos antioxidantes houve também melhora na qualidade e na funcionalidade desta leguminosa, relativa à capacidade antioxidante da mesma.

Referências

ABDULLAH, A.; BALDWIN, R.E.; MINOR, H. Germination effects on flatus-causing factors and antinutrients of mungbeans and two strains of small seeds soybeans. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 47, n. 6, p. 441-444, 1984.

ABDILLE, M.D.H.; SINGH, R.P.; JAYAPRAKASHA, G.K.; JENA, B.S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 4, p. 891-896, 2005.

AMAROWICZ, R.; TROSZNSKA, A.; BARYLKO-PIKIELNA, N.; SHAHIDI, F.. Polyphenolics extracts from legume seeds: Correlations between total antioxidant activity, total Phenolics content, tannins content and astringency. **Journal of Food Lipids**, St Johns, v. 11, n. 4, p. 278-286, 2004.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ATIENZA, J.; SANZ, M.; HERGUEDAS, A.; ALEJOS, J.A.; JIMENEZ, J.J. Beta-caroteno alfa-tocoferol and gamma-tocoferol contents in dry legumes. Influence of cooking. **Food Science and Technology International**, London, v. 4, n. 6, p. 437-441, 1999.

AYET, G.; BURBANO, C.; CUADRADO, C.; PEDROSA, M.M.; ROBREDO, L.M.; MUZQUIZ, M.; CUADRA, C.; CASTAÑO, A.; OSAGIS, A. Effect of germination, under different environmental conditions, on saponins, phytic acid and tannins in lentils (*Lens culinaris*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 74, n. 2, p. 273-278, 1997.

BARBOSA, A.C.L.; HASSIMOTTO, N.M.A.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante de soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 921-926, 2006.

BAU, H.M.; VILLAUME, C.; NICOLAS, J.P.; MÉJEAN, L. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 73, n. 1, p. 1-9, 1997.

BELÉIA, A.; IDA, E.L.; LETHI, T.T. Distribuição de fósforo e ácido fítico durante o processamento de extrato hidrossolúvel de soja. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 33, n. 4, p. 623-629, 1990.

BENINGER, C.W.; HOSFIELD, G.L. Antioxidant activity extracts condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 27, p. 7879-7883, 2003.

BERG, V. D.; HAENEN, G.R.M.M.; BERG, H.V.D.; BAST, A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. **Food Chemistry**, London, v. 66, n.4, p. 511-517, 1999.

BISCARO, L.M. **Efeitos da irradiação gama e da cocção sobre aspectos físicos, químicos e sensoriais de cultivares de soja (*Glycine Max*) com e sem lipoxigenase**. 2009. 131 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BORRMANN, D. **Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores**. 2009. 125 p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BOTTING, K.J.; YOUNG, M.M.; PEARSON, A.E.; HARRIS, P.J.; FERGUSON, L.R. Antimutagens in foodplants eaten by Polynesians, micronutrients, phytochemicals and protection against bacterial mutagenicity of the heterocyclic amine 2-amino-3-methylimidazol[4,5-f]quinoline. **Food and Chemical Toxicology**, Amsterdam, v. 37, p. 95-103, 1999.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT. Food Science and Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRESSANI, R. Effect of chemical changes during storage and processing on the nutritional quality on common beans. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 5, n.1, p. 23-24, 1983.

CAMPOS, A.M.; LISSI, E.A. Kinetics of the reaction between 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) derived radical cations and phenols. **International Journal of Chemical Kinetics**, New York, v. 29, n. 3, p. 219-224, 1997.

CASTILLO, J.J.; BENAVENTE-GARCIA, O.; LORENTE, J.; ALCARAZ, M.; REDONDO, A.; ORTUNO, A.; DELRIO, J.A. Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced in vivo by X-rays of flavan-3-ols (procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 5, p. 1738-1745, 2000.

CEVALLOS-CASALS, B.A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 4, p. 1485-1490, 2010.

DANISOVA, C.; HOLOTNAKOVA, E.; HOZOVA, B.; BUCHTOVA, V. Effect of germination on a range of nutrients of selected grains and legumes. **Acta Alimentaria**, Budapest, v. 23, n. 3, p. 287-298, 1995.

DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M. Determination of phenolic compounds of dry beans using vanilin, redox and precipitation assays. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n. 2, p. 332-334, 1987.

DIKSHIT, M.; GHADLE, M. Effect of sprouting on nutrients, antinutrients and *in vitro* digestibility of the MACS-13 soybean variety. **Plants Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 58, n. 3, p. 1-11, 2003.

DIXIT, A.K.; BHATNAGAR, D.; KUMAR, V.; RANI, A.; MANJAYA, J.G.; BHATNAGAR, D. Gamma irradiation induced enhancement in isoflavones, total phenol, anthocyanin and antioxidant properties of varying seed coat colored soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 7, p. 4298-4302, 2010.

DUEÑAS, M.; HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I.; FERNÁNDEZ, D. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). **Food Chemistry**, London, v. 117, n. 4, p. 599-607, 2009.

ESTADOS UNIDOS. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. **Food labeling**: health claims: soy protein and risk of coronary heart

disease (CHD). 21 CFR Part 101. Revised April 2002. Disponível em <http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx_02/21cfr101_02.html>. Acesso em: 20 jun. 2011.

FAN, X.; RAJKOWSKI, K.T.; THAYER, D.W. Quality of alfalfa sprouts grown from irradiated seeds. **Journal of Food Quality**, Wastport, v. 26, p. 165–76, 2003.

FERNANDEZ-OROZCO, R.; ZIELINSKI, H.; PISKULA, M. Contribution of low molecular weight antioxidants to the antioxidant capacity of raw and processed lentil seeds. **Nahrung/Food**, Berlin, v. 47, n. 5, p. 291–299, 2003.

FERNANDEZ-OROZCO, R.; FRIAS, J.; ZIELINSKI, H.; PISKULA, M.K.; KOZLOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. emerald, *Glycine max* cv. *jutro* and *Glycine max* cv. *merit*. **Food Chemistry**, Londres, v. 111, n. 3, p. 622–630, 2008.

FLOEGEL, A.; KIM, D-O.; CHUNG, A-J.; KOO, S.I.; CHUN, O.K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, 2001.

FRÍAS, J.; FERNÁNDEZ-OROZCO, R.; ZIELINSKI, H.; PISKULA, M.; KOZLOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C. Effect of germination on the content of vitamin C and E of lentils. **Polish Journal of Food and Nutrition Science**, Poland, v. 11, n. 52, p. 76, 2002.

FRITZ, K.L.; SEPPANEM, C.M.; KURZER, M.S.; CSALLANY, A.S. The *in vivo* antioxidant activity of soybean isoflavones in human subjects. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 23, n. 4, p. 479-487, 2003.

GANDUL-ROJAS, B.; ROCA, M.; MÍNGUEZ-MOSQUETEIRA, M.I. Chlorophyll and carotenoid degradation mediated by thylakoid-associated peroxidative activity in olives (*Olea europaea*) cv. Hojiblanca. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 161, n. 5, p. 499-507, 2004.

GENOVESE, M.I.; HASSIMOTTO, N.M.A.; LAJOLO, F.M. Isoflavone profile and antioxidant activity of Brazilian soybean varieties. **Food Science and Technology International**, London, v. 11, n. 3, p. 205-211, 2005.

HALLIWEL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 16, p. 33-50, July 1996.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, Oxford, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HASLER, C.M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, Chicago, v. 52, n. 11, p. 63-70, 1998.

HUANG, D.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

KAUKOVIRTA,-NORJA, A.; WILHELMSSON, A.; POUTANEM, K. Germination: a means to improve the functionality of oat. **Agricultural and Food Science**, Jokioinen, v. 13, n. 1/2, p. 100-112, 2004.

KHATTAK, A.B.; ZEB, A.; BIBI, N. Impact of germination and type of illumination on carotenoid content, protein solubility and in vitro protein digestibility of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. **Food Chemistry**, London, v. 109, n. 4, p. 797-801, 2008.

KIKUZAKI, H.; HISAMOTO, M.; HIROSE, K.; AKIYAMA, K.; TANIGUCHI, H. Antioxidant properties of ferulic acid its related compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 7, p. 2161-2168, 2002.

KIM, D.O.; LEE, K.W.; LEE, H.J.; LEE, C.Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 13, p. 3713–3717, 2002.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.N.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicação de diversos método químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LAI, J.; BUTLER, M.A.; MATNEY, T. Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 77, p. 245-250, 1980.

LANFER-MARQUEZ, U.M. O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 227-242, jul./set. 2003.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomenbranes. **Methods in Enzymology**, Orlando, v. 148, n. 2, p. 346-382, 1987.

LIN, P.Y.; LAI, H.M. Bioactive compounds in legumes and their germinated products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 11, p. 3807-3814, 2006.

LÓPEZ-AMORÓS, M.L.; HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I. Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 4, p. 277-283, 2006.

MACHADO, C.M.; FERRUZZI, M.G.; NIELSEN, S.S. Impact of the hard-to-cook phenomenon on phenolic antioxidants in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 9, p. 3102-3110, 2008.

MADHUJITH, T.; NACZK, M.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Lipids**, St. Johns, v. 11, n. 3, p. 220–233, 2004.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C..S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

MOON, J.W. Theoretical physiological basis for radiation hormesis. In: CONFERENCE ON RADIATION HORMESIS, 1985, Oakland. **Proceedings...** p. 14-16.

MOSTAFA, M.M.; RAHMA, E.H. Chemical and nutritional changes in soybeans during germination, **Food Chemistry**, London, v. 23, p. 257-275, 1987.

MWIKYA, S.M.; CAMP, J.V.; RODRIGUEZ, R. HUYGHEBAERT, A. Effects of sprouting on nutrient and antinutrient composition of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* var. Rose coco). **European Food Research and Technology**, Berlim, v. 212, n. 2, p. 188-191, 2001.

NESTARES, T.; BARRIONUEVO, M.; LÓPES-FRÍAS, M.; VIDAL, C.; URBANO, G. Effect of different soaking solution on nutritive utilization of minerals (calcium, phosphorus, and magnesium) from cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in growing rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 2, p. 515-520, 2003.

OIGIANGBE, N.O.; ONIGBINDE, A.O. The association between some physico-chemical characteristics and susceptibility of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walk) to *Callosobruchus maculatus* (F.). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 7-11, 1996.

OKAI, Y.; HIGASHI-OKAI, K. Pheophytin a is a potent suppressor against genotoxin-induced umu C gene expression in *Salmonella typhimurium* (TA 1535/pSK 1002). **Journal of the Science of Food Agricultural**, London, v. 74, p. 531-535, 1997.

