

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

**Análise química e sensorial dos grãos de soja (*Glycine Max. (L.)
Merril*) tostados por diferentes tratamentos**

Mônica Alves Felix

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

**Piracicaba
2005**

Mônica Alves Felix

Nutricionista

**Análise química e sensorial dos grãos de soja (*Glycine Max. (L.) Merril*) tostados
por diferentes tratamentos**

Orientadora:

Prof^a. Dr.^a **SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA**

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

Piracicaba

2005

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Felix, Mônica Alves

Análise química e sensorial dos grãos de soja (*Glycine Max.* (L.) Merrill) tostados por diferentes tratamentos / Mônica Alves Felix. - - Piracicaba, 2005.
101 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.

1. Análise química 2. Análise sensorial 3. Grão de soja 4. Inibidor de protease de soja
Proteína vegetal – Digestibilidade 6. Torrefação 7. Tratamento térmico I. Título

CDD 641.35655

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

*À minha mãe, Maria,
por me ensinar a nunca desistir dos sonhos
e às minhas “irmãs” Nubs (Núbia), Fabi (Fabiana) e Lene (Marlene),
sem as quais tudo teria sido muito mais difícil.*

DEDICO

Agradecimentos

À Prof^a. Dr.^a Solange Guidolin Canniatti Brazaca, pela oportunidade, incentivo e orientação na realização desta pesquisa.

Às Técnicas Débora Niero Mansi e Maria de Lourdes Perin Storer, pela grande colaboração nas análises laboratoriais.

Ao Departamento de Genética, em especial à Dr.^a Salete, ao Alessandro e ao Daniel, pela contribuição na realização da eletroforese, e também ao Cláudio, pela doação das sementes.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro.

À Prof^a. Maria Isalina Ferreira Alves e à estagiária Viviane Aparecida Petruz, pela colaboração nas análises estatísticas.

A todas as Bibliotecárias, pela parceria nas correções.

À minha mãe e “irmãs”, pelo estímulo constante.

Ao Luís Fernando, pelo carinho e apoio.

Às minhas amigas da pós-graduação, pelo companheirismo.

Enfim, a todos que eu não mencionei, mas que estiveram presentes nesta caminhada, o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE GRÁFICOS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	11
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 DESENVOLVIMENTO.....	18
2.1 Objetivos.....	18
2.2 Revisão de literatura.....	18
2.2.1 Valor nutricional.....	20
2.2.2 Ferro e anemia.....	23
2.2.3 Inibidores de proteases.....	25
2.2.4 Características químicas e físicas.....	25
2.2.5 Atividade biológica.....	27
2.2.6 Ação de enzimas digestivas.....	30
2.2.7 Efeitos do tratamento térmico.....	30
2.3 Materiais e métodos.....	35
2.3.1 Matéria-prima.....	35
2.3.2 Análises químicas.....	36
2.3.2.1 Preparo das amostras.....	36
2.3.2.2 Composição centesimal.....	36
2.3.2.3 Minerais.....	37
2.3.3 Fatores antinutricionais.....	38
2.3.3.1 Extração dos inibidores de tripsina.....	38
2.3.3.2 Atividade inibitória de tripsina.....	38
2.3.4 Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).....	39
2.3.5 Digestibilidade da proteína <i>in vitro</i>	39
2.3.6 Reativação do inibidor de tripsina.....	40

2.3.7 Disponibilidade do ferro <i>in vitro</i>	40
2.3.8 Análise sensorial.....	41
2.3.9 Análise estatística.....	42
2.4 Resultados e discussão.....	43
2.4.1 Composição centesimal.....	43
2.4.2 Ferro.....	46
2.4.3 Digestibilidade da proteína <i>in vitro</i>	49
2.4.4 Atividade inibitória de tripsina.....	53
2.4.5 Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).....	58
2.4.5.1 Géis de inativação do inibidor de tripsina.....	58
2.4.5.2 Géis de reativação do inibidor de tripsina após proteólise <i>in vitro</i>	63
2.4.6 Análise sensorial.....	67
3 CONCLUSÕES.....	85
REFERÊNCIAS.....	86

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento com pré-secagem + 10 minutos de forno a 220°C.....45
- Figura 2 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento com pré-secagem + 15 minutos de forno a 220°C.....46
- Figura 3 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento sem pré-secagem + 45 minutos de forno a 220°C.....47
- Figura 4 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento sem pré-secagem + 50 minutos de forno a 220°C.....47
- Figura 5 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento sem pré-secagem + 60 minutos de forno a 220°C.....48
- Figura 6 – Controle – secagem em estufa durante 31 horas à 55°C.....48
- Figura 7 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado com pré-secagem + 10 minutos de forno a 220°C.....50
- Figura 8 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado com pré-secagem + 15 minutos de forno a 220°C.....51
- Figura 9 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado sem pré-secagem + 45 minutos de forno a 220°C.....51
- Figura 10 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado sem pré-secagem + 50 minutos de forno a 220°C.....52

- Figura 11 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado sem pré-secagem + 60 minutos de forno a 220°C.....52
- Figura 12 – Reativação do inibidor de tripsina, após proteólise *in vitro*, no controle – secagem em estufa durante 31 horas à 55°C.....53

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição dos entrevistados de acordo com a faixa etária.....	55
Gráfico 2 – Distribuição dos entrevistados de acordo com o gênero.....	56
Gráfico 3 – Distribuição dos entrevistados de acordo com a frequência do consumo de soja ou derivados.....	56
Gráfico 4 – Distribuição dos entrevistados de acordo com as citações referentes à contribuição do consumo de soja para a melhoria da saúde.....	57
Gráfico 5 – Distribuição dos entrevistados de acordo com as citações referentes à facilidade de aquisição do hábito de consumo de soja ou seus derivados.....	58
Gráfico 6 – Distribuição do cruzamento da frequência de consumo dos grãos de soja com a variável melhoria para a saúde.....	60
Gráfico 7 – Distribuição do cruzamento da frequência de consumo dos grãos de soja com a variável facilidade de adquirir o hábito.....	61
Gráfico 8 – Distribuição do cruzamento da idade com a variável melhoria para a saúde.....	62
Gráfico 9 – Distribuição do cruzamento da idade com a variável facilidade de adquirir o hábito.....	63

Gráfico 10 – Distribuição do cruzamento da melhoria para a saúde com a variável facilidade de adquirir o hábito.....	64
Gráfico 11 – Distribuição do cruzamento da melhoria para a saúde com a variável gênero (sexo).....	65

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Médias obtidas pelos tratamentos e teste de Tukey para a composição centesimal de grãos de soja tostados por diferentes tempos.....30
- Tabela 2 - Médias obtidas pelos tratamentos e teste de Tukey, para as variáveis referentes à porcentagem de ferro em base fresca e dialisável.....33
- Tabela 3 - Valor dos contrastes ortogonais e respectiva significância estatística pelo teste F.....33
- Tabela 4 - Médias obtidas pelos tratamentos e teste de Tukey da digestibilidade da proteína *in vitro*.....36
- Tabela 5 - Valor dos contrastes ortogonais, respectiva significância estatística pelo teste F e interpretação para a digestibilidade da proteína *in vitro*.....37
- Tabela 6 - Coeficiente de correlação (r) e respectivas probabilidades estatísticas pelo teste T de Student entre a atividade inibitória de tripsina antes da proteólise *in vitro* e a digestibilidade da proteína *in vitro*.....39
- Tabela 7 - Valores de atividade inibitória de tripsina (UTI) em grãos de soja tostados e de reativação dos inibidores de tripsina após proteólise *in vitro*.....40
- Tabela 8 - Valor dos contrastes ortogonais, com respectiva significância estatística pelo teste F para a atividade inibitória de tripsina (antes e depois da proteólise *in vitro*).....42

Tabela 9 – Coeficiente de correlação (r) e respectivas probabilidades estatísticas pelo teste T de Student entre a atividade inibitória de tripsina antes e depois da proteólise <i>in vitro</i>	44
Tabela 10 - Descrição tabular do cruzamento da freqüência de consumo dos grãos de soja com a variável melhoria para a saúde e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado.....	59
Tabela 11 - Descrição tabular do cruzamento da freqüência de consumo dos grãos de soja com a variável facilidade de adquirir o hábito e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado.....	60
Tabela 12 - Descrição tabular do cruzamento da idade com a variável melhoria para a saúde e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado.....	61
Tabela 13 – Descrição tabular do cruzamento da idade com a variável facilidade de adquirir o hábito e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado.....	62
Tabela 14 - Descrição tabular do cruzamento da melhoria para a saúde com a variável facilidade de adquirir o hábito e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado.....	63
Tabela 15 – Descrição tabular do cruzamento da melhoria para a saúde com a variável gênero (sexo) e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado.....	64

- Tabela 16 - Media das notas conferidas aos atributos avaliados nos grãos de soja tostados por diferentes tempos.....65
- Tabela 17 – Distribuição das variáveis aparência, aroma, sabor e textura segundo a escala hedônica (Dutcosky, 1996) e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste de Qui-quadrado.....69

RESUMO

Análise química e sensorial dos grãos de soja (*Glycine Max. (L.) Merrill*) tostados por diferentes tratamentos

A soja vem ganhando destaque, pois alguns estudos apontam uma série de potenciais benefícios para a saúde. Estão presentes na soja dois grupos de inibidores de proteases. Alguns estudos demonstram que o tratamento térmico pode não ser suficiente para a inativação completa desses inibidores. Esses inibidores podem afetar a digestibilidade da proteína e a absorção e biodisponibilidade de alguns minerais, como o ferro. Realizaram-se cinco tratamentos: T1 e T2 – com secagem prévia + 10 e 15 minutos de forno, respectivamente; T3, T4 e T5 – sem secagem prévia + 45, 50 e 60 minutos de forno. O controle foi seco em estufa (55°C) durante 31 horas. A quantidade de ferro nas amostras analisadas variou de 83,67 a 58,8 mg/kg e a porcentagem de ferro dialisado foi de 0,95% a 1,38%, estando de acordo com o encontrado na literatura. Os valores da digestibilidade da proteína *in vitro* variaram de 91,21% a 93,14%, sem que houvesse correlação com os inibidores de tripsina, sendo a melhora da digestibilidade devida ao tratamento térmico. A atividade dos inibidores de tripsina para os tratamentos com secagem prévia variou de 25,24 a 23,94 UTI/mg de proteína e para os sem secagem prévia de 46,39 a 38,33 UTI/mg de proteína. A atividade dos inibidores para o controle foi de 55,81 UTI/mg de proteína. Os valores estão de acordo com a literatura, sendo, portanto, considerados como adequados, mostrando que a tostagem em forno convencional é bastante eficaz quanto à inativação do inibidor de tripsina. Após a proteólise *in vitro*, verificou-se reativação dos inibidores de tripsina em todos os tratamentos analisados. Os valores variaram de 5,48 UTI/mg de proteína (controle) a 7,65 UTI/mg de proteína (T1). As maiores porcentagens foram para os tratamentos com secagem prévia, 30,31% e 28,45%, enquanto que para os sem secagem prévia foi de 14,68%, 14,12% e 19,38%. O controle apresentou 9,82% de reativação. Concluiu-se que a tostagem em forno convencional inativou os inibidores de tripsina, sendo o tratamento sem secagem prévia o mais eficaz, pois, com esse tratamento, houve menor reativação dos inibidores após a proteólise *in vitro*. A tostagem foi responsável pela melhora da digestibilidade da proteína e da diálise de ferro *in vitro*. O tratamento que promoveu a maior aceitabilidade dos grãos de soja tostados foi o que recebeu o tempo intermediário de 50 minutos, sem secagem prévia.

Palavras-chave: soja; tostagem; inibidor de tripsina; inativação; reativação; digestibilidade da proteína; ferro.

ABSTRACT

Chemical and sensorial analysis of grains soybean (*Glycine Max. (L.) Merril*) toasted by different treatments

The soy comes gaining prominence, therefore some studies point a series of potential benefits with respect to the health. Two groups of inhibitors of proteases are present in the soy. Some studies demonstrate that the thermal treatment can not be enough for the complete inactivation of these inhibitors. These inhibitors can affect the digestibility of the protein and the absorption and availability of some minerals, as the iron. Five treatments had been do: T1 and T2 - with previous drying + 10 and 15 minutes of oven, respectively; T3, T4 and T5 - without previous drying + 45, 50 and 60 minutes of oven. The control was dry in oven (55°C) during 31 hours. The amount of iron in the analyzed samples varied of 58,8 the 83,67 mg/kg and percentage of dialysed iron was of 0,95% the 1.38%, being in accordance with the found one in literature. The values of the digestibility of protein *in vitro* had varied of 91,21% the 93.14%, without that it had correlation with trypsin inhibitors, being the improvement of the digestibility due to the thermal treatment. The trypsin inhibitors activity for the treatments with previous drying varied of 25,24 the 23,94 UTI/mg of protein and for the ones without previous drying varied of 38,33 the 46,39 UTI/mg of protein. The inhibitors activity for the control was of 55,81 UTI/mg of protein. The values are according with the literature, being, therefore, considered as adjusted, showing that the roasting in conventional oven is sufficiently efficient how much to the inactivation of trypsin inhibitors. After proteolysis *in vitro*, verified reactivation of trypsin inhibitors in all the analyzed treatments. The values had varied of 5,48 UTI/mg of protein (control) the 7,65 UTI/mg of protein (T1). The biggest percentages had been for the treatments with previous drying, 30.31% and 28.45%, while that for the ones without previous drying it was of 14,68%, 14.12% and 19,38%. The control presented 9.82% of reactivation. The treatment the most efficient without previous drying was concluded that the roasting in conventional oven inactivated trypsin inhibitors, being, therefore, with this treatment, proteolysis had minor after reactivation of inhibitors *in vitro*. The roasting was responsible for the improvement of the digestibility of protein and dialyse of the iron *in vitro*. The treatment that promoted the biggest acceptability of the roasted grains of soy was what it received the time intermediate from 50 minutes, without previous drying.