OUT, B.; HUANG, D.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.A.J.; DEEMER, E.K. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 11, p. 3122–3128, 2002.

PADMAJA, K.; PRASAD, D.D.K.; PRASAD, A.K.R. Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate. **Photosynthetica**, Dordrecht, v. 24, n. 3, p. 399-405, 1990.

PINN, A.B.O.; COLLI, C.; MANCINI-FILHO, J. Beans *Phaseolus vulgaris* irradiation. I. Iron bioavailability. In: Bioavailability 93. **Nutritional, Chemical and Food Processing Implications of Nutrient Availability**, Karlsruhe, BFE, 1993. v. 2, p. 195-199.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.

PRODANOV, M.; SIERRA, I.; VIDAL-VALVERDE, C. Effect of the germination on the thiamine, riboflavin and niacin contents in legumes. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 205, n. 1, p. 48-52, 1998.

PUNTARULO, S., SANCHES, R. A., BOVERIS, A. Hidrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination Pl. **Physiology**, Rockville, v. 86, n. 2, p. 626-630, 1988.

RACKIS, J.J.; SESSA, D.J.; HONIG, D.H. Flavor problems of vegetable food proteins. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 56, n. 3, p. 262-271, 1979.

RANDHIR, R.; SHETTY, K. Developmental stimulation of total phenolics and related antioxidant activity in light- and dark-germination corn by natural elicitors. **Process Biochemistry**, London, v. 40, n. 5, p. 1721-1732, 2005.

RANDHIR, R.; LIN, Y.; SHETTY, K. Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. **Process Biochemistry**, Londres, v. 39, n. 5, p. 637-646, 2004.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N.J.; PAGANDA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends of Plant Science**, New York, v. 2, n. 4, p. 152-159, 1997.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M. **HarvestPlus handbook for carotenoid analysis**. Washington: International Food Policy Research Institute; Cali: International Center for Tropical Agriculture, 2004. 58 p. (Technical Monograph Series, 2).

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Comunicado Técnico on line, Fortaleza, 2007. Disponível em <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Ct_127.pdf>. Acesso em: 28 jul. 2011.

SACAK, M.B.; DJILAR, S.M.; CANADANVIC-BRUNET, J.M. Antioxidants of soybean grain and full fat soybean seeds. **Niton Yuka Gakka Nenkaï**, Koen Yoshisha, v. 39, p. 160-163, 2000.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radicalscavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, London, v. 8, n.3, p. 121–137, 2002.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure tomeasure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food Agricultural**, London, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.

SCHUBERT, S.Y.; LANSKY, E.P.; NEEMAN, I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate oil and fermented juice flavonoids. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 66, n. 1, p. 11-17, 1999.

SEIFRIED, H.E.; ANDERSON, D.E.; FISHER, E.I.; MILNER, J.A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 18, n. 9, p. 567-579, 2007.

SHARMA, O.P.; BHAT, T.K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 4, p. 1202–1205, 2009.

SINGH, R.P.; MURTHY, K.N.C; JAYAPRAKASHA, G.K. Studies on the antioxidant activity of pomenagrade (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 1, p. 81-86, 2002.

SITES, C.K.; STAHL, W. Vitamins E and C, B-caroteno, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc Software**: usage and referente. 2nd ed. Cary, 1998. 2 v.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; HAWKINS BYRNE, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, n. 6/7, p. 669–675, 2006.

TOLEDO, T.C.F.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. PIEDADE, S.M.S. Effects of gamma radiation on total phenolics, trypsin and tannins inhibitors in soybean grains. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 1653–1656, 2007.

TRIPATHI, A.K.; MISRA, A.K. Soybean- a consummate functional food: a review. **Journal of Food Science and Technology**, London, v. 42, n. 2, p. 111-119, 2005.

TROSZYNSKA, A.; WOLEJSZO, A.; NAROLEWSKA, O. Effect of germination time on the content of phenolic compounds and sensory quality of mung bean (*Vigna radiata* L.) sprouts. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, Poland, v. 15/56, n.4, p. 453-459, 2006.

URBANO, G.; LÓPEZ-JURADO, M.; HERNÁNDEZ, J.; FERNÁNDEZ, M.; MOREN, M.C.; FRIAS, J.; DÍAZ-POLLAN, C.; PRODANOV, M.; VIDAL-VALVERDE, C. Nutritional assessment of raw, heated and germination lentils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 43, n. 7, p. 1871-1877, 1995.

VAN DEN BERG, R.; VAN VLIET, T.; BROEKMANS, W.M.; CNUBBEN, N.H.; VAES, W.H.; ROZA, L.; HAENEN, G.R.; BAST, A.; VAN DEN BERG, H. A vegetable/fruit concentrate with high antioxidant capacity has no effect on biomarkers of antioxidant status in male smokers. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 131, n. 6, p. 1714–1722, 2001.

VARIYAR, P.S.; LIMAYE, A.; SHARMA, A. Radiation-induced enhancement of antioxidant contents of soybean (*Glycine max* Merrill). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 11, p. 2285-3388, 2004.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRÍAS, J.; SIERRA, I.; BLAZQUEZ, I.; LAMBIEN, F.; KUO, Y-H. New functional legume food by germination. Effect on the nutritive value of beans, lentils and peas. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 215, n. 6, p. 472-476, 2002.

VIDAL-VALVERDE, C.; FRÍAS, J.; HERNÁNDEZ, A.; MARTÍN-ALVAREZ, P.J.; SIERRA, I.; RODRIGUEZ, C.; BLAZQUEZ, I.; VICENTE, G. Assessment of nutritive compounds and antinutritive factors in pea (*Pisum sativum*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 83, n. 4, p. 298-306, 2003.

VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI-FILHO, J.; DELINCÉE, H.; GREINER, R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 57, n. 3/6, p. 289-293, 2000.

WAJE, C.K.; JUN, S.Y.; LEE, Y.K.; DEOGMOON, K.; CHOI, Y.H.; HOKWON, J. Seed viability and functional properties of broccoli sprouts during germination and postharvest storage as affected by irradiation of seeds. **Journal of Food Science**, Chigaco, v. 74, n. 5, p. 370-374, 2009.

WOJDYLO, A.; OSYMIANSKI, J.; CZEMERYYS, R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chemistry**, London, v. 105, n. 3, p. 940-949, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **High dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy**. Geneva, 1999. p. 9-37. (Technical Report Series, 890).

XU, J.G.; TIAN, C.R.; HU, Q.P.; LUO, J.Y.; WANG, X.D.; TIAN, X.D. Dynamic changes in phenolic compounds and antioxidant activity in oats (*Avena nuda* L.) during steeping and germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 21, p. 10392-10398, 2009.

YANG, F.; BASU, T.K.; OORAIKUL, B. Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. **International Journal of Food Science and Nutrition**, Oxford, v. 52, n. 4, p. 319-330, 2001.

YEN, G.C.; DUH, P.D.; HUNG, Y.L. Contributions of major components to the antimutagenic effect of Hsian-tsao (*Mesona procumbens* Hemsl). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 49, p. 5000-5004, 2001.

ZAKA, R.; CHENAL, C.; MISSET, M.T. Effects of low doses of short-term gamma irradiation on growth and development through two generations of *Pisum sativum*. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 320, n. 2/3, p. 121-129, 2004.

ZIELINSKI, H. Contribution of low molecular weight antioxidants to the antioxidant screen of germinated soybean seeds. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 58, n. 3, p. 1–20, 2003.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M.J.; FRASQUET, I.; FRÍGOLA, A. Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. **Food Chemistry**, London, v. 103, n. 4, p. 1365-1374, 2006.

6 EFEITO DAS DIFERENTES DOSES DE IRRADIAÇÃO GAMA E TEMPO DE GERMINAÇÃO NOS ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E SENSORIAIS DE GRÃOS DE SOJA (*Glycine max* Merrill) CULTIVAR BRS 216

Resumo

A germinação de sementes para consumo humano é uma prática milenar no Oriente e, atualmente observa-se a expansão do consumo desse tipo de alimento no Ocidente a exemplo dos grãos do mungo-verde para a produção de brotos de feijão ("moyashi"), forma de consumo muito apreciada na China, no Japão e nos EUA. A produção dos brotos para o consumo humano, além de promover melhorias na qualidade nutricional e sensorial, conduz o homem ao aumento da produção de alimentos, paradoxalmente à constância de suas áreas. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da radiação ionizante e do processo de germinação, isolados e combinados, sobre os aspectos químicos, microbiológicos e sensoriais da soja cultivar BRS216. Os grãos foram irradiados com Cobalto⁶⁰, nas doses 0; 0,025; 0,075 e 0,150 kGy. Após o tratamento de irradiação ocorreu a germinação que foi realizada em temperatura e luminosidade ambiente durante 48 e 72 horas. Em seguida, as amostras foram congeladas e liofilizadas determinada a composição centesimal. Para a análise microbiológica e sensorial foram avaliados apenas as amostras controle, irradiadas nas doses 0,15kGy, germinadas no tempo de 48 e 72 horas/irradiada (0,15kGy) e germinada (48 e 72 horas). Na determinação da análise sensorial, foi aplicado o teste de aceitação, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos, segundo Meilgaard et al. (1999) e na prova microbiológica foi realizado o teste presuntivo para *Salmonella* e coliformes a 45°C. Os dados obtidos indicaram que o processo de germinação resultou no aumento dos teores de umidade em aproximadamente 7 vezes ao conteúdo inicial, pequenas alterações, porém estatisticamente semelhante ao grão controle nos teores de lipídeos e proteínas e diminuições nos teores de cinzas e carboidratos. Por outro lado, a irradiação não apresentou efeito estatisticamente significativo na composição química do grão. Em relação às provas microbiológicas verificaram que apenas a amostra germinada no tempo de 48h e irradiada na dose de 0,150kGy apresentou crescimento para coliformes totais. *Salmonella* e coliformes fecais não apresentaram crescimento nas amostras. Em relação à análise sensorial, foi observada baixa rejeição nas sojas germinadas, podendo ser utilizado na produção de brotos, como forma de complemento nutricional na dieta alimentar. Portanto, considerando a baixa rejeição apresentada na avaliação sensorial e as alterações na composição centesimal devido o processo de germinação, é possível sugerir que a soja, em estudo, pode ser utilizado para a produção de brotos alimentícios para consumo.

Palavras-chave: Soja BRS 216; Processo de germinação; Radiação gama; Composição centesimal; Análise sensorial

Abstract

The germination of seeds for human consumption is an ancient practice in the East and nowadays consumption of such food is on the rise in the West, for example, the green-mung beans used in the production of bean sprouts (“moyashi”), much appreciated in China, Japan and the USA. The production of sprouts for human consumption, besides promoting improvements in nutritional quality and sensory, leads humans to increase food production, as opposed to the increase of planting areas. Thus, this study aimed to evaluate the effect of ionizing radiation and the germination process, isolated and associated, on the chemical, microbiological and sensory aspects of the soybean cultivar BRS216. The grains were irradiated with Cobalt⁶⁰ at doses of 0; 0.025; 0.075 and 0.150 kGy. After the irradiation treatment, germination occurred at ambient temperature and light for 48 and 72 hours. Then, the samples were frozen and lyophilized and the centesimal composition was determined. For the microbiological and sensory analyses, only the control samples were evaluated, irradiated at 0.150 kGy, germinated in 48 and 72 hours/irradiated 0.150kGy and germinated (48 and 72 hours). The acceptance test was employed during the sensory analysis, using a hedonic scale of nine points, according to Meilgaard et al. (1999) and in the microbiological test, the presumptive analysis for *Salmonella* and coliforms at 45°C. The data indicated that the germination process resulted in an increased moisture content of approximately 7 times of the initial content, small changes, but statistically similar to the control grain in terms of contents of lipids and proteins and in a decrease in the ash and carbohydrates contents. On the other hand, irradiation showed no statistically significant effect on the chemical composition of the grain. Microbiological tests showed that only the sample germinated at 48 hours and irradiated at a dose of 0.150 kGy grew coliforms; however, below acceptable levels. *Salmonella* and fecal coliforms in the samples showed no growth. The sensory analysis showed low rejection of germinated soybeans that can be used in the production of sprouts, as a means of nutritional supplement in the diet. Therefore, considering the low rejection presented in sensory evaluation and chemical composition due to changes in the germination process, it is suggested that the soybean studied can be used to produce sprouts to be included in diets.

Keywords: Soybean BRS 216; Germination process; Gamma radiation; Composition and Sensorial analysis

6.1 Introdução

As leguminosas contêm alta concentração de proteínas, polissacarídeos (fibra alimentar e oligossacarídeos) e micronutrientes (vitaminas, macro e micro-elementos), que são recomendados como constituintes da alimentação diária (MESSINA, 1999). São também fontes de variedade de polifenóis, incluindo: fenólicos, flavonóides, e taninos, que são considerados antioxidantes naturais (AMAROWICZ et al., 2004; PRIOR; GU, 2005; TROSZYNSKA et al., 2002). Com essas características, as leguminosas têm desempenhado efeitos positivos na prevenção de diversas doenças crônico não transmissível, os quais são um dos principais problemas de saúde pública

nos países ocidentais (CLIFFORD; SCALBERT, 2000; HARBONE; WILLIAMS, 2000; MONTEIRO et al., 2004; YANG et al., 1998; TROSZYNSKA et al., 2006).

Devido à imagem negativa do uso de medicamentos, e incertezas associadas à eficiência dos suplementos, a procura por alimentos de efeito benéfico à saúde tem se tornado bastante popular. Desta forma, estudos sobre as características nutricionais e nutracêuticas da soja tem promovido o seu consumo via incorporação na alimentação humana (ANDERSON; RACKIS; TALLENT, 1979) e sua inclusão em vários tipos de alimentos (GARCIA et al., 1997). Produtos à base de soja desempenham papel importante na nova geração de alimentos funcionais, na prevenção de doenças do coração, obesidade, hipercolesterolemia, câncer, diabetes, doenças dos rins e osteoporose (GARCIA et al., 1997).

Entretanto, a presença de fatores como sabor amargo, compostos antinutricionais (inibidores de tripsina, hemaglutinina e ácido fítico) e fatores de flatulência (oligossacarídeos) representam limitação para o uso da mesma sem processamento prévio (ANDERSON; RACKIS, TALLENT, 1979). Estudos demonstram que o tratamento térmico, a germinação, a fermentação, a radiação ionizante e a hidrólise química ou enzimática promovem alterações nos compostos químicos e normalmente são realizados como alternativa para eliminar as desvantagens associadas aos grãos (MORAIS et al., 2000; VASCONCELOS et al., 2001).

Os efeitos da germinação sobre a composição química, aspectos nutricionais e características sensoriais, variam com as espécies, cultivares e as condições de germinação das sementes, como temperatura, luz, tempo de germinação, eentre outros fatores (CHEN et al., 1975; VILAS BOAS et al., 2002). As vantagens e desvantagens deste processo utilizado para o consumo humano não foram completamente estabelecidos para diferentes tipos de sementes, tais como oleaginosas, leguminosas e cereais e as suas correlações com a condição de germinação (BAU et al., 1997). A produção dos brotos para o consumo humano, além de promover melhorias na qualidade nutricional, conduz o homem ao aumento da produção de alimentos, paradoxalmente à constância de suas áreas (VILAS BOAS et al., 2002).

Outra opção utilizada para a redução de compostos indesejáveis seria o processo de irradiação, o qual é considerado um método seguro e eficiente para reduzir o risco de infecção alimentar (SOUZA, 2006) e para preservar o valor nutricional dos alimentos (ABU-TARBOUSH, 1998). No entanto a utilização de baixas doses de radiação não é capaz de obter alterações desejáveis no grão e sim promover efeitos estimulantes a semente, ou seja, tem a capacidade de aumentar a sua brotação. Isso ocorre, pois a radiação interage com a água criando grande número de radicais com curtas meias-vidas, dos quais os óxidos e peróxidos são normalmente os elementos finais. Estes atuam na matéria biológica provocando alterações, dentre as quais podemos destacar: iniciam a síntese de proteínas (PUNTARULO et al., 1988; MOON, 1985) e modificam o funcionamento da membrana. Baseando-se nestes conceitos e na literatura existente, conclui-se que este fenômeno pode ocorrer em qualquer espécie de planta ou cultivar e que a resposta ao estímulo de crescimento é detectada imediatamente após a irradiação, no processo de germinação (SHEPPARD et al., 1990).

Para determinar a qualidade do alimento os testes sensoriais são incluídos como garantia de qualidade por serem uma medida multidimensional integrada, haja vista possuírem importantes vantagens, tais como: serem capazes de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis; definirem as características sensoriais importantes de um produto de forma rápida e serem capazes de detectar particularidades que não podem ser detectadas por outros procedimentos analíticos (LOURES, 2007).

Mas, antes da realização da análise sensorial é interessante avaliar o alimento quanto à parte microbiológica. Conhecendo-se as características do alimento, é possível prever a flora microbiana que nele poderá se multiplicar (SILVA, 2000). Daí a importância da análise microbiológica, pois inúmeros métodos laboratoriais podem ser utilizados para investigar a ausência ou presença dos microorganismos (FRANCO, 2003). A Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001) estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos, não existindo padrões específicos para leguminosas. Esses podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: “produtos a base de soja”, cuja tolerância máxima para

a amostra indicativa é de 5×10^2 NMP.g⁻¹ ou UFC.g⁻¹ de coliformes a 45°C e ausência de *Salmonella sp* em 25 gramas.

A produção de brotos comestíveis de soja não tem grande significância no Brasil, porém os grãos germinados apresentam sabor agradável e suave, fato que motivou a realização deste trabalho, que teve como objetivo a avaliação físico química, análise microbiológica, para posterior avaliação sensorial e determinação da aceitabilidade como produto alimentício em grãos de soja BRS216 irradiados a 0,025; 0,075 e 0,150kGy e/ou germinados a 48 e 72 horas.

6.2 Material e Métodos

As análises da composição centesimal do grão e sensorial foram desenvolvidas no Laboratório de Bromatologia e as análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Higiene e Laticínios do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil.

6.2.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada para a realização do experimento foi a soja BRS216, desenvolvido pela EMBRAPA, Londrina-PR.

6.2.2 Irradiação

Os grãos foram irradiados, utilizando raios gama, provenientes do Cobalto⁶⁰, comercial para alimentos, do tipo Gammacell, nas doses de 0; 0,025; 0,075 e 0,150 kGy com taxa de dose de 0,456 kGy h⁻¹ e posteriormente foram germinados. A quantidade da dose absorvida durante a irradiação foi medida através de dosímetro polimethylmetacrilo (PMMA – Red perspex). A leitura foi realizada em espectrofotômetro, e a dose de radiação absorvida foi relatada quantitativamente no intervalo de 530 nm. Para analisar os grãos somente irradiados, as amostras foram trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* com a finalidade de obtenção da farinha. Essa farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

6.2.3 Germinação

Para a germinação os grãos de soja sofreram imersão em 300mL de hipoclorito de sódio a 1% (v/v) por 20 min. Lavagem com água deionizada, hidratação dos grãos em 300mL de água deionizada por 8h à temperatura ambiente e ao final foi retirado o excesso de água. Após a hidratação os grãos foram mantidos no laboratório com temperatura e luminosidade ambiente. A germinação ocorreu durante os meses de novembro de 2009 até maio de 2010 com a temperatura variando na faixa entre 30°C a 18,5°C (temperatura média de 24,2°C) e a umidade relativa do ar média de 77,3%. A cada 8h as sementes eram umedecidas e agitadas levemente. As amostras foram recolhidas para análises após 48h e 72h de germinação. As amostras foram congeladas a -80° C durante um dia e posteriormente foram liofilizadas e trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 *mesh* para a realização das análises. Após ser elaborada, a farinha foi armazenada em saco de polietileno, fechado e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

6.2.4 Tratamentos

A avaliação da composição centesimal da soja foi realizada com todos os tratamentos presentes no estudo. Já a análise sensorial e microbiológica ocorreu com apenas seis diferentes tratamentos, os quais são: controle; irradiada na dose 0,15kGy; germinada no tempo de 48 e 72 horas; germinada a 48 horas e irradiada a 0,15kGy; e germinada a 72 horas e irradiada a 0,15kGy. Foram selecionados esses seis tratamentos pois notou-se que a irradiação não afetou a composição centesimal do grão.