KEYWORDS: soybean; roasting; trypsin inhibitors; inactivation; reactivation; digestibility of protein; iron.

1 INTRODUÇÃO

O expressivo crescimento da produção de soja no Brasil, de quase 30 vezes no transcorrer de apenas três décadas, desencadeou mudanças sem precedentes na história do país. Em 2003, foi o segundo produtor mundial, responsável por 52 das 194 milhões de toneladas produzidas em nível global, ou seja, 26,8% da safra mundial. A soja apoiou ou foi a grande responsável pela aceleração da mecanização das lavouras brasileiras; pela modernização do sistema de transportes; pela expansão da fronteira agrícola; pela profissionalização e incremento do comércio internacional; pela modificação e enriquecimento da dieta alimentar dos brasileiros. O Brasil se destaca como o país que apresenta as melhores condições para expandir a produção e prover o esperado aumento da demanda mundial (EMBRAPA, 2003).

A soja contribui de forma significativa para a produção nacional de grãos, além da obtenção de óleo e farelo. A safra de 2003/04 para grãos, farelo e óleo foi de aproximadamente 186, 129 e 30 milhões de toneladas, respectivamente, sendo que destes, 56, 45 e 9 milhões de toneladas foram exportadas (CONAB, 2005).

A divulgação na mídia dos benefícios da soja à saúde está ocasionando mudanças no conceito dos consumidores em relação ao grão (EMBRAPA, 2003). Vários estudos têm demonstrado que o consumo de grãos ou subprodutos da soja está freqüentemente associado com a redução do risco de inúmeras doenças, tais como câncer de esôfago, pulmão, próstata, mama e cólon/reto, doenças cardiovasculares, osteoporose, diabetes e sintomas da menopausa (CHUNG et al., 1996; CLARK et al., 1996; GALLAGHER et al., 2000).

A soja, com suas características benéficas para a saúde, representa hoje uma das *commodities* com maiores promessas de revolucionar o mercado dos alimentos funcionais no Brasil e no mundo (EMBRAPA, 2003).

Estudos sobre as características nutricionais e nutracêuticas da soja têm promovido o seu consumo via incorporação da soja na dieta alimentar da população brasileira. Entretanto, a presença de inibidores de proteases representa limitação para o uso da mesma sem processamento prévio (ANDERSON; RACKIS; TALLENT, 1979).

Na soja encontram-se dois grupos de inibidores de proteases, o inibidor de tripsina Kunitz e o inibidor de tripsina e quimotripsina Bowman-Birk (STAHLHUT; HYMOWITZ, 1983).

De uma maneira geral, esses inibidores são termolábeis, sendo inativados pelo calor. No entanto, alguns estudos demonstram que o tratamento térmico pode não ser suficiente para a inativação completa desses inibidores (BRANDON; BATES; FRIEDMAN, 1991). Em contrapartida, o excesso de calor pode destruir importantes aminoácidos e reduzir a biodisponibilidade de outros nutrientes (FRIEDMAN et al., 1991; VAN DER POEL; VERSTEGEN; TAMMINGA, 1995; QIN et al., 1996).

Em decorrência do exposto e devido ao aumento no consumo de grãos de soja, se torna relevante o desenvolvimento de mais pesquisas e o levantamento de dados e informações sobre a quantidade ingerida de inibidores, mesmo após tratamento térmico.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Objetivos

Considerando o aumento no consumo da soja em grãos tostados na alimentação humana, em virtude dos benefícios que esta pode promover à saúde, este trabalho teve como objetivos:

- determinar a atividade inibitória da tripsina em grãos de soja tostados por diferentes tempos, com e sem secagem prévia;
- avaliar a reativação dos inibidores de tripsina após proteólise *in vitro*;
- verificar a digestibilidade da proteína e disponibilidade de ferro *in vitro*;
- verificar a aceitabilidade dos grãos de soja tostados por diferentes tratamentos.

2.2 Revisão de literatura

A soja é uma das culturas mais antigas do mundo, sendo conhecida na China desde 3000 anos A.C. Foi levada para a Europa e posteriormente para a América somente no século 17, permanecendo nestes locais apenas como uma curiosidade botânica. Somente em 1930 foram desenvolvidas novas variedades da planta e esta passou a ser cultivada comercialmente nos Estados Unidos. No Brasil, a soja foi introduzida em 1914, no Rio Grande do Sul, mas era usada apenas como forragem. Somente a partir da década de 70 passou a ter importância comercial ganhando popularidade como fonte de óleo e proteína para alimentação humana e animal (ALMEIDA, 1985).

Esta leguminosa vem ganhando destaque, pois alguns estudos apontam uma série de potenciais benefícios para a saúde, que podem estar relacionados aos componentes da soja. Entre eles, destacam-se o efeito preventivo em doenças

cardiovasculares, osteoporose e câncer, além de alívio dos sintomas da menopausa (HASLER, 1998).

A dieta rica em soja parece ser benéfica para o sistema cardiovascular, pelo efeito favorável sobre o perfil lipídico (DAVIS, 2001; DE KLEIJN et al., 2002). Estudos demonstram a elevação do HDL e a redução do LDL em cerca de 10% (ANDERSON; JOHNSTONE; COOK-NEWELL, 1995; SCHEIBER; REBAR, 1999). Observou-se, *in vitro*, vasodilatação coronária e redução na agregação plaquetária e na tromboxana, resultando em menor tendência pró-trombótica (NESTEL et al., 1999; LISSIN; COOKE, 2000).

Os cânceres de mama, cólon, endométrio e ovário têm menor incidência nos países asiáticos quando comparados aos ocidentais (MURKIES; WILCOX; DAVIS, 1998). As propostas dos mecanismos relacionados com a dieta rica em soja e a possível prevenção dos tumores malignos incluem a inibição do sistema tirosinoquinase, a supressão da angiogênese e os efeitos antioxidantes (KASS-ANNESE, 2000).

Para tanto, a demanda mundial por soja e subprodutos está em franco crescimento. Entre os fatores estão, não somente o aumento do consumo na alimentação humana, mas também o aumento da produção animal no mundo, principalmente de ciclo curto como suínos e aves, em virtude do banimento, na Europa, das farinhas de origem animal. Ainda neste segmento, acredita-se na ampliação do uso de subprodutos de soja na piscicultura e na produção de camarões (CHIARELLO, 2002).

Mas, apesar da soja oferecer os referidos benefícios à saúde e possuir um bom valor nutritivo, seus produtos ainda sofrem restrições por parte dos consumidores ocidentais, devido ao sabor característico denominado *beany flavor* (RACKIS; SESSA; HONIG, 1979). O *beany flavor* é originado da associação de compostos carbonílicos de cadeia curta com a fração protéica. Estes compostos são produtos finais de uma série de reações que se inicia com a hidroperoxidação de ácidos graxos polinsaturados, catalisados por lipoxigenases (AXELROD; CHEESBROUGH; LAAKSO, 1981).

Portanto, é necessário realizar a avaliação da qualidade do produto, como ocorrido com o produto analisado neste trabalho, considerando-se informações sobre

aceitação e características específicas do mesmo, tais como parâmetros físico-químicos e sensoriais (CLEMENTI et al., 1990).

Mesmo o Brasil sendo o segundo maior produtor de soja do mundo (EMBRAPA, 2003), há carência de estudos que caracterizam aparência, aroma, textura e sabor dos grãos das diversas variedades de soja, ou seja, não se conhece o perfil sensorial desse grão. Porém, tem-se reconhecido a importância das características físicas e sensoriais na aceitação pelos consumidores (CANTO; TURATTI, 1989).

Os métodos sensoriais são utilizados 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). Em métodos baseados na preferência do consumidor, os julgadores são escolhidos ao acaso e as decisões de aceitação e/ou preferência são obtidas sem o uso de modelo padrão. O teste de aceitação é utilizado quando se deseja conhecer o comportamento afetivo do consumidor com relação ao produto (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1991).

A determinação da aceitação pelo consumidor é parte crucial no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos. Para uma triagem inicial ou uma avaliação preliminar da aceitação, a análise é normalmente realizada em condições laboratoriais, com 30 a 50 julgadores não-treinados. Entre os métodos mais empregados para medida da aceitação de produtos está a Escala Hedônica. Nesta escala, o provador expressa sua aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida que varia gradativamente com base nos atributos "gosta e desgosta" (MOSKOWITZ, 1988).

2.2.1 Valor nutricional

As proteínas foram os primeiros nutrientes a serem considerados essenciais para o organismo. O termo vem do grego e significa "de primeira importância" (BORSOI, 2001). Podem ser de origem exógena, ou seja, advindas da dieta, ou endógena, que

são aquelas derivadas da degradação das proteínas celulares do próprio organismo (OLIVEIRA, 1998).

São indispensáveis para o crescimento e manutenção da vida, cumprindo funções estruturais, reguladoras, de defesa e de transporte nos fluídos biológicos (LAJOLO; TIRAPEGUI, 1998; BORSOI, 2001).

De acordo com Mahan e Escott-Stump (1998), as proteínas da dieta estão envolvidas na síntese das proteínas teciduais e outras funções metabólicas especiais. Nos processos anabólicos, fornecem os aminoácidos necessários para a construção e manutenção dos tecidos orgânicos. Desempenham papel estrutural, não apenas em todos os tecidos do corpo, como também na formação de enzimas, hormônios e vários líquidos e secreções corpóreas. Como anticorpos, estão envolvidas na função do sistema imunológico. As proteínas também contribuem para a homeostase através da manutenção de relações osmóticas normais entre os líquidos corpóreas.

O conceito de necessidades de proteínas e aminoácidos tem sido objeto de muitas discussões e vem sofrendo modificações ao longo do tempo. Segundo De Angelis (1999), a necessidade de uma proteína é a quantidade que deve ser ingerida em um determinado período de tempo para contrabalançar os gastos orgânicos neste período.

Sabe-se que alimentos como carnes, peixes, derivados lácteos, grãos e farinhas de leguminosas são particularmente ricos em proteínas, considerados como as principais fontes desse nutriente indispensável (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998). Segundo Sgarbieri (1996), a concentração de proteínas nos grãos varia de 20% a 35%. Por exemplo, a farinha de soja desengordurada possui 45,83 gramas de proteína, valor superior ao da carne bovina cozida por 30 minutos (quarto traseiro) e ao do leite de vaca pasteurizado tipo A, que correspondem respectivamente a 23,36 gramas e 3,28 gramas de proteína, em 100 gramas comestíveis (TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS, 2005).

A soja constitui excelente fonte de proteína para a alimentação humana e animal. Os grãos de soja se caracterizam por conter muito pouco ou nenhum amido, cerca de 20% de óleo e 40% de proteína, que são de elevado valor nutritivo (SANT'ANA et al., 2000).

Entretanto, é relevante salientar que a soja contém fatores antinutricionais e que a presença desses inibidores contribuem para a redução da digestibilidade de suas proteínas (CARVALHO et al., 2002).

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.

Para Bressani (1993), a reduzida digestibilidade das proteínas das leguminosas é multicausal, sugerindo a ação de fatores ligados à casca (taninos), aos cotilédones (inibidores de natureza protéica, fitatos, inibidores de proteases) e ao processamento e armazenamento.

A medida da digestibilidade indica quanto das proteínas são hidrolisadas pelas enzimas digestivas e absorvidas pelo organismo, constituindo o primeiro fator que afeta a eficiência da utilização protéica da dieta (BRESSANI; ELIAS, 1983).

Segundo Aldrich et al. (1995), uma das razões para estudos sobre a digestibilidade de grãos de soja tostados é a aparente melhoria na utilização da proteína desta oleaginosa, no entanto, as informações sobre a digestibilidade de grãos de soja tostados ainda são escassas, apesar do interesse por este grão estar crescendo.

Em geral, os grãos de leguminosas são ricos em proteínas, carboidratos, vitaminas (especialmente do complexo B) e minerais, mas também apresentam alguns componentes antinutricionais, os quais se ligam às proteínas e alguns minerais, como, por exemplo, o ferro, inibindo sua absorção e biodisponibilidade (DISLER et al., 1975; LINDER, 1988; HALLBERG et al., 1992).

A quantidade total de ferro de um alimento ou dieta não indica a quantidade que estará biodisponível, porque existem vários fatores que influenciam a absorção e utilização desse mineral. Dessa forma, para garantir um suporte adequado de ferro, é necessário conhecer e diferenciar a quantidade total de ferro da quantidade biodisponível. A quantidade de ferro biodisponível está relacionada à medida da fração de ferro alimentar capaz de ser absorvida pelo trato gastrointestinal e

subseqüentemente armazenada e incorporada ao ferro heme (FAIRWEATHER-TAIT et al., 1995).

Considerando a importância do ferro na alimentação humana, decidiu-se investigar a biodisponibilidade do mesmo no grão de soja integral tostado, que possui elevado teor de ferro, 3,9 mg/100g, em comparação com o teor encontrado em feijões cozidos que variam de 0,9 a 2,5 mg/100g (USDA, 2005).

2.2.2 Ferro e anemia

O ferro pode estar presente nos alimentos sob duas formas: a forma heme, que é predominantemente encontrada em carnes e vísceras na forma de hemoglobina e mioglobina, e a forma não-heme, que é encontrada em alimentos de origem vegetal (BIANCHI; SILVA; OLIVEIRA, 1992).

A absorção do ferro proveniente da dieta ocorre no duodeno e jejuno proximal, apresentando-se principalmente sob a forma de hemoglobina e mioglobina (heme), que é prontamente absorvida pela mucosa intestinal. A menor porção do ferro ingerido é absorvido sob a forma não-heme. Grande parte do ferro consumido sofre solubilização e redução pelo suco gástrico para o estado ferroso e a captação pela mucosa intestinal é influenciada pela presença de ligantes que diminuem ou aumentam a sua absorção, como a ferritina e apoferritina, respectivamente (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998).

O ferro participa do processo completo da respiração, sendo, portanto, um mineral de grande importância para a vida. Dentre as funções fisiológicas do ferro pode-se citar o transporte de oxigênio, a participação no metabolismo oxidativo e o crescimento celular (CARPENTER; MAHONEY, 1992; MARTÍNEZ et al., 1999).