T1 – Grão Controle	T7 – Grão germinado 48 horas e Irradiado 0,075kGy
T2 – Grão Irradiado 0,025kGy	T8 – Grão germinado 48 horas e Irradiado 0,150kGy
T3 – Grão Irradiado 0,075kGy	T9 – Grão germinado 72 horas
T4 – Grão Irradiado 0,150kGy	T10 – Grão germinado 72 horas e Irradiado 0,025kGy
T5 – Grão germinado 48 horas	T11 – Grão germinado 72 horas e Irradiado 0,075kGy
T6 – Grão germinado 48 horas e Irradiado 0,025Kgy	T12 – Grão germinado 72 horas e Irradiado 0,150kGy

6.2.5 Composição centesimal

Com a finalidade de caracterizar as amostras foi realizada a composição centesimal das mesmas. As análises químicas de teor de umidade, proteína bruta, extrato etéreo e de cinzas foram realizadas de acordo com a metodologia indicada pela AOAC (2005).

Para determinação do teor de matéria seca, utilizou-se o método gravimétrico em que as amostras são secas em estufa a 105° C, até peso constante.

O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método Microkjeldahl, sendo o teor protéico determinado multiplicando-se o conteúdo do nitrogênio total pelo fator 6,25.

O extrato etéreo foi determinado utilizando o extrator de Soxhlet. Na extração foi utilizado como solvente o éter etílico à temperatura de 45-50° C em refluxo contínuo da amostra por 6 horas. Recuperado o éter etílico, os tubos foram retirados e colocados em estufa por 20 minutos a 100° C, após esfriar em dessecador e pesados, obter-se-á a quantidade de lipídeos por diferença do peso do tubo.

A cinza foi determinada através de incineração da amostra em mufla à temperatura de 550-600° C por 4 horas.

Os carboidratos totais foram obtidos por diferença 100%- (% proteína + % umidade + % cinza + % extrato etéreo).

6.2.6 Análise microbológicas

A fim de avaliar a qualidade microbiológica do grão, foram realizadas as análises do teste presuntivo para *Salmonella* e coliformes a 45°C, as quais são previstas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, através da Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001. A Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001) estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos, não existindo padrões específicos para leguminosas. Esses podem ser inseridos no grupo de alimentos designados como: “produtos a base de soja”, cuja tolerância máxima para a amostra indicativa é de 5×10^2 NMP g⁻¹ ou UFC g⁻¹ de coliformes a 45°C e ausência de *Salmonella sp* em 25 gramas.

6.2.7 Preparação das amostras

Para a preparação das amostras, as sojas foram cozidas em água potável durante 15 minutos. Após este procedimento foi pesado 25 gramas de amostras para a realização da análise, a qual foi retirada assepticamente e transferida para um homogeneizador modelo Stomacher Circulador 400, utilizado para esmagar, extrair, misturar, homogeneizar e preparar as amostras que serão analisadas, mantendo-as em suas condições originais, a fim de evitar qualquer tipo de contaminação cruzada, pois nenhuma parte do equipamento entra em contato direto com a amostra, que fica contida em sacos plásticos. Tal processo operacional é realizado por duas pás curvas. No início da operação, as pás esmagam a amostra e circulam os fragmentos em suspensão, provocando uma ação de agitação de cima para baixo. Tal ação garante uma maior extração de organismos (bactérias) que estão em suspensão. Após a homogeneização, a amostra foi transferida para 225 mL de água peptonada a 0,1%, previamente esterilizada.

6.2.8 Coliformes totais e coliformes fecais pelo método do número mais provável (NMP)

O Número Mais Provável de coliformes totais e fecais foi determinado pelo método clássico de fermentação da lactose, através da técnica dos tubos múltiplos de acordo com Silva, Junqueira e Silveira (2001) e Swanson, Petrane e Hanlin (2001).

Esta técnica permite a recuperação de células injuriadas através de um enriquecimento e compreende duas fases distintas: a fase do teste presuntivo e a fase do teste confirmativo, onde se determina a população de coliformes totais e fecais.

Para o teste presuntivo selecionou-se cinco séries de tubos de ensaio contendo tubos de Durham e Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), identificando-se as diluições de 10^{-1} a 10^{-5} e os respectivos locais, adicionando 1,0 mL da diluição correspondente por tubo de ensaio. As cinco séries de tubos foram incubadas a 35°C por 24-48 horas. Após o período de incubação, os tubos que apresentaram produção de gás devido à fermentação da lactose do meio foram considerados positivos no teste presuntivo. Os tubos que após 48 horas não apresentaram nenhuma alteração nos tubos Durham, foram considerados negativos.

Com auxílio de alça de níquel-cromo foram realizadas inoculações a partir dos tubos positivos do teste presuntivo para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Lactose Bile (CVBLB) e tubos com caldo EC. Os tubos CVBLB foram incubados em estufa a 35°C/24-48 horas para teste confirmativo de coliformes totais e os tubos EC em banho-maria 44,5-45°C/24 horas para teste confirmativo de coliformes fecais. Após os respectivos períodos de incubação, verificou-se a produção de gás nos tubos de Durham colocados nos meios de cultivo do teste confirmativo e a partir destes tubos positivos (gás) foi feita a consulta à Tabela de Thomas(1942), apud Swanson; Petran e Hanlin (2001) para a estimativa do NMP de coliformes totais e coliformes a 45°C.

Os resultados obtidos foram comparados com os padrões da legislação vigente para o produto, segundo a ANVISA (BRASIL, 2001).

6.2.9 Determinação de *Salmonella* spp

Para as análises microbiológicas de pesquisa de *Salmonella* spp têm sido bastante utilizado métodos rápidos de detecção, com resultados obtidos no prazo de 24-36 horas.

No desenvolvimento deste estudo utilizou-se o método *Salmonella* 1-2 TEST, da BioControl. Trata-se de um método oficial aprovado pela AOAC (2000) recomendado para detecção presuntiva das espécies móveis de *Salmonella* em alimentos.

O princípio se baseia na observação da imobilização pelos anticorpos polivalentes H (flagelar contidos no meio de motilidade, com o desenvolvimento de uma banda visual bem definida chamada de imunobanda).

Foi feito pré-enriquecimento de cada amostra analisada, incubando-se 25 gramas de soja em um erlenmeyer contendo 225 mL de Caldo Lactosado. Os frascos foram incubados por 18-24 horas a 35°C. Decorrido o período de incubação foi feito o enriquecimento seletivo, transferindo 1 mL do pré-enriquecimento para um tubo de ensaio contendo 9 mL de solução Caldo tetracionato verde brilhante ativado com iodo-iodeto, sendo incubado por 6 horas em banho-maria a 42°C.

Após o período de incubação do enriquecimento seletivo, procedeu-se o preparo dos kits 1-2 Test da seguinte forma: posicionou-se a tampa preta para cima, retirando-a e removeu-se o *plug* da câmara usando uma pinça estéril; desprezou-se o conteúdo deste compartimento e inoculou-se 1,5 mL da solução caldo tetracionato preparado separadamente; os kits foram posicionados com a tampa branca para cima retirando-a e cortando a ponta interna desta tampa; adicionou-se 1 gota de anticorpo, princípio responsável pela aglutinação e formação do gel que se forma junto da tampa branca. Os kits foram incubados a 35°C por 14-30 horas. Após o período de incubação observou-se a formação ou não de imunobanda que caracteriza a positividade do teste para a bactéria *Salmonella*.

Os resultados obtidos foram comparados com os padrões da legislação vigente para o produto conforme a ANVISA (BRASIL, 2001).

6.2.10 Análise sensorial

Após o desenvolvimento da avaliação microbiológica, foram realizados os testes sensoriais dos grãos de soja germinados e/ou irradiados.

O teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP. Foram consideradas as habilidades na percepção das diferenças em relação ao aroma, sabor, textura e aparência das amostras. Para sua determinação, aplicou-se o teste de aceitação, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos (9 = gostei extremamente; 1 = desgostei extremamante), segundo Meilgaard et al. (1999), com equipe não treinada de quarenta consumidores adultos saudáveis, de 18 a 50 anos, de ambos os sexos, constituída por funcionários e acadêmicos da Universidade, sem vínculo de subordinação com os pesquisadores, onde manifestaram seu consentimento assinando o termo de consentimento livre e esclarecido, conforme a Resolução 196/96 do Ministério da Saúde (DUTCOSKY, 1996). Para o recrutamento dos mesmos foram colocados cartazes espalhados por diversos pontos da ESALQ/USP e também foram abordados pelos pesquisadores para o convite em forma oral. Não foram aceitos para o teste provadores maiores de 60 anos ou menores de 18 anos, bem como fumantes de qualquer faixa etária.

No laboratório de análise sensorial com cabines individuais, os provadores receberam as amostras de soja provenientes de seis tratamentos (controle, germinada no tempo de 48 e 72 horas, irradiada a 0,15kGY e germinada no tempo de 48 e 72 horas juntamente com a dose de irradiação de 0,15kGy), onde foram preparados (cozido) uma hora antes da realização das análises, sendo mantidos a 40°C, cobertos até serem servidos. Os grãos de soja foram cozidos em água fervente por tempo previamente determinado (em ensaios anteriores até ficarem totalmente cozidos, foram aproximadamente 10 minutos).

Depois do cozimento dos grãos de soja, cada provador recebeu 5 g de soja de cada tratamento, que foram servidos em copos plásticos brancos, sendo cada amostra codificada com números de três dígitos escolhidos de forma aleatória e distribuídos sobre a bancada para avaliação dos provadores. Para cada provador, foi

fornecida água em copos plásticos para que, após cada prova, pudessem remover qualquer resíduo da prova anterior, facilitando assim uma melhor avaliação.

As amostras foram distribuídas aleatoriamente e sofriam mudanças de posição para cada um dos provadores. Os provadores faziam a degustação das amostras uma a uma. Em seguida, anotavam sua avaliação e deixavam observações sempre que julgavam necessárias. O grau de satisfação para cada amostra foi expresso pelo emprego da escala hedônica de nove pontos, fornecida a cada provador, conforme Meilgaard et al. (1999). O índice de satisfação foi calculado como uma expressão percentual da média do grau de satisfação.

6.2.11 Análise dos dados

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento para todas as análises químicas, sendo os resultados expressos em média $\pm$ desvio-padrão. Foi realizada análise de variância pelo teste F e a comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos segundo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) através do programa *Software Statistical Analysis System* (SAS, 1998). A construção dos gráficos e tabelas foi feita pelo programa Excel (MICROSOFT OFFICE EXCEL, 2007).

6.3 Resultados e Discussão

A Tabela 19 apresenta os valores médios percentuais da composição centesimal dos 12 tratamentos realizados na soja BRS 216, por um período de 48 e 72 horas e irradiadas nas doses de 0,025; 0,075 e 0,150 kGy.