Como constituinte normal do corpo humano, 70% é considerado ferro funcional, por desempenhar funções fisiológicas e ocorrer na hemoglobina, mioglobina e enzimas intracelulares. Os 30% restantes constituem o ferro de armazenamento, ocorrendo na forma de ferritina ou hemosiderina (KOROLKOVAS; BURCKHALTER, 1988).

A deficiência de ferro é o problema nutricional de maior prevalência mundial, ocorrendo tanto nos países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento. A anemia ferropriva tem como causa a ingestão insuficiente, perda excessiva ou absorção inadequada de ferro (HAMBRAEUS, 1999).

Segundo Lee (1998), a causa pode ser por inadequação no consumo deste mineral, mas também por aumento das necessidades diárias, sendo este último normalmente evidenciado em alguns estados fisiológicos como crescimento, gestação, lactação, entre outros.

Do ponto de vista fisiológico, a anemia é caracterizada como diminuição na capacidade transportadora de oxigênio por unidade de volume de sangue, já que a principal função da hemoglobina é o transporte de oxigênio do pulmão para os tecidos (PRADO; RAMOS; VALLE, 1999). Em síntese, anemia consiste na redução patológica da concentração de hemoglobina circulante, desencadeada por mecanismo fisiopatológico diversos (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998).

A anemia por deficiência de ferro é muito comum e os grupos populacionais mais afetados, em ordem de prioridade, são: mulheres grávidas e lactantes, crianças (0 – 2 anos), crianças pré-escolares (2 – 6 anos), mulheres não grávidas em idade fértil, idosos, adolescentes e homens adultos. Mais de dois bilhões de pessoas, ou seja, 1/3 da população mundial são anêmicas devido a várias causas, incluindo a deficiência de ferro, que é a causa subjacente em cerca de um bilhão de casos de anemia. Em adição, outro um bilhão de pessoas tem estoque subnormal de ferro, ou seja, possuem deficiência de ferro, sem, porém, serem consideradas clinicamente anêmicas (UNICEF, 1998).

Devido aos efeitos deletérios que a deficiência de ferro tem sobre a saúde, é de grande interesse e contribuição verificar a concentração e a dialisibilidade do ferro em grãos de soja tostados, visto que este conhecimento pode ser útil na prevenção de tal deficiência.

2.2.3 Inibidores de proteases

Nos grãos de soja verifica-se a ocorrência natural de fatores antinutricionais, dos quais dois grupos são inibidores de proteases, o inibidor de tripsina Kunitz (KTI) e o inibidor de tripsina e quimotripsina Bowman-Birk (BBI) (STAHLHUT; HYMOWITZ, 1983).

Os inibidores de proteases representam cerca de 6% das proteínas presentes nos grãos de soja (BRANDON; BATES; FRIEDMAN, 1993).

Os inibidores tipo Kunitz são encontrados em todas as subfamílias *Leguminosae*: *Mimosoideae*, *Caesalpinoideae*, *Papilionoideae* e também na família *Solanaceae* (BATISTA et al., 1996).

A soja contém três vezes mais KTI do que BBI, em termos percentuais (TAN-WILSON et al., 1985).

A pesquisa sobre os inibidores de proteases foi centrada, principalmente, nos inibidores de tripsina, mais especificamente nos encontrados na soja, os quais foram supostamente responsabilizados pelo baixo valor nutritivo da leguminosa crua (XAVIER-FILHO; CAMPOS, 1989).

Os inibidores de proteases são substâncias pépticas (alfa-globulinas) que se complexam com a tripsina e quimotripsina, formando compostos de difícil dissociação, prejudicando a digestão das proteínas (GATEL, 1994; LIENER, 1994).

Cerca de 80% da inibição da atividade tríptica de grãos de soja é causada pela ação do KTI (BRANDON; HAQUES; FRIEDMAN, 1987).

2.2.4 Características químicas e físicas

Kunitz (1945) cristalizou e isolou da soja um produto com forte atividade inibitória da tripsina. Mais tarde, após caracterização das suas propriedades, foi demonstrada sua maior afinidade para a tripsina e menor para a quimotripsina. A esse produto foi

dado o nome de inibidor de tripsina ou fator antitripsina, que é uma proteína com peso molecular ao redor de 24.000, termolábil, com um espectro de absorção máxima a 280 nanômetros e ponto isoelétrico em pH 4,5. Experimentos *in vitro* com esse inibidor cristalino demonstraram, mesmo em alta diluição, uma reação estequiométrica praticamente irreversível e instantânea entre a tripsina e o inibidor, formando um composto estável que não se dissocia, exceto em meio fortemente ácido.

De acordo com Sgarbieri (1996), este inibidor é formado de 181 resíduos de aminoácidos com duas pontes dissulfeto e 2% de cisteína na molécula. Estudos com raio-X confirmaram as determinações feitas com dispersão óptico-rotatória e dicroísmo circular que indicavam ausência de α -hélice na molécula desse inibidor. A conformação se aproxima à esférica com cerca de 35 Å de diâmetro, enovelado por alças que protegem um núcleo de radicais hidrofóbicos. A estruturação secundária predominante é a folha pregueada em configuração β . O centro de ligação deste inibidor com a tripsina está localizado nos resíduos arginina 63 e isoleucina 64. Este se combina com a tripsina estequiometricamente formando complexo 1:1.

O inibidor de Bowman-Birk possui centros de ligação separados e independentes para tripsina e para quimotripsina, podendo inibir simultânea e independentemente as duas enzimas. Contêm 71 resíduos de aminoácidos, peso molecular ao redor de 8.000 e de sete a nove pontes de dissulfeto por mole de inibidor, devido ao elevado teor de cistina, que confere a este inibidor uma estrutura compacta, bastante resistente à desnaturação e à inativação tanto térmica quanto química. Seu centro de ligação da tripsina envolve os resíduos Lys-16 e Ser-17 enquanto que o centro de ligação da quimotripsina envolve Leu-43 e Ser-44. As seqüências de aminoácidos ao redor dos centros de ligação para as duas enzimas são muito similares. Entretanto, podem existir várias formas moleculares para o mesmo inibidor (SGARBIERI, 1996).

A estabilidade térmica dos inibidores de proteases depende de seu peso molecular e do grau de estabilização da conformação ativa por pontes de dissulfeto (BELITZ; GROSCH, 1988). O BBI da soja é mais estável ao calor e às variações do pH do que o KTI, devido às diferenças de tamanho e número de ligações dissulfeto (SGARBIERI; WHITAKER, 1982).

2.2.5 Atividade biológica

O possível papel fisiológico desempenhado pelos inibidores de proteases em plantas estaria relacionado com a proteção destas contra insetos e microorganismos (RYAN, 1981).

A descoberta dos inibidores de proteases provenientes de leguminosas, particularmente da soja, estimulou pesquisas sobre a ação em animais experimentais em virtude da sua interferência na nutrição destes (RACKIS, 1974).

Na verdade, os efeitos nocivos dos inibidores de proteases em animais alimentados com leguminosa crua são complexos. Muitos estudos com animais monogástricos têm atribuído os efeitos deletérios à presença dos inibidores de tripsina na alimentação, principalmente alterações metabólicas do pâncreas, que inclui aumento da secreção enzimática, hipertrofia, hiperplasia e redução da taxa de crescimento durante o consumo do mesmo (AL-WESALI et al., 1995).

A inibição da proteólise intestinal resulta em aumento de secreção das enzimas digestivas tripsina, quimotripsina e elastase, as quais são eliminadas nas fezes, representando uma perda endógena importante de aminoácidos sulfurados, principalmente de cistina (LIENER, 1994). O fato das proteínas de leguminosas serem deficientes nestes aminoácidos, aumenta o impacto nutricional dos inibidores (KENNEDY, 1995).

Green e Lyman (1972), estudando o mecanismo dos inibidores de tripsina que induziam à hipertrofia e hiperplasia, verificaram que a secreção pancreática foi controlada através de retroalimentação negativa e que a secreção enzimática foi inversamente proporcional à quantidade de tripsina presente no intestino.

As evidências experimentais, para a explicação da hipertrofia pancreática provocada em ratos com administração de altas doses de inibidor de tripsina, induzem à aceitação do mecanismo de inibição retroativa do controle da secreção do pâncreas. No mecanismo de inibição retroativa proposto para a regulação da secreção enzimática do pâncreas, são os níveis de tripsina e/ou quimotripsina livres no intestino delgado que determinam a quantidade de secreção pancreática, isto é, quando o nível de tripsina

abaixa a um certo limiar o pâncreas é induzido através da colecistoquinina (CCK) a secretar mais enzima (RACKIS; GUMBMANN, 1982). O inibidor de tripsina bloqueia a ação da tripsina resultando em aumento excessivo da concentração plasmática de CCK, e desta forma, o pâncreas é continuamente estimulado a liberar mais enzima, provocando hipertrofia pancreática (LIDDLE; GOLDFINE; WILLIAMS, 1984).

Liddle; Goldfine e Williams (1984) observaram elevação dos níveis de CCK em ratos, após a aplicação intragástrica de inibidor de tripsina extraído da soja.

Inicialmente não se sabia como a inativação da tripsina pelo inibidor estimulava a produção de CCK. Para tanto, foi isolado do suco pancreático de ratos um “peptídeo monitor”, ou seja, um peptídeo sensível à tripsina. Esse peptídeo age como um sinal para liberação do hormônio CCK na mucosa intestinal. A inativação desse peptídeo pela tripsina leva ao bloqueamento da liberação de CCK, porém, quando a tripsina está complexada com o inibidor, o peptídeo está livre para induzir a liberação do referido hormônio, cujo efeito é o aumento do pâncreas, com a conseqüente elevação da secreção de enzimas digestivas (LIENER, 1994).

Bender (1987) relata que existem discordâncias entre autores sobre a hipertrofia do pâncreas em animais, uma vez que alguns pesquisadores observaram aumento do número de células, enquanto que outros aumento do tamanho das células ou ambos fenômenos.

Brandon e Bates (1988), verificaram que o uso prolongado de produtos derivados de soja contendo inibidores ativos, em cobaias, promoveu desenvolvimento de hiperplasia nodular pancreática, isto é, aumento do número de células e adenomas celulares (tumor benigno).

Os resultados da pesquisa de Grant et al. (1988) com ratos alimentados com proteína de soja, mostraram considerável aumento do tamanho do pâncreas. Diferentemente de ratos e galinhas, a ingestão de farinha de soja e feijão crus por porcos da Índia, bezerros e cachorros não provocou hipertrofia pancreática, contudo, observou-se hiposecreção das enzimas pancreáticas e séricas, depressão do ganho de peso corporal ou mesmo perda de peso (HASDAI et al., 1989).

Para Rackis e Gumbmann (1982), a inibição do crescimento em animais jovens alimentados com leguminosas cruas é provocada pela excessiva perda fecal de

proteína secretada pelo pâncreas, visto que as enzimas pancreáticas são ricas em aminoácidos sulfurados e esta perda endógena não pode ser compensada pela ingestão de proteínas das leguminosas.

Calam et al. (1987) e Holm et al. (1992) estudaram os efeitos dos inibidores de proteases em humanos. O primeiro estudo mostrou que a infusão duodenal de soja crua estimulou a produção de tripsina e quimotripsina pelo pâncreas, enquanto que o segundo evidenciou que humanos alimentados com soja crua apresentavam níveis aumentados de CCK no sangue.

Segundo Deshpande e Nielsen (1987), embora a hipertrofia pancreática seja freqüentemente reportada em animais de laboratório, supostamente desencadeada pela presença de inibidores de protease, ainda não existem evidências de efeitos deletérios em seres humanos.

No entanto, Liener et al. (1988) observaram efeito estimulatório do inibidor de Bowman-Birk na atividade do pâncreas de seres humanos. Quando foram adicionados mais que 4 mg de inibidor por ml de suco pancreático, houve aproximadamente 95% de inibição da tripsina e 50% de inibição da elastase.

Sabe-se que o consumo de pratos à base de soja pela população brasileira não é significativo se comparado ao do feijão. Por outro lado, a funcionalidade de suas proteínas faz com que seus derivados sejam utilizados como ingredientes em diversos produtos, tais como molhos, sopas e produtos cárneos industrializados. Indivíduos com dietas diferenciadas, tais como os vegetarianos e os indivíduos intolerantes à lactose e/ou alérgicos às proteínas do leite, consomem quantidades significativas de derivados de soja (LIENER, 1994).

Portanto, ainda permanece a questão se a ingestão crônica de baixas concentrações de inibidores constituiria risco à saúde humana, principalmente para determinados grupos da população, como crianças e vegetarianos.

2.2.6 Ação de enzimas digestivas

Os inibidores de tripsina apresentam características próprias em relação à sua hidrólise proteolítica. Acreditava-se que o BBI não era hidrolisado pela papaína (SGARBIERI, 1979) nem pela pepsina (TSUKAMOTO; MIYOSHI; HAMAGUCHI, 1983), enquanto que o KTI teria esta propriedade em relação a estas duas substâncias (VAINTRAUB; YATTARA, 1995). Era suposto que o BBI seria relativamente estável à exposição do suco gástrico humano (LIENER, 1986).

No entanto, Hajós et al. (1995) verificaram que, em experimentos com ratos, ficou evidenciado que 4,8% do BBI e 76% do KTI, administrados oralmente, resistiram à degradação pelas enzimas digestivas durante a passagem pelo intestino.

De acordo com Stipanuk (2000), quando certas ligações peptídicas não são hidrolisadas no processo digestivo, parte da proteína é excretada nas fezes ou metabolizada pelos microrganismos do intestino grosso.

2.2.7 Efeitos do tratamento térmico

Os grãos de soja, devido à presença de fatores antinutricionais que diminuem sua eficiência alimentar, necessitam de um adequado processamento térmico para desativação desses componentes sem afetar suas propriedades nutritivas (CAFÉ et al., 2000).