Tabela 19 - Composição centesimal (base seca, média±desvio padrão) para as sojas que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o grão controle

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	Lipídeo (%)	Carboidrato Total (%)
0	0	9,14 ± 0,2h	5,65 ± 0,2a	40,88 ± 1,9a	19,33 ± 0,08a,b	34,14 ± 2,06 ^a
0	48	63,52 ± 0,2e	5,55 ± 0,1a	41,34 ± 0,3a	17,75 ± 0,4b	35,36 ± 0,41 ^a
0	72	67,90 ± 0,1a	4,77 ± 0,1c	43,84 ± 0,8a	17,37 ± 0,45b	34,02 ± 0,80 ^a
0,025	0	9,50 ± 0,2h	5,48 ± 0,1a,b	41,96 ± 0,4a	20,38 ± 2,68a	32,17 ± 2,23 ^a
0,025	48	64,56 ± 0,1d	5,57 ± 0,1a	42,65 ± 0,7a	17,98 ± 0,05b	33,80 ± 0,84 ^a
0,025	72	67,32 ± 0,1b	4,83 ± 0,1c	44,37 ± 1,5a	19,04 ± 0,26a,b	31,76 ± 1,44 ^a
0,075	0	9,27 ± 0,3h	5,55 ± 0,2a	41,82 ± 1,9a	20,00 ± 0,51a,b	32,61 ± 1,52 ^a
0,075	48	61,68 ± 0,1g	5,50 ± 0,2a,b	42,10 ± 1,2a	18,06 ± 0,31b	34,34 ± 1,48 ^a
0,075	72	66,59 ± 0,02c	4,99 ± 0,1c,b	44,33 ± 1,3a	18,56 ± 0,75a,b	32,11 ± 1,63 ^a
0,15	0	9,47 ± 0,1h	5,68 ± 0,1a	42,27 ± 2,5a	19,86 ± 0,24a,b	32,19 ± 2,73 ^a
0,15	48	62,07 ± 0,1f	4,88 ± 0,3c	42,46 ± 1,7a	18,30 ± 0,52b	34,35 ± 2,3 ^a
0,15	72	64,71 ± 0,1d	4,88 ± 0,1c	43,95 ± 2,6a	18,46 ± 0,37a,b	32,71 ± 2,71 ^a

Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$), $n=3$.

Conforme apresentado na tabela 18, a composição centesimal das amostras estudadas mostrou que os teores de umidade aumentaram na soja germinada, os lipídeos, proteínas e carboidratos sofreram poucas alterações e as cinzas diminuíram com a evolução do processo germinativo.

O percentual de umidade entre os 12 tratamentos analisados estão de acordo com os padrões observados na literatura (MEGAT et al., 2011; SHI et al., 2010; MURUGKAR; JHA, 2009; MARTINEZ et al., 2011; VILAS-BOAS et al., 2002). Para as amostras controle e somente irradiadas o percentual médio de umidade foi de 9,34% e para as amostras submetidas ao processo de germinação, o teor foi de 62,95% (aumento de 6,8 vezes o valor inicial) e 66,63% (aumento de 7 vezes o valor inicial) durante 48 horas e 72 horas, respectivamente.

Estes resultados estão de acordo com o estudo realizado por Shi et al. (2010), que encontraram aumento progressivo no percentual de umidade durante os 7 dias de germinação de soja. Este aumento foi de 9 vezes e 10,5 vezes o valor inicial em amostras germinadas a 48 e 72 horas, respectivamente. Ao final do sétimo dia do processo germinativo esse aumento foi de 13 vezes o valor inicial (amostra controle). Murugkar e Jha (2009) observaram variações de 4,8 a 5,7% nos teores de umidade de quatro diferentes variedades de grãos de soja, com aumento médio de 10 vezes o valor inicial após 48 horas de germinação (variações de 56,1 a 59%). Martinez et al. (2011) observaram aumento de 9,5 vezes o valor inicial após 48 horas de germinação de soja.

Na germinação, a água é necessária para que haja a hidratação da semente, a fim de promover a reidratação dos tecidos, o aumento da respiração e de outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e de nutrientes necessários para o crescimento da planta (VILLELA; NOVENBRE; FILHO, 2007). Neste caso, a absorção de água (embebição) representa o passo inicial do processo de germinação. O aumento no conteúdo de umidade durante este processo varia de acordo com a espécie, variedade, temperatura ambiente, composição química da semente, natureza dos tegumentos, teor de umidade da semente, quantidade de água disponível, entre outros fatores (TOLEDO e FILHO, 1997).

As sementes apresentam, para cada espécie, um mínimo necessário de água até atingir certo nível de hidratação para que inicie a germinação. Desta forma, a

semente de soja necessita absorver, no mínimo, 50% de seu peso para assegurar boa germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 1980). No presente estudo, verifica-se que o nível de hidratação dos grãos foram superiores ao citado por Carvalho e Nakagawa (1980).

Em relação ao conteúdo de cinzas, pode-se observar que a análise estatística não mostrou diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade com a amostra controle para os tratamentos germinado 48 horas; germinado 48 horas e irradiadas nas doses de 0,025 e 0,075kGy e somente irradiadas nas doses 0,025; 0,075 e 0,150 kGy (concentração de cinzas variando de 5,48-5,68%). Em contrapartida as amostras: germinada 72 horas; germinada 72 horas/irradiadas nas doses de 0,025; 0,075 e 0,150kGy e germinada a 48 horas/irradiada na dose de 0,150kGy (concentração de cinzas variando de 4,77-4,99%), diferiram da amostra inicial.

Nota-se também que apesar de algumas amostras que foram submetidas a germinação e/ou irradiação serem estatisticamente semelhante à controle apresentaram pequena redução nos teores de cinzas quando estas eram submetidas, principalmente, ao processo germinativo.

A lixiviação de resíduos sólidos durante o processo de imersão (etapa da germinação) (GHAVIDEL et al., 2007), e a composição da água utilizada (água deionizada) não só no processo de embebição dos grãos, bem como a água que as amostras foram lavadas durante todo o processo germinativo (MACHADO et al., 2009), pode ter sido um dos motivos que contribuíram para as reduções no conteúdo de cinzas. Pensando nisso, pode-se concluir que os menores teores de cinzas encontrados nas sojas germinadas há 72 horas, são resultantes do maior número de lavagens durante todo o processo de germinação. Concordando com os resultados apresentados (Tabela 19), Dikshit e Ghadle (2003), também observaram reduções nos teores de cinzas em soja variedade MACs-13 após 3 dias de germinação na ausência de luz. Essa redução foi de 5,15 e 6,62% após 48 e 72 horas do processo. No presente estudo, esta redução somente foi significativamente aparente após 72 horas de germinação, com redução de 15,5% nos conteúdos deste nutriente.

Diferentemente ao encontrado neste trabalho, Machado et al. (2009) observaram aumento nos teores de cinzas em três diferentes espécies de leguminosas.

Uma explicação para tal fato foi o uso de água potável, rica em sais minerais, durante os seis dias do processo germinativo.

Pelo teste de Tukey, pode-se observar que para o conteúdo de proteína, não houve diferença significativa entre os tratamentos estudados, porém aumento não significativo ocorreu, principalmente, após germinação há 72 horas (incluindo as doses de radiação utilizadas). Esse maior conteúdo de proteína na soja germinada era esperado, visto que durante este processo ocorre a síntese enzimática protéica (BAU et al., 1997) ou a mudança na composição que segue a degradação de outros constituintes (lipídeo e carboidrato) (MUBARAK, 2005; EL-ADAWY, 2002; BARCELOS; VILLAS BOAS; LIMA, 2002; BAU et al., 1997; RIBEIRO; IDA; OLIVEIRA, 1997).

Kaushik, Satya e Naik (2010) utilizando soja germinada nos tempos 24, 48, 72, 96 e 120 horas, verificaram aumento de 14% e 16% no teor de proteína após segundo e terceiro dia de germinação, respectivamente. Estes resultados não são similares aos dados encontrados neste estudo (aumento de 1,12 e 7,2% após 48 e 72 horas de germinação, respectivamente), porém, as escalas de aumento variam conforme as diferenças de cultivares da soja e as condições de germinação realizadas (temperatura, luminosidade, tempo de germinação e umidade) (SHI et al., 2010). Dikshit & Ghadle (2003) encontraram teor de 50,13% de proteína em soja controle com aumento pra 53,67 e 54,19% após 48 e 72 horas, respectivamente.

Segundo Lorenz (1980) e Chavan e Kadan (1989) tais aumentos tem sido atribuídos à perda de matéria seca, principalmente na forma de carboidratos, devido à respiração do grão ou a alteração das substâncias nitrogenadas durante a germinação, resultando, conseqüentemente, numa porcentagem aumentada de outros nutrientes. Embora o conteúdo de proteína tenda a aumentar durante a germinação, nem sempre isto acontece. Resultados contraditórios têm sido relatados (MURUGKAR; JHA, 2009).

Como pode ser observado na tabela 18, o efeito da germinação e irradiação sobre o conteúdo de lipídeo na soja não foi significativo a 5% de probabilidade quando comparados à amostra controle. Mesmo não havendo diferença estatística, observou-se redução médio de 6,77% e 5,06% para as todas as amostras germinadas há 48 e 72 horas, respectivamente.

Segundo Bau et al. (1997) o teor de lipídeos deveria diminuir gradativamente com o progresso da germinação. Essa diminuição atribui-se à degradação de reservas de nutrientes, carboidratos e lipídeos, com o propósito de fornecer energia necessária para a síntese protéica durante o crescimento da planta. O aumento na taxa de respiração durante a germinação leva à liberação de energia a partir da decomposição de compostos carbonos. Assim as mudanças ocorridas durante a germinação nos nutrientes insolúveis armazenados nos cotilédones para nutrientes solúveis a partir da hidrólise das macromoléculas (LORENZ, 1980), leva às alterações aqui apresentadas. Reduções de 20 a 15% durante os sete dias de germinação de soja foram observados por Shi, Nam e Ma (2010). Murugkar e Jha (2009) também relataram degradação lipídica durante processo de germinação de quatro diferentes variedades de soja indianas. Essa redução foi de 1,6 -10% nas primeiras 48 horas do processo e 3,6 -16% após 72 horas do processo. Dikshit e Ghadle (2003) reportaram diminuições de 3,63 e 9,73% após 2 e 3 dias de germinação de soja variedade MACS-13.