Desde o início do século, com os trabalhos de Osborne e Mendel (1917) sobre o valor nutritivo da soja realizados com ratos, reconhece-se a necessidade do tratamento térmico dessa leguminosa.

Um dos efeitos benéficos do tratamento térmico da soja é a destruição de substâncias antinutricionais termolábeis, como o inibidor de tripsina. A melhoria da qualidade nutricional dos produtos de soja depende da temperatura, do tempo de

tratamento térmico e do teor de umidade (LIENER, 1994; KAANKUKA; BALOGUN; TEGBE, 1996).

Outra vantagem do tratamento térmico é a melhora da palatabilidade devido à inativação das lipoxigenases (ZHU et al., 1996).

Del Valle (1981) constatou que, em geral, a qualidade protéica da soja aumenta no período inicial do tratamento térmico, devido à inativação de fatores biologicamente ativos, passando por período de máxima qualidade e depois diminuindo, com a destruição de aminoácidos essenciais como cistina e lisina.

Carvalho et al. (2002) constataram que o tratamento térmico pode melhorar a digestibilidade da proteína de soja *in vitro*, ocorrendo um acréscimo de 25% a 39%, uma vez que o aquecimento possibilita a abertura da estrutura da proteína através da desnaturação e/ou inibe total ou parcialmente os inibidores de tripsina.

Segundo Deshpande e Damodaran (1989) e Carbonaro; Marletta e Carnovale (1992), a melhora na digestibilidade com o tratamento térmico é atribuída às alterações estruturais das proteínas, aumentando a susceptibilidade à hidrólise enzimática. Todavia, foi afirmado por Nunes e Baptista (2001) que o tratamento térmico excessivo pode causar um decréscimo na digestibilidade da proteína, pela formação de ligações cruzadas.

Abimorad e Carneiro (2004) verificaram que entre os alimentos protéicos de origem vegetal, a soja tostada apresentou os melhores coeficientes de digestibilidade, mostrando que o tratamento térmico usado para inibição dos fatores antinutricionais interferiu positivamente na digestibilidade.

A necessidade do tratamento térmico da soja integral para sua utilização na alimentação de animais monogástricos fez com que fossem desenvolvidos vários tipos de processamentos visando a inativação dos fatores antinutricionais. Sakomura et al. (2004) relatam que os principais métodos de processamento da soja integral são a extrusão e a tostagem pelo vapor. Jorge Neto (1992) descreve sete métodos de processamento da soja: tostagem por tambor rotativo, por vapor úmido, por vapor seco e por "*jet sploder*", micronização, microondas e extrusão úmida ou seca.

As informações disponíveis sobre cada um dos processos existentes são muito heterogêneas, gerando confusão quanto ao melhor tratamento a se aplicar para a obtenção de um produto de qualidade (BARBI, 1996).

O objetivo comum entre as tecnologias existentes é a obtenção de um produto homogêneo, com índice residual mínimo de fatores antinutricionais e ótima qualidade protéica. Os processos diferem quanto às variáveis aplicadas (tempo, temperatura, pressão, umidade, superfície exposta, tamanho da partícula e tipo de energia utilizada), mas se assemelham com relação à utilização do calor para a inativação dos inibidores de tripsina (DE SCHUTTER; MORRIS, 1990).

A tostagem é um processo de origem pré-histórica ainda usado hoje em dia, com algumas modificações. Existem numerosos modelos, incluindo sistemas convencionais, similares aos usados para secagem de cereais, e sistemas com aplicação de calor úmido. A diferença entre os métodos de tostagem está na forma de aplicação do calor (seco ou úmido) e na existência ou não de laminação ou expansão. Sua forma mais simples consiste na aplicação direta e intensa do calor seco durante determinado tempo (KATIC et al., 1996).

Em geral, a inativação do inibidor de tripsina pelo calor está em função do binômio tempo/temperatura, do tamanho da partícula da amostra e das condições de umidade. Essas variáveis, quando são cuidadosamente controladas durante o processamento da soja, têm garantido a obtenção de produtos com alto valor nutritivo (LIENER, 1994).

Quanto à estabilidade térmica, o BBI em estado puro parecia mais estável do que o KTI. Por isso, acreditava-se que a atividade residual de inibição encontrada nos produtos de soja fosse devida ao BBI. Porém, com o uso de técnicas analíticas que permitem identificar cada um dos inibidores, verificou-se que o BBI era mais inativado do que o KTI. Obviamente, isso acontece quando os inibidores estão presentes na fração protéica da soja (DIPIETRO; LIENER, 1989; BRANDON; BATES; FRIEDMAN, 1991). A explicação para a maior inativação do BBI talvez seja em virtude da formação de pontes de enxofre entre resíduos de cisteína do BBI com a cisteína da matriz protéica da soja. Essa reação é acelerada pelo calor (LIENER, 1995).

Contudo, a estabilidade térmica dos inibidores é bastante variada, estando na dependência de vários fatores, tais como os já citados: tempo, temperatura, umidade e conformação estrutural do inibidor. Em alguns cultivares de feijão, a atividade dos inibidores é destruída em menos de 10 minutos, com aquecimento a 120°C, enquanto que em outros ela pode ser detectada após 60 minutos de tratamento a 100°C. A resistência oferecida pelos inibidores à inativação térmica pode ser devida à sua configuração compacta, como consequência do elevado número de ligações dissulfídicas nas suas moléculas (SGARBIERI; WHITAKER, 1982).

A inativação térmica dos inibidores de tripsina e a desnaturação térmica das globulinas da soja aumentam a suscetibilidade às proteólises e melhoram a qualidade da proteína para a alimentação humana e animal. Quando há excesso de aquecimento, o valor nutricional reduz, possivelmente, devido às ligações cruzadas das cadeias peptídicas pela acilação dos grupos de aminoácidos livres. Estas ligações cruzadas tornam a lisina indisponível, em decorrência da acilação ou das dificuldades de se hidrolisar as pontes peptídicas (SNYDER; KWON, 1987).

Vários procedimentos têm sido adotados para o tratamento térmico dos grãos, implicando em inativação dos fatores antinutricionais e em mudanças na estrutura das proteínas, mas ainda não existe consenso das condições de aquecimento mais adequadas para a inativação dos inibidores de tripsina.

Antunes e Sgarbieri (1980) obtiveram inativação total de inibidor de tripsina em feijões (*Phaseolus vulgaris*) embebidos em água destilada por uma noite e submetidos à temperatura de 97°C por 7,5 minutos.

A umidade exerce importante papel na inativação dos inibidores. Nunes e Dierck (1993), verificaram que os efeitos da fervura ou imersão em água por 10 minutos e subsequente tostagem da soja durante 30 a 40 minutos, foram efetivos no desempenho de leitões, quando comparados com os resultados obtidos através do uso de grãos tostados a seco.

Porém, de acordo com Brandon; Bates e Friedman (1991), o tratamento térmico não é suficiente para inativação completa desses inibidores, tendo sido demonstrado que é possível encontrar atividade residual de 10% a 15% de inibição de proteases em

produtos de soja, mesmo após tratamento térmico. Produtos de soja disponíveis no mercado retêm de 5 a 20% da atividade de inibição da tripsina (LIENER, 1994).

Genovese e Lajolo (1998), analisando a atividade inibitória de tripsina em produtos comerciais de soja consumidos pela população, tais como bebidas à base de extrato de soja e fórmulas não-lácteas à base de proteína isolada de soja, verificaram que os produtos à base de extrato de soja apresentaram valores bastante elevados, de 18% a 30 % da atividade inibitória de tripsina (UIT/g proteína), sendo que os demais produtos apresentaram valores em torno de 5%.

Barcelos et al. (1999), avaliando os efeitos do processamento sobre grãos de soja e de feijão guandu, observaram que os processamentos térmicos utilizados para os enlatamentos, sendo 121°C por 6 a 7 minutos para a soja e 5 a 6 minutos para o guandu, foram suficientes para eliminar 83% da atividade dos inibidores de tripsina de ambos.

Galeazzi e Sgarbieri (1988) observaram regeneração, em até 100% da atividade, após digestão enzimática de amostras de feijão autoclavadas.

Carvalho et al. (2002), avaliaram a reativação dos inibidores de tripsina após proteólise *in vitro* de grãos de soja que foram embebidos e aquecidos por 30 minutos. Os inibidores tiveram suas atividades totalmente inativadas com o aquecimento, porém, após a proteólise, apresentaram cerca de 40% de recuperação.

Brandon; Bates e Friedman (1993) relataram que certos grupos da população podem estar ingerindo cerca de 10mg de inibidores de proteases ativos por dia. Esta quantidade pode ser biologicamente significativa. Segundo revisão feita por Belitz e Weder (1990) a ingestão diária de inibidores de tripsina provenientes de diversas fontes na dieta (leite, carne, ovos, vegetais, etc.) inibiria, num cálculo aproximado, cerca de 300 mg de tripsina bovina ou 186 mg de tripsina humana.

Dessa forma, torna-se necessário quantificar as atividades residuais desses inibidores de acordo com cada tratamento aplicado, de modo a permitir uma avaliação do quanto está sendo realmente inativado.

2.3 Materiais 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.

2.3.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada para a realização do experimento foi grãos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) doados pelo Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, sendo do cultivar BRS 133, safra 2002/2003, cultivada na Estação Experimental de Anhembi - ESALQ/USP.

Para as análises, os grãos de soja crus foram lavados, macerados e submetidos a diferentes tratamentos, tendo como controle a amostra macerada e seca.

Foram realizados os seguintes tratamentos:

- **T1 - Tratamento 1:** maceração do grão em água deionizada na proporção 1:3 (14 horas), descarte da água, retirada manual da casca, secagem em estufa por 8 horas (55°C), tostagem em forno convencional (a gás) por 10 minutos à temperatura de 220°C;
- **T2 - Tratamento 2:** maceração do grão em água deionizada na proporção 1:3 (14 horas), descarte da água, retirada manual da casca, secagem em estufa por 8 horas (55°C), tostagem em forno convencional (a gás) por 15 minutos à temperatura de 220°C;
- **T3 - Tratamento 3:** maceração do grão em água deionizada na proporção 1:3 (14 horas), descarte da água, retirada manual da casca, tostagem em forno convencional (a gás) por 45 minutos à temperatura de 220°C;

- **T4 - Tratamento 4:** maceração do grão em água deionizada na proporção 1:3 (14 horas), descarte da água, retirada manual da casca, tostagem em forno convencional (a gás) por 50 minutos à temperatura de 220°C;
- **T5 - Tratamento 5:** maceração do grão em água deionizada na proporção 1:3 (14 horas), descarte da água, retirada manual da casca, tostagem em forno convencional (a gás) por 60 minutos à temperatura de 220°C;
- **Controle:** maceração do grão em água deionizada na proporção 1:3 (14 horas), descarte da água, retirada manual da casca e secagem em estufa por 31 horas à 55°C.

2.3.2 Análises químicas

2.3.2.1 Preparo das amostras

Os grãos secos e tostados no laboratório foram triturados em moinho de facas e a farinha peneirada em malha de 30 “mesh”, a qual foi utilizada para as análises químicas. Essa farinha foi armazenada em saco de polietileno fechado (medindo 20x30 cm, com peso individual de 10g) e mantida em temperatura de refrigeração (4°C).

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.3.2.2 Composição centesimal

As análises químicas de teor de umidade, proteína bruta, extrato etéreo e cinza foram realizadas de acordo com a metodologia indicada pela AOAC (1995).

Para a determinação do teor de matéria seca foi utilizado o método gravimétrico, em que as amostras foram secas em estufa a 105°C, até peso constante.

O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método Microkjeldahl, sendo o teor protéico determinado pela multiplicação do conteúdo de nitrogênio total pelo fator 5,71, específico para soja.

O extrato etéreo foi determinado utilizando-se o extrator de Soxhlet. Na extração foi utilizado como solvente o éter etílico à temperatura de 45-50°C em refluxo contínuo da amostra durante 6 horas. Recuperado o éter etílico, os tubos foram retidos e colocados em estufa por 20 minutos a 100°C, depois disso os tubos esfriaram em dessecador e foram pesados, obtendo-se a quantidade de lipídeos por diferença de peso do tubo.

A cinza foi determinada incinerando-se a amostra em mufla à temperatura de 550-600°C por 4 horas.

Os carboidratos foram obtidos por diferença, ou seja, 100% - (% proteína + % umidade + % fibra + % cinza + % extrato etéreo).

O teor de fibra dietética foi determinado de acordo com o método de Asp et al. (1983). Esse ensaio determina o conteúdo de fibra solúvel e insolúvel dos alimentos usando uma combinação dos métodos enzimáticos e gravimétricos. As amostras desengorduradas foram tratadas com α -amilase estável ao calor e então digeridas enzimaticamente com pepsina e pancreatina. O etanol foi adicionado para precipitar a fibra solúvel. Todos os resíduos foram filtrados e lavados com etanol e acetona. Após secagem, os resíduos foram pesados e analisou-se proteína e cinza. O total de fibra foi calculado como o peso do resíduo menos o peso da proteína e da cinza.

2.3.2.3 Minerais

O teor de ferro foi determinado pelo método descrito por Sarruge e Haag (1974), sendo utilizada a digestão com ácido nítrico perclórico a 50°C por 10 a 15 minutos e a 100°C até digerir todo o material e atingir temperatura de 150°C. Após o resfriamento e diluição do material com água desmineralizada foi realizada a leitura em

espectrofotômetro de absorção atômica modelo PERKIM-ELMER 360. Utilizou-se o comprimento de onda de 248,3 nm.

2.3.3 Fatores antinutricionais

2.3.3.1 Extração dos inibidores de tripsina

A extração dos inibidores de tripsina foi realizada agitando-se 0,5 grama da amostra diluída em 25 ml de hidróxido de sódio 0,01 N durante 2 horas à temperatura ambiente, a fim de acertar o pH entre 8,4 e 10,0, como recomendado por Kakade; Simons e Liener (1974). A suspensão foi então centrifugada (8.000 rpm durante 10 minutos) e o sobrenadante utilizado para revelação dos inibidores por eletroforese e determinação da atividade inibitória de tripsina. O sobrenadante teve seu teor protéico determinado pelo método Microkjeldahl (AOAC, 1995).