As sojas submetidas somente ao processo de irradiação não diferiram estatisticamente da amostra controle. Propriedades físico-químicas do óleo extraído de soja irradiados com doses de até 10 kGy foram investigadas por Byun et al. (1996), sendo que nenhuma alteração foi observada no conteúdo de lipídeos totais, na composição de ácidos graxos e no índice de peróxidos. Por outro lado, Zev e Taufiq (2004) verificaram que o uso de doses acima de 10 kGy, aplicadas em soja, girassol e palma podem afetar a qualidade físico-química de seus óleos, como aumento de ácidos graxos livres e índice de peróxido.

Os carboidratos foram calculados em base seca para que fosse possível fazer a comparação das diferentes amostras. Estes apresentaram oscilações nos teores com os tratamentos utilizados. Em ambos os tratamentos foi observado que não houve diferença estatisticamente significativa. No processo de germinação os carboidratos são os primeiros constituintes a serem oxidados, fornecendo energia ao grão para que ocorram suas transformações (MOSTAFA et al., 1987). No entanto, observa-se na tabela 1 efeito contraditório ao descrito por Mostafa et al. (1987), com aumento acentuado, porém não significativo em seus teores após processo germinativo nos tempos de 48 e 72 horas.

Toledo et al. (2007) estudando a composição química de cinco diferentes cultivares de soja em grão submetidas a irradiação (doses: 2, 4 e 8kGy) observaram que nenhuma cultivar irradiada e as diferentes doses de irradiação, não alteraram significativamente a composição das amostras.

A tabela 20 apresenta os resultados obtidos na caracterização microbiológica das amostras de soja irradiada e germinada.

Tabela 20 - Resultados das análises microbiológicas de grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados, e o grão de soja controle, com NMP/g para coliformes totais e fecais e pesquisa de *Salmonella sp*/25 g.

Irradiação (kGy)	Germinação (Horas)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes fecais (NMP/g)	<i>Salmonella sp</i> /25g
0	0	Ausência	Ausência	Ausência
0,15	0	Ausência	Ausência	Ausência
0	48	Ausência	Ausência	Ausência
0,15	48	4	Ausência	Ausência
0	72	Ausência	Ausência	Ausência
0,15	72	Ausência	Ausência	Ausência

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução nº12 de 02 de janeiro de 2001 estabelece ausência de *Salmonella* em 25 gramas de amostra e de 5×10^2 NMP/g de coliformes a 45°C, para alimentos destinados ao consumo humano. A presença de coliformes em alta quantidade indica que o processamento foi realizado em condições de higiene insatisfatórias e que o consumo deve ser evitado para que não haja comprometimento da saúde, como observado por Guimarães et al. (2001).

Observando a tabela 20, notou-se que nenhuma das amostras analisadas apresentou crescimento de salmonela e coliformes fecais, porém em relação aos coliformes totais, a contagem deste microrganismo na amostra germinada a 48 horas e irradiado a 0,150kGy foi de 4NMP por grama de amostra. Entretanto quando comparado com os valores toleráveis, observa-se crescimento de coliformes totais abaixo do aceitável.

Os valores encontrados mostram que todas as amostras estavam de acordo com os padrões previstos pela ANVISA (BRASIL, 2001). As sojas controle,

germinada e irradiada, estando dentro dos padrões previstos pela legislação, puderam ser utilizadas nas análises sensoriais, pois estas se apresentavam microbiologicamente seguras para o consumo humano, não sendo veículo de microrganismos envolvidos em doenças de origem alimentar.

Os dados referentes à análise sensorial dos grãos de soja irradiado e/ou germinado e controle são apresentados na Tabelas 21 e Figura 6.

Tabela 21 - Média do grau de satisfação dos provadores em relação aos grãos de soja que sofreram os processos de irradiação e germinação, isolados e combinados e o soja controle (média±desvio padrão)

Irradiação (kGy)	Germinação (horas)	Aroma	Sabor	Cor	Aparência
0	0	5,9 ± 1,3 ^a	6,1 ± 1,9 ^a	7,3 ± 1,2 ^a	7,4 ± 1,2 ^{a,b}
0,15	0	6,2 ± 1,7 ^a	6,0 ± 1,6 ^a	7,3 ± 1,4 ^a	7,7 ± 1,1 ^a
0	48	6,2 ± 1,9 ^a	4,5 ± 2,3 ^c	5,3 ± 2,2 ^{b,c}	5,2 ± 2,3 ^{c,d}
0,15	48	6,1 ± 1,5 ^a	5,8 ± 1,6 ^{a,b}	6,3 ± 1,6 ^{a,b}	6,3 ± 1,7 ^{b,c}
0	72	5,9 ± 1,5 ^a	4,6 ± 2,1 ^{b,c}	4,7 ± 2,1 ^c	4,7 ± 2,2 ^d
0,15	72	6,6 ± 1,6 ^a	5,9 ± 1,9 ^{a,b}	5,6 ± 2,0 ^{b,c}	5,5 ± 2,0 ^{c,d}

Valores médios de 40 provadores (9 = gostei extremamente, 1 = desgostei extremamente)

O teste de aceitação avaliou os atributos de aroma, cor, sabor e aparência geral dos grãos de soja germinados e/ou irradiados em diferentes tempos de germinação e doses de radiação. Esse teste foi realizado para verificar a resposta sensorial dos consumidores, em relação aos diferentes produtos obtidos.

A análise de variação e teste de médias de Tukey (Tabela 21) mostrou que para o atributo aroma, as amostras estudadas não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, apesar da soja germinada por 72 horas associado à dose de 0,15 kGy, apresentou a maior média, em termos absoluto, em relação a todas as outras amostras analisadas, situando esses valores na escala hedônica entre “nem gostei, nem desgostei” até “gostei ligeiramente”.

O consumo de soja tem aumentado nos países ocidentais, mas esse alimento possui um fator limitante de acordo com a população, que é o sabor (TORRES-PENARANDA; REITMEIER, 2001). No campo da análise sensorial, provadores de grãos de soja e seus produtos têm relatado os seguintes termos: "gosto de feijão cru", "verde", "mato", "tinta", adstringente e amargo. Esses atributos são

responsáveis pela baixa aceitação dos produtos de soja por alguns consumidores, os quais preferem sabores brandos (TORRES-PARANANDA et al., 1998). No presente estudo, foi observado para o atributo sabor (Tabela 21), que somente as amostras germinadas a 48 e 72 horas diferiram estatisticamente da amostra controle, apresentando médias de aceitação inferiores quando comparado às amostras que não foram submetidas ao processo de germinação. Pode-se ainda observar, que as amostras germinadas e irradiadas apresentaram valores superiores em relação aos grãos submetidos somente ao processo germinativo. Deste modo podemos afirmar que as amostras germinadas não foram efetivamente apreciadas pelos provadores a ponto de obter médias equivalentes a “desgostei ligeiramente”.

Em relação aos atributos, cor e aparência, verificou-se que somente as amostras germinadas a 48 horas/irradiada 0,150kGy e irradiada na dose de 0,150kGy foram significativamente semelhantes à amostra controle. As amostras, irradiada a 0,150kGy e controle, foram as que apresentaram melhor aceitação por parte dos consumidores, situando-se no termo hedônico “gostei moderadamente”. Em contrapartida, os grãos de soja submetidos à 72 horas de germinação, foi a que apresentou menor nota quando comparado aos restantes dos tratamentos analisados.

A aceitação da soja germinada, principalmente no tempo de 72 horas sofreu restrições por parte dos julgadores, devido principalmente ao seu sabor amargo e aparência desagradável. Porém, apesar de algumas restrições, podemos considerar que essas amostras não foram totalmente rejeitadas pelos avaliadores, pois na escala hedônica foi classificado como “nem gostei, nem desgostei”.

Chen et al. (1975) utilizando-se de escala de 0-10 pontos, não observaram diferenças significativas de sabor e textura entre sete cultivares de ervilhas germinadas, exceto entre duas delas, para a característica de textura. A análise sensorial dos autores citados apresentou valor médio em torno de 6, sendo todas as cultivares de ervilha consideradas como aceitáveis. Assim, o presente estudo está de acordo com os reportados pelos autores citados acima. Sawyer et al. (1985) realizaram a análise sensorial em brotos de alfafa germinados entre 1 e 14 dias de germinação e não determinaram preferência estatisticamente significativa ($p > 0,99$) entre os brotos.

Da mesma forma, pensando em termos de índice de satisfação verifica-se que a amostra somente irradiada na dose de 0,150kGy apresentou maior preferência quando comparado aos outros tratamentos estudados, já que obteve praticamente maiores médias para os atributos analisados. Em ordem decrescente, têm-se a seguinte ordem: irradiado a 0,150kGy> amostra controle> germinada 48h/irradiada a 0,150kGy> germinada 72 horas/0,150kGy> germinada 48 horas> germinada 72 horas

Em relação aos atributos sensoriais aparência, cor e aroma, os consumidores apresentaram preferência para o grão de soja somente submetido ao processo de irradiação na dose de 0,150kGy. Citaram que a soja germinada por 48 horas e irradiado na dose de 0,150kGy apresentava coloração pouco esverdeada e gosto amendoado bem acentuado. Em contrapartida os grãos submetidos durante 72 horas de germinação, apresentaram coloração bastante esverdeada e gosto muito amargo. Um dos principais fatores responsáveis pelo esverdeamento do grão são a síntese e o acúmulo de clorofila, decorrentes da exposição à luz e conseqüente transformação de amiloplastos em cloroplastos (KRAUTLER, 2009). A exposição dos grãos à luz induz também a síntese e acúmulo de glicoalcalóides, especialmente α -solanina e α -chaconina (ROCA et al., 2004). Esses glicoalcalóides, quando em concentrações elevadas, conferem ao grão sabor amargo. Assim, embora não tenham participação no esverdeamento dos grãos, o fato da síntese desses alcalóides serem, como a da clorofila, induzida pela luz, leva os consumidores a associar o esverdeamento ao sabor amargo (GANDUL-ROJA et al., 2004).

Além disso, segundo Lee e Lawless (1991), Bennick (2002), Leeschaeve e Noble (2005), Peleg et al. (1999) e Troszniska et al. (2006) em contraste com os efeitos benéficos dos alimentos fontes em polifenóis, o consumo desses alimentos está associado à sensação descrita como, adstringência e sabor amargo. Assim o aumento de fenólicos na dieta pode apresentar associações incompatíveis com a aceitação do consumidor. Isso pode justificar a baixa aceitação dos grãos submetidos à germinação por 72 horas, o qual apresentou maior teor de fenólicos totais quando comparados à amostra germinada por 48 horas.