2.3.3.2 Atividade inibitória de tripsina

A atividade inibitória de tripsina foi determinada de acordo com Kakade; Simons e Liener (1974), usando-se benzoil-DL-arginina-*p*-nitroanilida (BAPA) como substrato. Foram pipetados de 0,6 a 1,8 ml de extrato da amostra, sendo o volume final ajustado para 2 ml com água deionizada. Em seguida, foram adicionados 2 ml de solução de tripsina e 5 ml de solução de BAPA. A mistura permaneceu durante 10 minutos em banho-maria a 37°C, sendo a reação interrompida com a adição de 1 ml de ácido acético 30%. A absorbância foi lida a 410 nm, sendo realizada a subtração do branco correspondente. Uma unidade de tripsina inibida (UTI) foi definida arbitrariamente como

o aumento de 0,01 unidades de absorvância a 410 nm. Os resultados foram expressos como UTI por mg de proteína.

2.3.4 Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

A eletroforese em gel de poliacrilamida 10% foi realizada de acordo com o método de Laemmli (1970), em condições desnaturantes e na presença de Sódium Dodecil Sulfato (SDS). O gel foi polimerizado em placa de 10,2 x 8,3 cm. A eletroforese foi realizada em voltagem constante de 120 V com corrente máxima limitada em 40 mA.

Como padrões foram utilizados o Inibidor de Tripsina da soja (Sigma Tipo I-S, T-9003), enzima Tripsina bovina (Symlyar 1:250) e a enzima Superóxido Desmutase (SOD) de fígado bovino (Sigma, S-8160).

As quantidades utilizadas foram as seguintes: Marcador de Peso Molecular – 10 µL; SOD – 40 µL; Enzima Tripsina – 10 µL; Inibidor de Tripsina – 10 µL; Amostra – 40 µL; Amostra + Enzima Tripsina – 50 µL; Amostra + SOD + Enzima Tripsina – 90 µL.

Após a eletroforese, os géis de poliacrilamida foram corados em Coomassie Blue R-250.

Em seguida à coloração, os géis foram analisados utilizando-se o densitômetro laser Amershan Biosciences e o programa Image Master 2D Platinun (Amershan Biosciences, 2003).

2.3.5 Digestibilidade da 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 misturada com solução de pepsina na concentração de 3 mg/ml em HCl 0,1N e deixada a 37°C por 3 horas. Posteriormente, foi neutralizada com NaOH 0,1N, sendo então adicionada a solução de pancreatina na concentração de 0,4% em tampão fosfato 0,1M à pH 8,0, ficando a mistura incubada durante 24 horas sob agitação à 37°C. Foram retirados 2 ml da mistura, na qual foram acrescentados 8 ml de ácido pícrico a 1%. Logo após, foi centrifugada a 4.000 rpm por 30 minutos. Do sobrenadante foi determinado o nitrogênio através do método Microkjeldahl (AOAC, 1995).

2.3.6 Reativação do inibidor de tripsina

Depois de realizada a digestibilidade *in vitro*, do hidrolisado resultante foi determinada a reativação dos inibidores de tripsina, de acordo com Kakade; Simons e Liener (1974), em comparação com a atividade das amostras maceradas e tostadas.

2.3.7 Disponibilidade de ferro *in vitro*

Realizou-se a diálise de ferro segundo o método proposto por Luten et al. (1996). A soja foi submetida à digestão *in vitro*. Primeiramente, as amostras foram homogeneizadas em água deionizada. Em seguida, adicionou-se HCL 6 N até que o pH atingisse o valor 2, na seqüência adicionou-se HCL 0,01 N até que se completasse o volume a 100 ml. Então, foi realizada a digestão com adição de solução de pepsina e incubação a 37°C com agitação por 2 horas. Foi medida a acidez titulável, adicionando-se solução de pancreatina e titulando-se com KOH 0,5 N até pH 7,5. A partir do volume de KOH titulável, fez-se uma diluição do mesmo volume de NaHCO₃ 0,5 N.

A diálise foi realizada colocando-se o digerido em sacos de diálise, sendo acrescentado três vezes o volume de NaHCO₃ 0,5 N de modo que o digerido ficasse

submerso. O conteúdo do dialisável foi completado a 25 ml, com água deionizada. Os fracos foram cobertos e agitados durante 30 minutos a 37°C. Adicionou-se solução de bile pancreatina, seguida de mais 2 horas de incubação. Foram pipetados 5 ml do dialisado em tubos de centrifuga e adicionado solução precipitante de proteína. Ao sobrenadante adicionou-se solução cromogênica, sendo que após 10 minutos realizou-se a leitura a 533 nm em espectrofotômetro Beckman modelo DU 640. A quantidade de ferro dialisado foi obtida através da utilização de uma curva padrão previamente preparada.

2.3.8 Análise sensorial

Compararam-se os grãos de soja tostados obtidos através dos diferentes tipos de tratamentos. Para isso, realizou-se o teste hedônico (aceitabilidade) segundo Chaves e Sproesser (1996), com escala hedônica de nove pontos, como segue abaixo:

- 1 – Desgostei extremamente
- 2 – Desgostei muito
- 3 – Desgostei moderadamente
- 4 – Desgostei ligeiramente
- 5 – Indiferente
- 6 – Gostei ligeiramente
- 7 – Gostei moderadamente
- 8 – Gostei muito
- 9 – Gostei extremamente

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.

Foram selecionados aleatoriamente 40 provadores não treinados dentre uma população de adultos saudáveis, de 18 a 50 anos, ambos os sexos, sem vínculo de

subordinação com os pesquisadores e que manifestaram seu consentimento assinando o termo de consentimento livre e esclarecido conforme a Resolução 196/96 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2003).

Em cabines individuais, cada provador recebeu seis amostras de grãos de soja tostados, em porções de 10 g por amostra, sendo uma amostra para cada tratamento, adicionados de 2% de sal, que foram servidos em pratos brancos, codificados com números de três dígitos escolhidos de forma aleatória.

2.3.9 Análise estatística

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com 3 repetições para todas as análises químicas. Realizou-se análise de variância pelo teste F e comparação das médias obtidas nos diferentes tratamentos segundo teste de Tukey ($p < 0,05$) (PIMENTEL-GOMES, 1982) através do programa Statistical Analysis System (SAS, 1996).

Para melhor comprovação dos resultados, foi realizado o desdobramento dos graus de liberdade de tratamentos em contrastes ortogonais para a digestibilidade da proteína *in vitro*, atividade inibitória da tripsina (antes e depois da proteólise *in vitro*), ferro em base fresca e também dialisável. Fizeram-se os seguintes contrastes:

- Y1 → todos *versus* controle
= $T_1 + T_2 + T_3 + T_4 + T_5 - 5T_6$
- Y2 → com secagem *versus* sem secagem
= $3T_1 + 3T_2 - 2T_3 - 2T_4 - 2T_5 + 0T_6$
- Y3 → forno por 10 minutos *versus* forno por 15 minutos, com secagem
= $T_1 - T_2 + 0T_3 + 0T_4 + 0T_5 - 0T_6$
- Y4 → forno por 45 minutos + forno por 50 minutos *versus* forno por 60 minutos, sem secagem
= $0T_1 + 0T_2 + T_3 + T_4 - 2T_5 - 0T_6$
- Y5 → forno por 45 minutos *versus* forno por 50 minutos, sem secagem

$$= OT1 + OT2 + T3 - T4 - OT5 - OT6$$

Quanto à análise sensorial, realizou-se também o teste de independência. Assim, foram feitas tabelas de contingência para cada cruzamento das variáveis estudadas, utilizando-se a estatística do χ^2 (Qui-quadrado) de Pearson para inferência (BURT, 1950; ANDERSEN, 1991; GREENACRE, 1993).

2.4 Resultados e discussão

2.4.1 Composição centesimal

Os dados referentes à composição centesimal dos grãos de soja tostados por diferentes tempos encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Médias obtidas pelos tratamentos e teste de Tukey para a composição centesimal de grãos de soja tostados por diferentes tempos

Tratamentos ³	Umidade (%)	Extrato Etéreo (%)	Proteína (%)	Cinzas (%)	Fibras Totais (%)	Carboidrato (%)
T1	8,33±0,4 ^{1a2}	22,25±0,9 ^c	33,09±3,0 ^a	4,44±0,1 ^b	18,66±0,1 ^{cd}	13,23
T2	7,57±0,4 ^a	22,74±0,4 ^{bc}	32,67±2,2 ^a	4,49±0,1 ^b	20,49±1,3 ^b	12,04
T3	6,20±0,2 ^b	24,66±0,9 ^a	34,27±1,9 ^a	4,49±0,0 ^b	20,18±0,1 ^{bc}	10,20
T4	7,27±0,5 ^{ab}	24,20±0,4 ^{ab}	32,99±1,5 ^a	4,53±0,1 ^b	21,75±0,6 ^{ab}	9,26
T5	4,83±0,6 ^c	24,07±0,2 ^{ab}	34,64±0,7 ^a	4,54±0,1 ^b	22,66±0,6 ^a	9,26
Controle	1,97±0,1 ^d	24,11±0,3 ^{ab}	32,72±2,0 ^a	4,81±0,1 ^a	17,75±0,5 ^d	18,63

¹ Média ± desvio padrão.

² Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

³ Tratamentos: T1 – com pré-secagem + 10 min. de forno; T2 – com pré-secagem + 15 min. de forno; T3 – sem pré-secagem + 45 min. de forno; T4 – sem pré-secagem + 50 min. de forno; T5 – sem pré-secagem + 60 min. de forno.

Como pode ser observado, os teores de umidade, extrato etéreo, cinzas, fibras totais e carboidratos das amostras estudadas diferiram significativamente ($p \leq 0,05$), enquanto que os teores de proteína não apresentaram diferenças estatísticas.

A porcentagem de umidade entre as amostras apresentou variação de 4,83% a 8,33%. Os tratamentos com pré-secagem (T1 e T2) tiveram médias significativamente maiores ($p \leq 0,05$) que os sem secagem, exceto para o T4. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que as amostras relativas a esses tratamentos, apesar de terem sido previamente secas, ficaram expostas ao calor por um tempo bem menor que as demais. Tal fato é comprovado pelo resultado da T1, que obteve a maior média, mas ficou por menor tempo, 10 minutos. Nos tratamentos sem pré-secagem, as médias do T3 e T4 foram significativamente maiores ($p \leq 0,05$) que as médias do T5, novamente confirmando a influência do tempo de tostagem na umidade do grão. O controle apresentou média significativamente inferior ($p \leq 0,05$) aos demais tratamentos, sendo esse valor justificado pelo tempo de exposição à temperatura de estufa, ou seja, 31 horas a 55°C.

Café et al. (2000) encontraram teor de umidade de 12,16% para soja tostada, valor próximo ao encontrado por Monteiro et al. (2003) para farinha de soja integral, processada a 89°C durante 5 minutos, da qual obteve 12,81% de umidade, estando, assim, bem acima do encontrado neste trabalho.

A porcentagem de umidade referida pelo National Research Council (NRC) de 1977, 1988 e 1998 para soja tostada é de 10%. A média de umidade encontrada por Murray (1996) em soja crua foi de 10,8%, semelhante ao valor referido pelo NRC, apesar de se apresentarem em condições de processamento bastante diferentes. Portanto, esse valor pode variar de acordo com o tratamento empregado, como ocorrido neste trabalho, onde os teores variaram de acordo com tempo de tostagem aplicado.

Quanto aos valores obtidos para o extrato etéreo, estes variaram de 22,25% a 24,66%. A média de extrato etéreo encontrada por Café et al. (2000) na análise de soja tostada foi de 18,67%. O NRC de 1977, 1988 e 1998 apresentaram para a soja tostada valores de extrato etéreo de 18%, 18,8% e 18%, respectivamente. Essa diferença pode ser devido à retirada da casca. Já Rodrigues et al. (2002) verificaram, na soja tostada, 22,06% de lipídeos, sendo esse valor bem próximo ao encontrado por Monteiro et al.

(2003), que refere 23,74% para farinha de soja integral. Como pode ser observado, os valores encontrados neste trabalho são bastante satisfatórios, pois encontram-se de acordo com a literatura.

O teor de proteína encontrado variou de 32,67 a 34,64%, estando de acordo com a média encontrada por Café et al. (2000), que foi de 34,93% para soja tostada. De acordo com Bressani e Elias (1974), o conteúdo de proteína de várias leguminosas varia de 18% a 32%. Segundo o NRC de 1977, 1988 e 1998, o teor de proteína para soja tostada foi de 37%, 36,7% e 35,2%, respectivamente. Setna (2000) refere, para soja tostada, o teor de 36%, confirmado por Blas; Mateos e Rebollar (2001). Rostagno (2000) encontrou 37,5% para soja tostada, sendo que resultado semelhante foi verificado por Rodrigues et al. (2002). Considerando os valores referenciados, os teores obtidos ainda se encontram dentro dos limites esperados, sendo, portanto, considerados como adequados quanto ao tipo de processamento aplicado.

Os resultados das cinzas são condizentes com os apresentados por Café et al. (2000), o qual apresentou teores de cinzas de 4,37% para soja tostada. Valores semelhantes foram encontrados por Rodrigues et al. (2002) na análise de soja tostada, sendo estes, em média, de 4,46%. Segundo Bressani e Elias (1974), o conteúdo de cinza em leguminosas varia de 2,5% a 4,2% na matéria seca.

Quanto ao teor de fibras totais, os valores encontrados estão entre 17,75% e 22,66%, havendo equivalência com os dados da Tabela de Composição dos Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (2005), que apresenta a quantidade de 21,67% para grãos de soja crus. Já Kawaga (1995), apresenta o teor de 17,1% de fibras totais para grãos crus. Observando os valores encontrados, verifica-se que, em comparação à literatura citada, a tostagem em forno convencional não alterou os teores de fibras.

As quantidades de carboidratos disponíveis, obtidos por diferença, nas amostras analisadas apresentaram valores que variaram de 9,26% a 18,63%. A maior média foi obtida pelo controle (18,63%), como era esperado, devido às características da composição dessa amostra, principalmente com relação à umidade.

Segundo Rodrigues et al. (2002), a quantidade de carboidrato encontrada em soja integral tostada foi de 10,16%. Monteiro et al. (2003) descreve um valor médio de

17,36% de carboidrato para farinha de soja integral. De acordo com a FAO (2005), a quantidade de carboidrato na soja crua é de 15,8%. Assim, os valores encontrados neste trabalho são condizentes com os referidos na literatura.

2.4.2 Ferro

Os resultados obtidos na análise do ferro em base fresca e sua dialisibilidade estão apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 - Médias obtidas pelos tratamentos e teste de Tukey, para as variáveis referentes à porcentagem de ferro em base fresca e dialisável

Tratamentos ³	Ferro em base fresca (mg/kg)	Ferro dialisável (%)
T1	83,67±12,1 ^{1a2}	0,95±0,0 ^b
T2	65,77±6,2 ^a	1,27±0,0 ^{ab}
T3	61,53±4,6 ^a	1,38±0,1 ^a
T4	74,40±17,2 ^a	1,25±0,0 ^{ab}
T5	63,27±0,7 ^a	1,19±0,3 ^{ab}
Controle	58,80±2,8 ^a	1,22±0,1 ^{ab}

¹ Média ± desvio padrão.

² Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

³ Tratamentos: T1 – com pré-secagem + 10 min. de forno; T2 – com pré-secagem + 15 min. de forno; T3 – sem pré-secagem + 45 min. de forno; T4 – sem pré-secagem + 50 min. de forno; T5 – sem pré-secagem + 60 min. de forno.

De acordo com a Tabela 2, a quantidade de ferro nas amostras analisadas variou de 83,67 a 58,8 mg/kg. Verifica-se que, com base no teste de Tukey, para ferro em base fresca, não houve nenhuma diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

Elpo et al. (1998) avaliaram o teor de ferro de alguns alimentos da cesta básica do estado do Paraná e encontraram valores de 59,84 a 78,75 mg/kg de ferro para o feijão. Esses dados demonstram que os valores encontrados neste trabalho são bastante satisfatórios, porém, a ausência na literatura de trabalhos com este tipo de

produto, impedem maiores considerações e analogias, contudo, a comparação foi realizada em virtude de ambas serem leguminosas.

Tabela 3 – Valor dos contrastes ortogonais e respectiva significância estatística pelo teste F

Ferro em base fresca (mg/kg)		
Critérios	Coeficiente de Correlação	P
Y1 = todos vs controle	+54,64	0,08281
Y2 = com secagem vs sem secagem	+49,92	0,10988
Y3 = forno por 10 min vs forno por 15 min, com secagem	+17,90	0,03333*
Y4 = forno por 45 min + forno por 50 min vs forno por 60 min, sem secagem	+9,39	0,50915
Y5 = forno por 45 min vs forno por 50 min, sem secagem	-12,87	0,11032
Ferro dialisável (%)		
Critérios	Coeficiente de Correlação	P
Y1 = todos vs controle	-0,06	0,82306
Y2 = com secagem vs sem secagem	-0,98	0,04058*
Y3 = forno por 10 min vs forno por 15 min, com secagem	-0,32	0,01409*
Y4 = forno por 45 min + forno por 50 min vs forno por 60 min, sem secagem	+0,25	0,21251
Y5 = forno por 45 min vs forno por 50 min, sem secagem	+0,13	0,27999

*Valor significativo ao nível de 5% ($p \leq 0,05$) pelo teste F.

Segundo Canniatti-Brazaca e Silva (1999), há uma variação no teor de ferro das leguminosas que vai de 68,33 (feijão guandu) a 153,4 mg/kg (soja). Neste caso, verifica-se que os valores encontrados estão abaixo do citado pelos referidos autores, no entanto, essa variação pode ser decorrente de diferenças no clima, condições de solo, maturidade, variedades, além de fatores de processamento (BATH et al., 1999).

Entretanto, Cook (1983) e Lynch (1997) confirmam que não é o maior teor de ferro total o responsável pela maior absorção deste mineral. Neste caso, é possível observar que entre as amostras com pré-secagem, a T2 foi a que apresentou, em termos absolutos, a menor quantidade de total de ferro, mas, em contrapartida, a maior dialisibilidade do mesmo. Entre as que não receberam pré-secagem, o T3 segue a mesma regra. O controle foi o que obteve o menor valor quanto a quantidade de ferro total, porém, a dialisibilidade foi semelhante ao T2, T4 e T5, sendo que o T4 foi a

amostra que obteve o segundo maior valor de ferro total de todos os tratamentos. Esses resultados confirmam que o ferro total não guarda relação direta com o ferro dialisado, como já citado anteriormente.

Krachler et al. (2000), constataram *in vivo* que o mecanismo envolvido, possivelmente, seja devido à saturação dos receptores para absorção do ferro. Assim, à medida que todos os receptores já estão ligados ao mineral, o aumento de ferro total só daria proporcionalmente menor valor de ferro absorvido. Dessa forma, é provável a existência de relação ótima entre ferro total e ferro absorvido.

A análise do ferro indica a quantidade do mineral presente na amostra, porém não indica quanto deste ferro será realmente absorvido. Sabe-se que nem todo ferro presente no alimento é absorvido, podendo ser total ou parcialmente utilizado pelo indivíduo. Segundo Monsen et al. (1978), dependendo da presença de substâncias inibidoras ou estimuladoras, a absorção de ferro pode variar de 2 a 35%, no caso da soja tostada este valor foi menor (Tabela 2).

Encontrou-se uma porcentagem de ferro dialisável que variou de 0,95% a 1,38%, sendo que a maior média obtida foi para o T3, estatisticamente diferente ($p \leq 0,05$) apenas do T1, pois os demais tratamentos não diferiram nem do T3, nem do T1.

Martini (2002), verificou que a quantidade de ferro dialisável para o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), após cocção à 121°C por 10 minutos, foi de 0,81%. Assim, com base nesta referência, observa-se que todos os valores encontrados nas amostras analisadas ficaram acima do encontrado para o feijão comum.

Este resultado pode ser decorrente da desnaturação da proteína, visto que esse efeito pode aumentar a dialisibilidade devido ao desdobramento. O desdobramento das proteínas também as torna mais susceptíveis às enzimas proteolíticas e causam liberações mais rápidas de produtos de digestão, aminoácidos e peptídeos, que podem aumentar a dialisibilidade por complexar o ferro com compostos de baixo peso molecular (KAPANIDIS; LEE, 1995).

Segundo Hurrell et al. (1989), existe relação direta entre o grau de hidrólise e ferro dialisado.

Através da análise dos contrastes ortogonais dos diferentes tratamentos (Tabela 3), observa-se que o controle (Y1), do ferro em base fresca, não apresentou diferença

significativa ($p > 0,05$) quanto aos demais tratamentos. Os tratamentos com secagem também não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) dos sem secagem (Y2). Entretanto, nota-se que entre os tratamentos com secagem, o menor tempo foi o mais eficiente, pois as médias do T1 foram significativamente superiores ($p \leq 0,05$) às médias do T2 (Y3). A umidade parece ser um fator importante, visto que, nos tratamentos sem secagem, não houve diferença entre as médias do T3 e T4 ($p > 0,05$), as quais foram iguais às médias do T5 ($p > 0,05$) (Y4).

Já com relação ao ferro dialisável (Tabela 3), o controle não diferiu ($p > 0,05$), em média, dos demais tratamentos, demonstrando que, neste caso, a temperatura de estufa parece ter influenciado positivamente para um desdobramento protéico (Y1). Entretanto, verifica-se que houve uma inversão de valores quanto à dialisibilidade em comparação com o ferro em base fresca, pois os tratamentos com secagem tiveram médias significativamente menores ($p \leq 0,05$) que os sem secagem (Y2). Este resultado demonstra que pode ter havido uma desnaturação protéica mais drástica nos que sofreram a pré-secagem, visto que entre os tratamentos sem secagem não houve diferença significativa ($p > 0,05$), mantendo-se o mesmo resultado.

Nos tratamentos com secagem, as médias do T1 foram significativamente menores ($p \leq 0,05$) que as médias do T2, ou seja, utilizando-se o contraste ortogonal (Y3), observa-se que o tempo de 10 minutos foi favorável quanto à concentração de ferro, mas não aumentou a dialisibilidade do mesmo, necessitando, para tanto, de maior tempo de tostagem.

2.4.3 Digestibilidade da proteína *in vitro*

Os valores obtidos na análise da digestibilidade da proteína *in vitro* estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Médias obtidas pelos tratamentos e teste de Tukey da digestibilidade da proteína *in vitro*

Tratamentos ³	Digestibilidade (%)
T1	93,14±0,0 ^{1a2}
T2	92,73±0,7 ^a
T3	91,21±0,5 ^b
T4	92,48±0,3 ^a
T5	93,13±0,3 ^a
Controle	92,57±0,0 ^a

¹Média ± desvio padrão.

²Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

³Tratamentos: T1 – com pré-secagem + 10 min. de forno; T2 – com pré-secagem + 15 min. de forno; T3 – sem pré-secagem + 45 min. de forno; T4 – sem pré-secagem + 50 min. de forno; T5 – sem pré-secagem + 60 min. de forno.

Tabela 5 – Valor dos contrastes ortogonais, respectiva significância estatística pelo teste F e interpretação para a digestibilidade da proteína *in vitro*

Critérios	Digestibilidade da proteína <i>in vitro</i> (%)	
	Coefficiente de Correlação	P
Y1 = todos vs controle	-0,15	0.89929
Y2 = com secagem vs sem secagem	+4,00	0.00937*
Y3 = forno por 10 min vs forno por 15 min, com secagem	+0,40	0.24618
Y4 = forno por 45 min + forno por 50 min vs forno por 60 min, sem secagem	-2,57	0.00104*
Y5 = forno por 45 min vs forno por 50 min, sem secagem	-1,27	0.00280*

Valor significativo ao nível de 5% ($p \leq 0,05$) pelo teste F.

Os valores da digestibilidade da proteína *in vitro* variaram de 91,21% a 93,14% (Tabela 4). Apenas o tratamento T3 diferiu estatisticamente ($p \leq 0,05$) dos demais.

Carvalho et al. (2002) encontraram valores de digestibilidade *in vitro* para grãos de soja aquecidos em água fervente por 30 minutos de 65% a 78%.

Gundel e Matrai (1996) verificaram que soja tostada a 120°C durante 5 a 10 minutos, apresentaram digestibilidade de 92%. Apesar de, neste trabalho, ter sido usado tempo e temperatura superiores ao estudo citado, observa-se que se encontrou o mesmo resultado, mostrando que a tostagem a nível doméstico, isto é, em forno convencional, apresenta-se como um tratamento bastante satisfatório.

A partir dos contrastes ortogonais (Tabela 5), o controle não apresentou diferença significativa com relação aos demais tratamentos (Y1). Percebe-se que a temperatura de estufa influenciou nos resultados, favorecendo a digestibilidade.

Os tratamentos com secagem tiveram médias significativamente maiores ($p \leq 0,05$) que os sem secagem (Y2), demonstrando que a pré-secagem melhorou a digestibilidade protéica do grão (Tabela 5).

Com relação aos tratamentos sem pré-secagem, as médias do T3 e T4 foram significativamente menores ($p \leq 0,05$) que as médias do T5 (Y4). Mas, entre os dois primeiros, as médias do T3 foram significativamente menores ($p \leq 0,05$) do que as médias do T4 (Y5) (Tabela 5). Isso demonstra que houve uma melhora crescente, ou seja, os efeitos sobre a digestibilidade da proteína *in vitro* foram observados com o aumento do tempo de processamento em temperatura constante. A melhora na digestibilidade com o tratamento térmico é atribuída às alterações estruturais das proteínas, aumentando a susceptibilidade à hidrólise enzimática (DESHPANDE; DAMODARAN, 1989; CARBONARO; MARLETTA; CARNOVALE, 1992).

Simon e Melnick (1950), Maga; Lorenz e Onayemi (1973), Rhee e Rhee (1981) e Carvalho et al. (2002), constataram que o tratamento térmico promove a melhora da digestibilidade da proteína, seja pela abertura da estrutura da proteína através da sua desnaturação ou em decorrência da inativação total ou parcial dos inibidores de tripsina. No entanto, o tratamento térmico deve ser aplicado com critério, pois segundo Nunes e Baptista (2001), o tratamento térmico excessivo pode causar decréscimo na digestibilidade da proteína pela formação de ligações cruzadas.

De acordo com Sgarbieri (1996), a desnaturação das proteínas tende a melhorar a digestibilidade, por facilitar a ação proteolítica das enzimas digestivas.

Vários procedimentos têm sido adotados para o tratamento térmico dos grãos, implicando em inativação dos fatores antinutricionais e em mudanças na estrutura das proteínas, elevando a digestibilidade destes nutrientes.

A razão para este estudo sobre a digestibilidade de grãos de soja é a aparente melhoria na utilização da proteína desta oleaginosa quando processada por tostagem, 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.

Segundo Liener (1979), a presença dos inibidores de tripsina nos grãos de leguminosas contribuem para a redução da digestibilidade de suas proteínas, assim, a possível explicação para os resultados encontrados seria a desnaturação dos inibidores de proteases.

Tabela 6 – Coeficiente de correlação (r) e respectivas probabilidades estatísticas pelo teste T de Student entre a atividade inibitória de tripsina antes da proteólise *in vitro* e a digestibilidade da proteína *in vitro*

VARIÁVEL	ATIVIDADE INIBITÓRIA DA TRIPSINA (ANTES DA PROTEÓLISE <i>IN VITRO</i>)
DIGESTIBILIDADE DA PROTEÍNA <i>IN VITRO</i>	r= -0,42 p=0,08

Carvalho et al. (2002) verificaram que os valores de atividade dos inibidores correlacionam-se negativamente com a porcentagem de digestibilidade, porém, neste trabalho não foi encontrado o mesmo resultado, mostrando que a melhora da digestibilidade se deu apenas pela ação do tratamento térmico, visto que entre a atividade inibitória da tripsina e a digestibilidade da proteína *in vitro* não ficou evidenciada correlação significativa (Tabela 6).