Estudos na área de marketing indicam que o processo de escolha dos alimentos pelos consumidores baseia-se principalmente na qualidade sensorial dos

mesmos. Os consumidores em geral não estão interessados em consumir produtos funcionais, com nutrientes que causam sabor desagradável, mesmo que estes apresentem benefícios importantes à saúde humana (TEPPER; TRAIL, 1998; TUORILA; CARDELLO, 2002; LUCKOW; DELAHUNTY, 2004).

Nota-se que as amostras que foram submetidas em conjunto aos processos de germinação e irradiação apresentaram maior preferência quando comparados aos grãos submetidos à germinação isoladamente. Esta maior preferência pela amostra irradiada foi devido ao seu sabor mais adocicado em relação ao grão não irradiado. Isto pode ser explicado pelo processo de irradiação destruir parcialmente substâncias fenólicas diminuindo a percepção de amargor dos grãos (MOURA et al., 2005).

Figura 6 Representação gráfica dos valores em porcentagem da intenção de compra das amostras avaliadas no teste afetivo.

Quanto à intenção de compra (Figura 6), a soja irradiado na dose 0,15 kGy foi o que apresentou maior valor, em porcentagem, seguido da amostra controle (24,5%), germinada no tempo de 72 horas e irradiado a 0,15 kGy (25,92%), germinado no tempo de 48 horas e irradiado a 0,150kGy (11,3%), germinado 48 horas (7,5%) e germinado 72 horas (3,8%). Esse resultado é bastante interessante, pois analisando em conjunto com os resultados anteriores, temos a seguinte situação: a amostra germinada no tempo de 72horas e irradiado a 0,150kGy, apresentou menor índice de satisfação em relação à amostra controle (Tabela 21), porém quando questionados sobre a intenção de compra observou-se que os resultados foram divergentes e contraditórios.

Acredita-se que a disponibilidade de grãos germinados nos mercados e lojas de produtos naturais possa incrementar sua aceitabilidade e utilização como

produto alimentício para alimentação humana. Assim, a facilidade na obtenção destes brotos, podendo ser produzidos em casa sem utilização de equipamentos caros ou sofisticados, e as altas taxas de proteínas encontradas nas análises bioquímicas indicam que os mesmos podem ser utilizados na dieta diária das pessoas, como complemento alimentar de alto valor nutritivo.

6.4 Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

As diferenças encontradas na composição centesimal da soja não tiveram influência dos tratamentos de irradiação. A germinação resultou no aumento dos teores de umidade, pequenas alterações nos teores de lipídeos, proteínas e carboidratos totais e diminuições no conteúdo de cinzas.

Pode-se constatar que as amostras germinadas a 48 horas tiveram boa aceitação comercial quando comparado às amostras germinadas a 72 horas, podendo ser utilizado na produção de brotos, como forma de complemento nutricional na dieta alimentar. Porém, quando comparado ao grão irradiado e controle, os grãos germinados apresentaram maior rejeição, o qual pode ser explicado pelo fato de ter sido utilizado um painel de provadores não treinados, o que normalmente não utilizam brotos de soja em sua dieta alimentar.

As provas microbiológicas realizada para a avaliação da análise sensorial apresentaram crescimento bacteriano para coliformes totais abaixo do permitido pela legislação para as amostras germinadas no tempo de 48 e 72 horas. Em relação à avaliação de *salmonela* e coliformes fecais nenhuma amostra apresentou crescimento destes microorganismos.

Referências

ABU-TARBOUSH, H.M. Irradiation Inactivation of some antinutritional factors in plant seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 7, p. 2698-2702, 1998.

AMAROWICZ, R.; TROSZNSKA, A.; BARYLKO-PIKIELNA, N.; SHAHIDI, F.
Polyphenolics extracts from legume seeds: correlations between total antioxidant

activity, total phenolics content, tannins content and adstringency. **Journal of Food Lipids**, St. Johns, v. 11, p. 278-286, 2004.

ANDERSON, R.L.; RACKIS, J.J.; TALLENT, W.H. Biologically active substances in soy products. In: WILCKE, H.L.; HOPKINS, D.T.; WAGLLE, D.H. (Ed.). **Soy protein and human nutrition**. New York: Academic Press, 1979. p. 209-233.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Method of Analysis**. 18th ed. Washington, DC, USA: AOAC, 2005.

BARCELOS, M.F.P.; VILAS BOAS, E.V.B.; LIMA, M.A.C. Aspectos nutricionais de brotos de soja e de milho combinados. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 4, p. 817-825, jul./ago. 2002.

BAU, H-M. ; VILLAUME, C.; NICOLAS, J-P.; MÉJEAN L. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, London, v. 73, n. 1, p. 1-9, 1997.

BENNICK, A. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, Boca Raton, v. 13, n. 2, p. 184–196, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução - **RDC nº 12, de janeiro de 2001**: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. Disponível em: <<http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144>>. Acesso em: 01 jun. 2010.

BYUN, M.W.; KANG, IL-JUN. Effect of gamma irradiation on soya bean proteins. **Journal of the Science and Food and Agriculture**, Sussex, v. 66, n. 1, p. 55-60, 1994.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1980. 424 p.

CHAVAN, J.K.; KADAN, S.S. Nutritional improvement of cereals by sprouting. **Critical Reviews in Food Science and Technology**, Boca Raton, v. 28, n. 5, p. 401-437, 1989.

CHEN, L. H.; WELLS, C. E.; FORDHAM, J. R. Germinated seeds for human consumption. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 40, n. 6, p. 1290-1294, 1975.

CLIFFORD, M.N.; SCALBERT, A. Ellagitannins – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 1118-1125, 2000.

DIKSHIT, M.; GHADLE, M. Effect of sprouting on nutrients, antinutrients and in vitro digestibility of the MACS-13 soybean variety. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 58, n. 3, p. 1-11, 2003.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996. 123 p.

EL-ADAWY, T.A. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 83-97, 2002.

FRANCO, B.D.G.M. **Microbiologia dos alimentos**. 2. ed. So Paulo: Atheneu, 2003. 182 p.

GANDUL-ROJAS, B.; ROCA, M.; MÍNGUEZ-MOSQUETEIRA, M.I. Chlorophyll and carotenoid degradation mediated by thylakoid-associated peroxidative activity in olives (*Olea europaea*) cv. Hojiblanca. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 161, n. 5, p. 499-507, 2004.

GARCIA, M.C.; TORRE, M.; MARINA, M.L.; LABORDA, F. Composition and characterization of soybean and related products. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 37, n. 4, p. 361-391, 1997.

GHAVIDEL, R.A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 7, p. 1292–1299, 2007.

GUIMARÃES, A.G.; LEITE, C.C.; TEIXEIRA, L.D.S.; SANTANA, M.E.B.; ASSIS, P.N. Detecção de *Salmonella* spp. em alimentos e manipuladores envolvidos em um surto de infecção alimentar. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 2, n. 1, p. 1-4, jan./mar. 2001.

HARBONE, J.B.; WILLIAMS, Ch.A. Advances in flavonoid research since 1992, **Phytochemistry**, New York, v. 114, n. 6, p. 481-504, 2000.

KAUSHIK, G.; SATYA, S.; NAIK, S.N. Effect of domestic processing techniques on the nutritional quality of the soybean. **Mediterranean Journal of Nutrition Metabolism**, London, v. 3, n. 1, p. 39–46, 2010.

KRAUTLER, B. Chlorophyll breakdown and chlorophyll catabolites. In: KADISH, K.M.; SMITH, K.M.; GUILARD, R. (Ed.). **The porphyrin handbook**. New York: Elsevier Science, 2009. v. 13, p. 183-209.

LEE, C.B.; LAWLESS, H.T. Time-course of astringent sensations. **Chemical Senses**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 225-238, 1991.

LEESSCHAEVE, I.; NOBLE, A.C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on foods and beverage preferences. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 81, n. 1, p. 330–335, 2005.

LORENZ, K. Cereal sprouts: composition, nutritive value, food applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 13, n. 4, p. 353-385, 1980.

LOURES, N.T.P. **Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de brotos de lentilha da variedade precoce**. 2007. 67 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2007.

LUCKOW, T.; DELAHUNTY, C. Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients. **Food Research International**, Barking, v. 37, n. 8, p. 805–814, 2004.

MACHADO, A.L.L.; BARCELOS, M.F.P.; TEIXEIRA, A.H.R.; NOGUEIRA, D.A. Avaliação de componentes químicos em brotos de fabaceae para o consumo humano. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1071-1078, jul./ago. 2009.

MARTINEZ, A.P.C.; MARTINEZ, P.C.C.; SOUZA, M.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Chemical changes in soybean grains with germination. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 23-30, 2011.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, G. **Sensory evaluation techniques**. 3rd ed. London: CRC Press, 1999. 281 p.

MEGAT RUSYDI, M.R.; NORALIZA, C.W.; AZRINA, A.; ZULKHAIRI, A. Nutritional changes in germinated legumes and rice varieties. **International Food Research Journal**, New York, v. 18, p. 688-696, 2001.

MESSINA, M.J. Legume and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 70, n. 3, p. 439-449, 1999.

MONTEIRO, M.R.P.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V.; MOREIRA, M.A. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina Kunitz e das isoenzimas lipoxigenases. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 195-205, 2004.

MOON, J. W. Theoretical physiological basis for radiation hormesis. In: CONFERENCE ON RADIATION HORMESIS, 1985, Oakland. **Proceedings...** p. 14–16.

MORAIS, A.A.C.; SILVA, A.L. Valor nutritivo e funcional da soja. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 306-315, 2000.

MOURA, N.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; SPOTO, M.H.F.; ARTHUR, V. Avaliação sensorial de feijão preto submetido à radiação de cobalto⁶⁰. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 370-374, abr./jun. 2005.

MUBARAK, A.E. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. **Food Chemistry**, London, v. 89, n. 4, p. 489-495, 2005.

MURUGKAR, D.A.; JHA, K. Effect of sprouting on nutritional and functional characteristics of soybean. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 46, n. 3, p. 240-243, 2009.

PELEG, H.; GACON, K.; SCHLICH, P.; NOBLE, A.C. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 79, n. 8, p. 1123–1128, 1999.

PRIOR, R.L.; GU, L. Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. **Phytochemistry**, New York, v.66, n.18, p. 2264-2280, 2005.

PUNTARULO, S.; SANCHES, R.A.; BOVERIS, A. Hidrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination. **Plant Physiology**, Washington, v. 86, n. 2, p. 626–630, 1988.

RIBEIRO, M.L.L.; IDA, E.I.; OLIVEIRA, M.C.N. Germinação de soja BR – 13 e Paraná: efeito sobre os constituintes minerais. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 47, n. 4, p. 352-358, 1997.