De acordo com Fukushima (1968), a melhora da qualidade da proteína é devida não somente à inativação dos inibidores de tripsina, mas também à desnaturação da proteína pelo calor.

2.4.4 Atividade inibitória de tripsina

Os resultados obtidos estão apresentados na forma de tabelas, como segue abaixo.

Tabela 7 - Valores de atividade inibitória de tripsina (UTI) em grãos de soja tostados e de reativação dos inibidores de tripsina após proteólise *in vitro*

Tratamentos ³	UTI/mg de proteína (antes da proteólise)	UTI/mg de proteína (após proteólise)	% reativação
T1	25,24±0,2 ^{1a2}	7,65±0,0 ^a	30,31
T2	23,94±0,1 ^b	6,81±0,0 ^b	28,45
T3	46,39±0,4 ^c	6,81±0,0 ^b	14,68
T4	44,26±0,2 ^d	6,25±0,0 ^c	14,12
T5	38,33±0,0 ^e	7,43±0,0 ^d	19,38
Controle	55,81±0,5 ^f	5,48±0,0 ^e	9,82

¹ Média ± desvio padrão.

² Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

³ Tratamentos: T1 – com pré-secagem + 10 min. de forno; T2 – com pré-secagem + 15 min. de forno; T3 – sem pré-secagem + 45 min. de forno; T4 – sem pré-secagem + 50 min. de forno; T5 – sem pré-secagem + 60 min. de forno.

Conforme dados apresentados na Tabela 7, os tratamentos T1 e T2 obtiveram valores de atividade inibitória de 25,24 a 23,94 UTI/mg de proteína, enquanto que nos demais tratamentos (T3, T4 e T5) esses valores variaram de 46,39 a 38,33 UTI/mg de proteína. O controle obteve valor de 55,81 UTI/mg de proteína, como esperado já que o mesmo não sofreu tratamento térmico além da temperatura de 55°C. Todos diferiram estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$).

Lessire; Leclercq e Conan (1988) encontraram 7,5 UTI/mg de amostra para soja tostada, sendo que resultado semelhante foi observado por Serrano e Villalbi (1999), que referem 7,05 UTI/mg de amostra. A média de atividade inibitória verificada por

Sakomura et al. (2004) em soja integral tostada pelo vapor foi de 52,20 UTI/mg de amostra.

Considerando-se outro tipo de tratamento, Hafez et al. (1983) verificaram em soja exposta ao calor em microondas durante 9, 12 e 15 minutos, valores de 9, 12,7 e 13,4 UTI/mg de amostra, respectivamente.

Com base nas referências citadas e fazendo-se a conversão dos resultados apresentados em UTI/mg de proteína para UTI/mg de amostra, obtêm-se os seguintes valores médios: 3,43 (T1), 3,45 (T2), 4,45 (T3), 4,25 (T4) e 4,29 (T5) UTI/mg de amostra. Com isso, verifica-se que os valores obtidos se encontram dentro dos limites esperados, sendo, portanto, considerados como adequados, mostrando que a tostagem em forno convencional é bastante eficaz quanto à inativação do inibidor de tripsina.

Em estudo realizado por Rousseau et al. (1998) com soja tostada a 100°C por 10 e 30 minutos, estes encontraram 56 e 28 UTI/mg de proteína, respectivamente. Com base no referido trabalho, os valores observados continuam dentro do esperado, confirmando a eficácia da tostagem a nível doméstico.

Após a proteólise *in vitro*, verificou-se reativação dos inibidores de tripsina em todos os tratamentos analisados (Tabela 7). Os valores variaram de 5,48 UTI/mg de proteína (controle) a 7,65 UTI/mg de proteína (T1). Neste intervalo de valores, somente o T2 e T3 não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$).

Os tratamentos T1 e T2 foram os que apresentaram as maiores porcentagens de reativação (30,31% e 28,45%, respectivamente), contrário ao que era esperado, pois antes da proteólise esses haviam apresentado os menores valores de inibição. Já os T3, T4 e T5 apresentaram porcentagens bem próximas, sendo 14,68%, 14,12% e 19,38%, respectivamente. O controle apresentou a menor porcentagem, 9,82%. Isso prova que, mesmo após a proteólise *in vitro*, esses inibidores continuaram com alguma atividade.

Carvalho et al. (2002), analisando a atividade do inibidor de tripsina em grãos de soja tratados termicamente após digestão enzimática, referiram ter encontrado em grãos crus valores de atividade inibitória de 122 a 206 UTI/mg de amostra, sendo que estes, após macerados por 12 horas, aquecidos em placas sob refluxo por 30 minutos e digeridos, apresentaram valores médios de 46 a 95 UTI/mg de amostra, havendo, em

média, cerca de 40% de reativação. Portanto, isso confirma o que já vem sendo observado, que a tostagem foi eficiente tanto na inativação quanto na reativação dos inibidores de tripsina, visto que ambos, valores de inativação e reativação, foram menores que os encontrados na literatura.

Tabela 8 – Valor dos contrastes ortogonais, com respectiva significância estatística pelo teste F para a atividade inibitória de tripsina (antes e depois da proteólise *in vitro*)

ATIVIDADE INIBITÓRIA DE TRIPSINA (ANTES DA PROTEÓLISE <i>IN VITRO</i>)		
Critérios	Coefficiente de Correlação	P
Y1 = todos vs controle	-100,90	0,00001*
Y2 = com secagem vs sem secagem	-100,41	0,00001*
Y3 = forno por 10 min vs forno por 15 min, com secagem	+1,29	0,00029*
Y4 = forno por 45 min + forno por 50 min vs forno por 60 min, sem secagem	+13,98	0,00001*
Y5 = forno por 45 min vs forno por 50 min, sem secagem	+2,12	0,00002*
ATIVIDADE INIBITÓRIA DE TRIPSINA (APÓS PROTEÓLISE <i>IN VITRO</i>)		
Critérios	Coefficiente de Correlação	P
Y1 = todos vs controle	+7,58	0,00001*
Y2 = com secagem vs sem secagem	+2,40	0,00001*
Y3 = forno por 10 min vs forno por 15 min, com secagem	+0,84	0,00001*
Y4 = forno por 45 min + forno por 50 min vs forno por 60 min, sem secagem	-1,25	0,00001*
Y5 = forno por 45 min vs forno por 50 min, sem secagem	+0,56	0,00001*

*Valor significativo ao nível de 5% ($p \leq 0,05$) pelo teste F.

Fazendo-se os contrastes ortogonais (Tabela 8), na parte referente à atividade inibitória de tripsina antes da proteólise *in vitro*, é possível verificar que o controle foi estatisticamente maior ($p \leq 0,05$) que os demais tratamentos (Y1), isto é, apresentou a maior atividade inibitória de tripsina, o que é explicado pelo tratamento térmico brando, como já confirmado pelo Teste de Tukey (Tabela 7). Confirma também que os tratamentos com secagem tiveram médias significativamente menores ($p \leq 0,05$) que os sem secagem (Y2), mostrando que os tratamentos com secagem foram os mais efetivos na inativação do inibidor de tripsina. Esse fato é muito interessante, pois, nas

condições empregadas, a umidade não apresentou grande influência, diferente do que é preconizado por alguns autores, tais como Nunes e Dierck (1993), Liener (1994) e Kaankuka; Balogun e Tegbe (1996), que afirmam que a inativação do inibidor de tripsina está na dependência de alguns fatores determinantes, entre eles a umidade.

Na verdade, verifica-se que a temperatura de estufa (55°C) influenciou nos resultados, pois as amostras que receberam esta pré-secagem (T1 e T2) apresentaram os menores valores (25,24 e 23,94 UTI/mg de proteína, respectivamente), mesmo tendo sido tostadas por menos tempo. O controle também foi seco em estufa e, se comparado com os tratamentos analisados, apresentou um valor médio de apenas 29,82% a mais que as amostras que não receberam pré-secagem. O mesmo apresentou a menor porcentagem de reativação (9,82%) (Tabela 7).

De acordo com Sgarbieri (1996), as proteínas possuem temperaturas características, nas quais apresentam o máximo de estabilidade, e que à medida que a temperatura se eleva acima de 40-50°C, praticamente, todas as proteínas se desnaturam. O mesmo autor refere que as proteínas são mais resistentes ao ataque de enzimas proteolíticas em sua forma nativa do que em sua forma desnaturada, mas que a desnaturação térmica pode ter efeito contrário se o tratamento for excessivo. Então, isso demonstra que a temperatura de estufa foi adequada para que as proteínas do controle sofressem desnaturação, que acabou por beneficiar o ataque das enzimas proteolíticas. Com isso, a inativação do inibidor de tripsina foi mais eficaz, justificando o menor valor de reativação após a proteólise (Tabela 7).

Entre os tratamentos com pré-secagem (Y3), as médias do T1 (forno por 10 minutos) foram significativamente maiores ($p \leq 0,05$) que as médias do T2 (forno por 15 minutos), ou seja, o maior tempo foi o melhor. Isso também é confirmado entre os tratamentos sem pré-secagem (Y4), pois as médias do T3 e T4 (em forno por 45 e 50 minutos) foram estatisticamente maiores ($p \leq 0,05$) que as médias do T5 (em forno por 60 minutos). Comparando as médias dos dois menores tempos sem secagem (T3 e T4), verifica-se novamente que o maior tempo foi o mais eficiente, visto que as médias do T3 foram estatisticamente maiores ($p \leq 0,05$) que as médias do T4 (Y5) (Tabela 8). Em síntese, o T5 foi o que apresentou o menor valor de atividade inibitória (Tabelas 7 e

8), verificando-se que o tempo de tostagem de 60 minutos, antes da proteólise *in vitro*, foi o mais eficiente.

Após a proteólise *in vitro* (Tabela 8), o controle foi estatisticamente menor ($p \leq 0,05$) que os demais tratamentos (Y1), idêntico ao Teste de Tukey (Tabela 7), justificando a ação da temperatura de estufa, como já explicado anteriormente.

Os tratamentos com secagem (Y2) tiveram médias significativamente maiores ($p \leq 0,05$) que os sem secagem. Interessantemente, manteve-se a mesma relação observada antes da proteólise, pois as médias do T1 foram significativamente maiores ($p \leq 0,05$) que as médias do T2 (Y3) (Tabela 8).

Contudo, nos tratamentos sem secagem essa relação não se manteve, ocorrendo o contrário do que havia sido observado antes da proteólise. Assim, as médias do T3 e T4 foram estatisticamente menores ($p \leq 0,05$) que as médias do T5 (Y4). Esse resultado parece decorrente do tempo de exposição ao calor, ou seja, em virtude dessas amostras terem ficado por menos tempo ocorreu adequada desnaturação, facilitado a ação das enzimas digestivas, enquanto que a amostra exposta por mais tempo pode ter sofrido desnaturação excessiva, dificultando a ação de tais enzimas.

Por outro lado, analisando os resultados após a proteólise *in vitro*, parece que a umidade teve efeito significativo na eficácia da destruição do inibidor de tripsina pelo calor. Segundo Liu (1999), formam-se ligações de hidrogênio com as moléculas de água, com isso, a estrutura terciária e quaternária das proteínas podem ser mais facilmente alteradas pelo calor. Isso justifica os valores encontrados após a proteólise, pois o T1 e T2, que passaram pela pré-secagem, apresentaram os maiores valores, enquanto que as demais amostras, que foram submetidas à tostagem ainda úmidas (T3, T4 e T5), apresentaram melhores resultados (Tabelas 7 e 8).

No entanto, entre o T3 e o T4 somente (Y5), volta haver concordância entre os resultados do antes e depois, visto que as médias do T3 foram estatisticamente maiores ($p \leq 0,05$) que as médias do T4, ou seja, com relação à proteólise *in vitro*, o tempo de 50 minutos foi o melhor entre todos os tratamentos analisados.

Tabela 9 – Coeficiente de correlação (r) e respectivas probabilidades estatísticas pelo teste T de Student entre a atividade inibitória de tripsina antes e depois da proteólise *in vitro*

VARIÁVEIS	ATIVIDADE INIBITÓRIA DE TRIPSINA (ANTES DA PROTEÓLISE <i>IN VITRO</i>)
ATIVIDADE INIBITÓRIA DE TRIPSINA (APÓS PROTEÓLISE <i>IN VITRO</i>)	r= -0,75 p<0,001

Para visualizar esses resultados com maior clareza, pode-se observar através da Tabela 9, que houve correlação alta e negativa entre a atividade inibitória de tripsina antes e depois da proteólise *in vitro*, com o nível de significância menor que 1% ($p < 0,001$). Esse resultado demonstra que houve ação eficaz das enzimas digestivas em decorrência dos tratamentos térmicos aplicados, provando que a tostagem a nível doméstico, especialmente sem secagem prévia, apresentou resultados satisfatórios e dentro do esperado quanto à quantidade residual de inibidores de tripsina, pois de acordo com Liener (1994), pode-se encontrar de 5% a 20% de atividade residual em produtos de soja. O resultado encontrado neste trabalho refere valores de 28% a 30% para os com secagem e de 10% a 15% para os sem secagem, demonstrando que esses últimos podem ser considerados como os de melhor qualidade nutricional, estando os com secagem acima do encontrado na literatura.

2.4.5 Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

As Figuras de 1 a 6 representam a inativação do inibidor de tripsina, já as Figuras de 7 a 12 se referem à reativação dos inibidores de tripsina.