ROCA, M.; JAMES, C.; PRUZINSKA, A.; HORTENSTEINER, S.; THOMAS, H.; OUGHAM, H. Analysis of the chlorophyll catabolism pathway in leaves of a introgression senescence mutant of *Lolium Temulentum*. **Phytochemistry**, New York, v. 65, p. 1231-1238, 2004.

SAWYER, C.A.; DeVITTO, A.K.; ZABIK, M.E. Food service systems: comparison of production methods and storage times for alfalfa sprouts. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 1, p. 188-191, Jan./Feb. 1985.

SHEPPARD, S. C., HAWKINS, J. L., Radiation Hormesis of seedlings and seeds, simply elusive or an art fact? **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 30, n. 1, p. 17–25, 1990.

SHI, H.; NAM, P.K.; MA, Y. Comprehensive profiling of isoflavones, phytosterols, tocopherols, minerals, crude protein, lipid, and sugar during soybean (*Glycine max*) germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 8, p. 4970-4976, 2010.

SILVA, J.A. **Tópicos da tecnologia dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2000. 227 p.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. 317 p.

SOUZA, A.S. **Efeitos da irradiação na composição e propriedades funcionais da soja**. 2006. 120 p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc Software: usage and** referente. 2nd ed. Cary, 1998. 2 v.

SWANSON, K.M.J.; PETRAN, R.L.; HANLIN, J.H. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. chap. 6, p. 53-67.

TAKAMYIA, K.; TSUCHIYA, T.; OHTA, H. Degradation pathway(s) of chlrophyll: whas has gene cloning revealed? **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 5, n. 10, p. 426-431, 2000.

TEPPER, B.J.; TRAIL, A.C. Taste or health: a study on consumer acceptance of corn chips. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 9, n. 4, p. 267–272, 1998.

TOLEDO, F.F. de; MARCOS FILHO, J.M. **Manual das sementes: tecnologia da** produção. São Paulo: Ceres, 1997. 224 p.

TOLEDO, T.C.F.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. PIEDADE, S.M.S. Effects of gamma radiation on total phenolics, trypsin and tannins inhibitors in soybean grains. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 1653–1656, 2007.

TORRES-PENARANDA, A.V.; REITMEIER, C.A. Sensory descriptive analysis of soymilk. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 2, p. 352-356, 2001.

TORRES-PENARANDA, A.V.; REITMEIER, C.A.; WILSON, L.A.; FEHR, W.R.; NARVEL, J.M. Sensory characteristics of soymilk and tofu made from lipoxxygenase-free and normal soybeans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 63, n. 6, p. 1084-1087, 1998.

TROSZYNSKA, A.; WOLEJSZO, A.; NAROLEWSKA, O. Effect of germination time on the content of phenolic compounds and sensory quality of mung bean (*Vigna radiate* L.) sprouts. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, Olsztyn, v. 15/56, n. 4, p. 453-459, 2006.

TROSZYNSKA, A.; ESTRELLA, I.; LÓPEZ-AMÓRES, M.L.; HERNÁNDEZ, T. Antioxidant activity of pea (*Pisum sativum* L.) seed coat acetone extract. **Food Science and Technology/LWT**, London, v. 35, n. 2, p. 158-164, 2002.

TROSZYNSKA, A.; AMAROWICZ, R.; LAMPARSKI, G.; WOLEJSZO, A.; BARYLKO-PIKIELNA, N. Investigation of astringency of extracts obtained from selected tannins-rich legume seeds. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 17, n. 1/2, p. 31–35, 2006.

TUORILA, H.; CARDELLO, A.V. Consumer responses to an offflavor in juice in the presence of specific health claims. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 13, n. 7/8, p. 561–569, 2002.

VASCONCELOS, I.M.; MAIA, A.A.B.; SIEBRA, E.A.; OLIVEIRA, J.T.A.; CARVALHOS, A.F.F.U.; MELO, V.M.M.; CARLINI, C.R.; CASTELAR, L.L.M. Nutritional study of two Brazilian soybean (*Glycine max*) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. **The Journal of Nutritional biochemistry**, Amsterdam, v. 12, n. 1, p. 55-62, Jan. 2001.

VILAS BOAS, E.V.B.; BARCELOS, M.F.P.; LIMA, M.A.C. Tempo de germinação e características físicas, químicas e sensoriais dos brotos de soja e de milho nas formas isoladas e combinadas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 148-156, jan./fev. 2002

VILLELA, F.A.; NOVENBRE, A.D.L.C.; FILHO, J.M. Estado energético da água na germinação de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 27-34, 2007.

YANG, G.Y.; LIAO, J.; KIM, K.; YURKOW, E.J.; YANG, C.S. Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by tea polyphenols. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 19, n. 4, p. 611-616, 1998.

ZEB, A.; TAUFIQ, A. The high dose irradiation affect the quality parameters of edible oils. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Pakistan, v. 7, n. 6, p. 943-946, 2004.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização química e sensorial da soja cultivar BRS 216 permite concluir, que o processo de germinação promove alterações satisfatórias na composição nutricional do grão. Os grãos germinados há 72 horas mesmo apresentando maiores alterações nas características nutricionais quando comparado ao tempo de 48 horas, exibiram maior rejeição na opinião dos provadores quando realizado teste de aceitação sensorial.

Sendo a análise sensorial um atributo importante para a qualidade do alimento, de nada vale os grãos de soja germinados durante 72 horas terem qualidade físico-química superiores aos grãos submetidos ao processo de germinação por 48 horas, se os mesmos não possuem respaldo perante o consumidor no que diz respeito aos atributos sensoriais. Desta forma, amostras germinadas no tempo de 48 horas, por apresentarem alterações satisfatórias nas características nutricionais e melhor aceitação sensorial podem ser utilizadas na dieta diária das pessoas.

Vale ressaltar também que as baixas doses de radiação (0,025; 0,075 e 0,150kGy) sugeridas no presente estudo foram propostas com a finalidade de estimular o processo de germinação, porém essas baixas doses são extremamente difíceis de serem obtidas quando o irradiador utilizado possui alta taxa de dose radioativa. Os grãos irradiados no atual estudo apenas foi obtido devido à maior taxa de dose que o irradiador utilizado podia oferecer era menor que $0,456\text{kGy h}^{-1}$. Desta forma, sugiro a realização de novos estudos associando os tratamentos estudados (germinação e irradiação), porém utilizando doses mais elevadas de radiação ^{60}Co , de mais fácil aplicação para o atual mercado e principalmente que seja estimulante ao processo germinativo.

ANEXOS

ANEXO A - PARECER DO COMITE DE ÉTICA EM PESQUISA

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: “Efeitos das radiações gama e do processo de germinação sobre algumas características nutricionais e sensoriais de soja BRS 216.

Pesquisador Responsável: Ana Paula Corazza Martinez

Orientador (a): Solange Guidolin Canniatti Brazaca

e-mail: apmartinez@usp.br

Endereço: Rua Dr Alvim, 1523 Ap. 42

Bairro: São Judas Tadeu

CEP: 13416-259

Cidade: Piracicaba, SP

Telefone para contato (inclusive ligações a cobrar): (19)3301-1475

O Sr (a) está sendo convidado (a) como voluntário a participar da pesquisa “Efeitos das radiações gama e do processo de germinação sobre algumas características nutricionais e sensoriais de soja BRS 216”, com a justificativa de se obter mais informações relativas à associação dos métodos de radiação e germinação e seus impactos na qualidade nutricional da soja. A análise será desenvolvida no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP.

Serão selecionados 40 provadores adultos não treinados dentre uma população de adultos saudáveis, de 18 a 50 anos, de ambos os sexos, sem vínculo de subordinação com os pesquisadores. Para o recrutamento dos mesmos serão colocados cartazes espalhados por diversos pontos da ESALQ/USP e também serão abordados pelos pesquisadores para o convite em forma oral. Os provadores avaliarão sensorialmente os grãos de soja germinados, os grãos irradiados e os grãos irradiados e germinados. Cada provador receberá 10 g de feijão de cada tratamento, que serão servidos em pratos brancos, logo após cozimento, a temperatura de 40°C, sendo cada

amostra codificada com números de três dígitos escolhidos de forma aleatória pelo programa Compusense Five (1998).

O Sr. (a) será esclarecido (a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Sempre que quiser poderá pedir mais informações através do telefone da pesquisadora do projeto e, se necessário através do Comitê de Ética em Pesquisa. O Sr. (a) é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. O(s) pesquisador (es) irá (ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa serão enviados para o Sr. (a) e permanecerá confidenciais. Seu nome ou material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão.

A participação nesta pesquisa não traz complicações legais. Os procedimentos adotados obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua saúde. Caso ocorra algum imprevisto associado à participação na pesquisa, os pesquisadores devem ser comunicados para que possam solucionar os eventuais problemas.

Ao participar da pesquisa o Sr. (a) não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo traga informações importantes que deve acrescentar elementos importantes à literatura, onde o pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos. O Sr. (a) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confiro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Consentimento Livre e Esclarecido

***Eu, _____, RG _____,
abaixo assinado, concordo em participar do estudo
_____, como sujeito. Fui devidamente
informado e esclarecido pelo pesquisador _____ sobre a
pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e
benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu
consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade ou
interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.***

Local e data _____/_____/_____/_____/_____

Nome: _____

Assinatura do sujeito ou responsável

ANEXO B – Ficha Análise Sensorial – Soja germinada

Nome: _____ Idade: _____

Você está recebendo amostras de broto de soja para avaliar quanto aos atributos sensoriais. Indique, usando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou da amostra.

9. Gostei MUITÍSSIMO
8. Gostei Muito
7. Gostei Moderadamente
6. Gostei Ligeiramente
5. Nem gostei, nem desgostei | 4. Desgostei Ligeiramente
3. Desgostei Moderadamente
2. Desgostei Muito
1. Desgostei MUITÍSSIMO |
|---|--|

CÓDIGO DA AMOSTRA: 346

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CÓDIGO DA AMOSTRA: 278

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CÓDIGO DA AMOSTRA: 414

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CÓDIGO DA AMOSTRA: 137

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CÓDIGO DA AMOSTRA: 662

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

CODIGO DA AMOSTRA: 580

Atributo	
Aparencia geral	
Cor	
Sabor	
Aroma	

○ Intenção de compra

Qual desses produtos você compraria. Marque com um X.

☐ Cod. 346	☐ Cod. 414	☐ Cod. 662
☐ Cod. 278	☐ Cod. 137	☐ Cod. 580