2.4.5.1 Géis de inativação do inibidor de tripsina

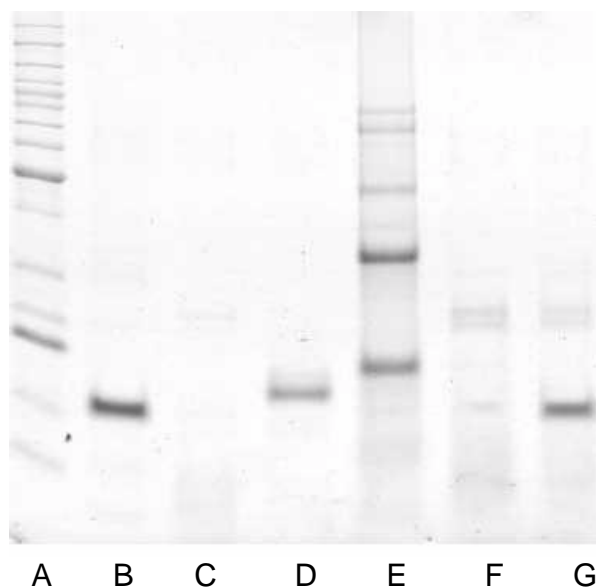


Figura 1 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento com pré-secagem + 10 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

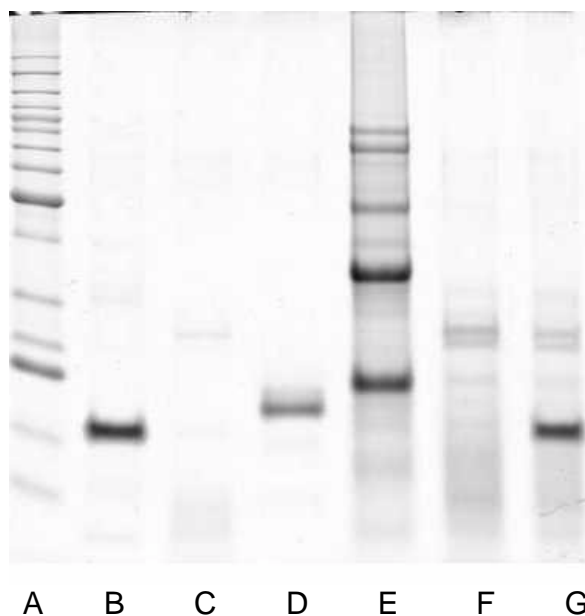


Figura 2 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento com pré-secagem + 15 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

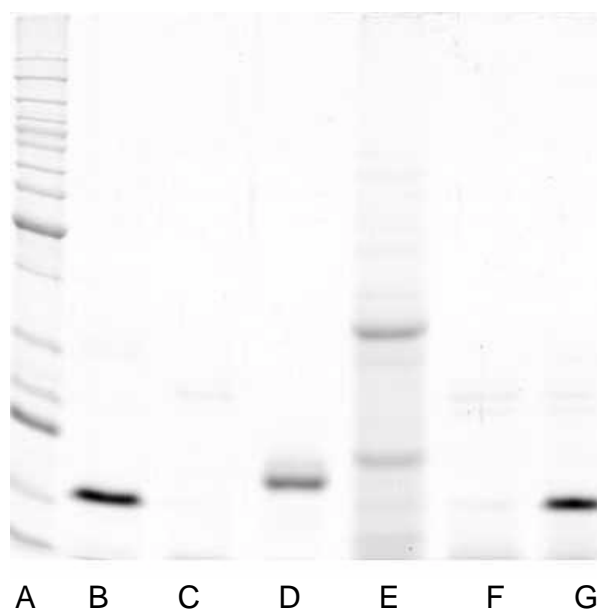


Figura 3 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento sem pré-secagem + 45 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD)

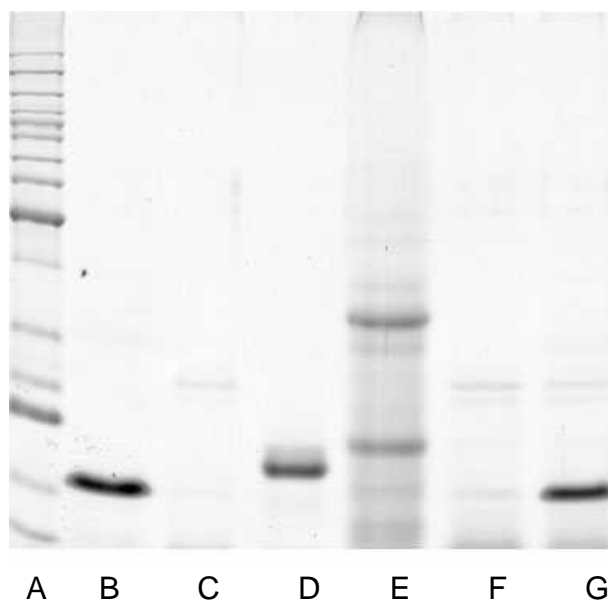


Figura 4 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento sem pré-secagem + 50 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

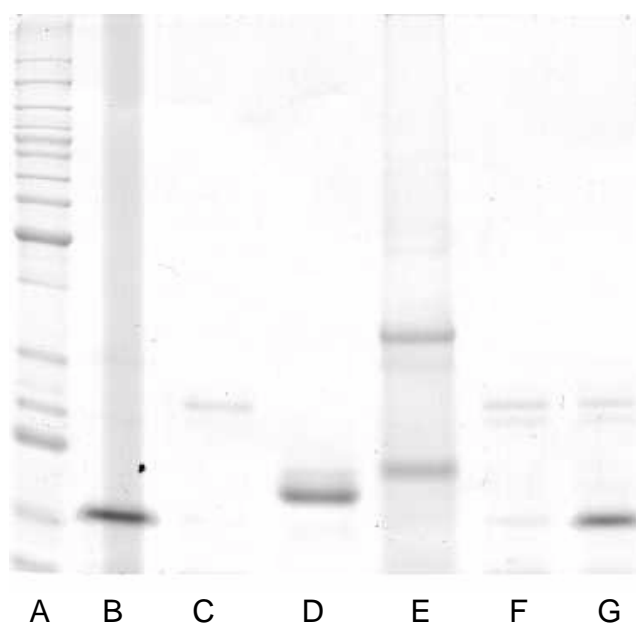


Figura 5 – Inativação do inibidor de tripsina através do tratamento sem pré-secagem + 60 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

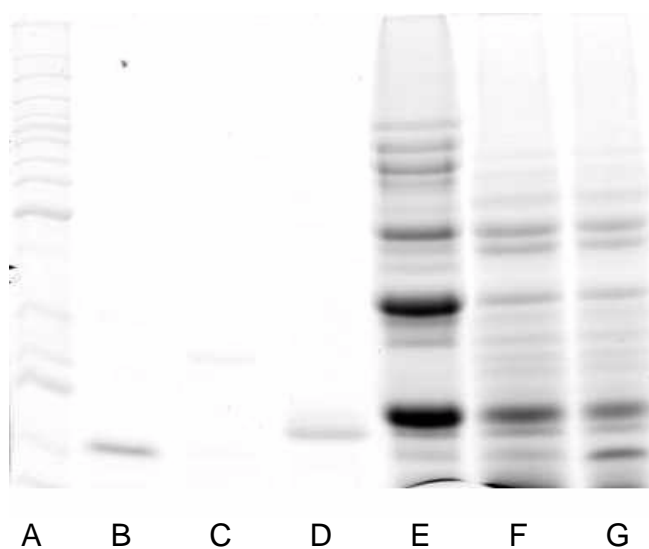


Figura 6 – Controle – secagem em estufa durante 31 horas à 55°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

Nota-se que nos géis correspondentes à inativação do inibidor de tripsina (Figuras 1, 2, 3, 4, 5 e 6), a enzima tripsina apresentou certa atividade autolítica (coluna C), tornando-se quase que imperceptível.

De acordo com as Figuras 1, 2, 3, 4 e 5, em todos os tratamentos, isto é, com e sem pré-secagem, não foi detectada a presença do inibidor de tripsina (coluna E) na sua forma original. Esse resultado se confirmou através da coluna F dos respectivos tratamentos, pois quando se acrescentou a enzima tripsina nas amostras analisadas, ocorreu a degradação das frações protéicas antes existentes, mostrando que não houve ação eficiente do inibidor, sendo possível verificar a presença da enzima tripsina na mesma banda, apesar de fraca.

No entanto, não é correto afirmar que não houve atividade inibitória ou que o inibidor de tripsina foi totalmente inativado pela tostagem, pois através das análises químicas, pelo método de Kakade; Simons e Liener (1974), verifica-se a ocorrência da inibição da tripsina (Tabela 7). O que comprova esse fato diz respeito à coluna G dos tratamentos em questão, onde a enzima tripsina foi incubada juntamente com a amostra por pelo menos uma hora, para garantir a cinética de interação, sendo a proteína adicionada posteriormente, a qual permaneceu intacta, ou seja, não houve ação da enzima tripsina. Isso demonstra que houve ação do inibidor sob a tripsina adicionada.

De acordo com Galeazzi e Sgarbieri (1988), a ação do calor leva os inibidores a se complexarem com outros componentes do grão, não sendo, portanto, eliminados, justificando o ocorrido neste trabalho.

Segundo Sgarbieri (1996), quando uma proteína muda de configuração, no caso em decorrência da desnaturação, alguns ou todos os seus centros de adsorção podem ser destruídos, sendo que novos centros poderão se tornar disponíveis. Assim, a desnaturação poderá ocasionar grandes alterações na capacidade de uma proteína de se ligar a outras substâncias. Considerando que o inibidor de tripsina é uma proteína, isso pode explicar a complexação referida por Galeazzi e Sgarbieri (1988).

Observa-se também que os tratamentos com pré-secagem (Figuras 1 e 2) apresentaram padrões protéicos semelhantes entre si, independentemente do tempo de tostagem.

Os tratamentos sem pré-secagem (Figuras 3, 4 e 5) apresentaram certa similaridade entre si, sendo distintos dos tratamentos com pré-secagem, pois verifica-se que houve maior degradação das frações protéicas, ou seja, isso mostra que os tratamentos sem pré-secagem foram mais eficientes quanto a inativação do inibidor de tripsina, visto que houve uma ação mais pontual da tripsina.

Quanto ao controle (Figura 6), percebe-se a presença do inibidor em todas as colunas (E, F, G), mostrando que a temperatura de estufa (55°C) não foi suficiente para causar inativação mais expressiva, pois mesmo quando adicionada a enzima tripsina, esta não foi capaz de causar degradação similar aos demais tratamentos.

2.4.5.2 Géis de reativação do inibidor de tripsina após proteólise *in vitro*

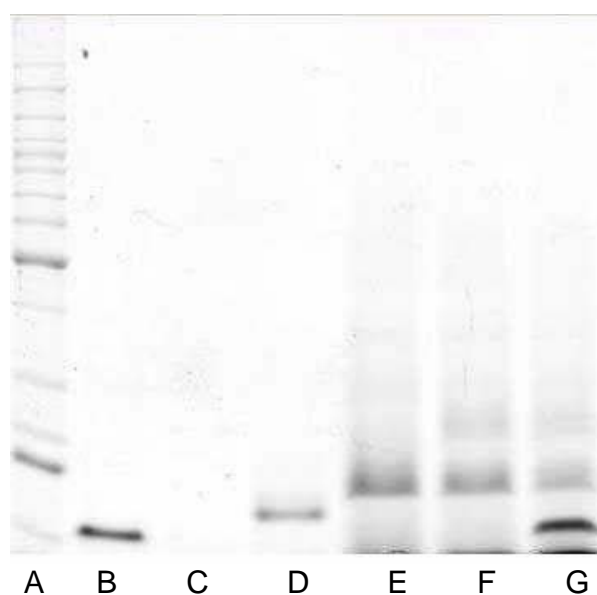


Figura 7 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado com pré-secagem + 10 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

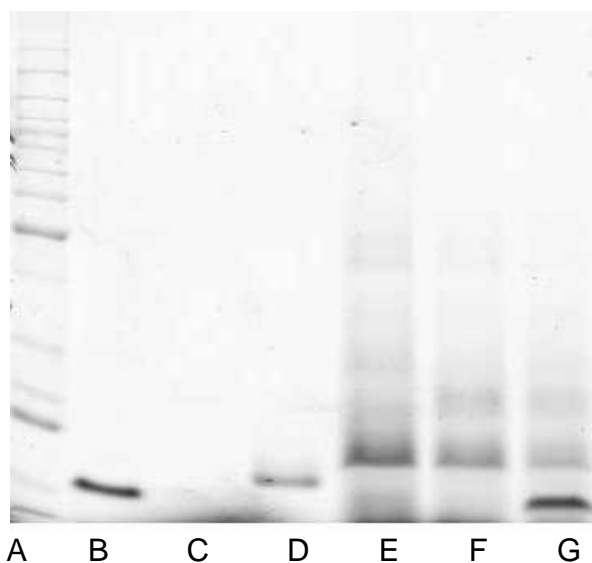


Figura 8 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado com pré-secagem + 15 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

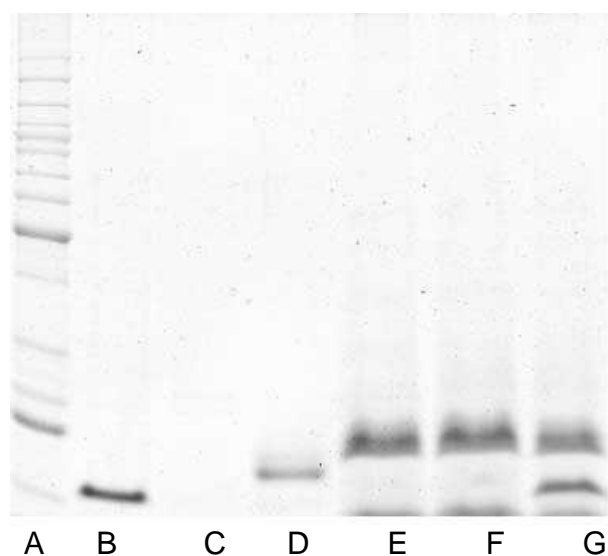


Figura 9 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado sem pré-secagem + 45 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

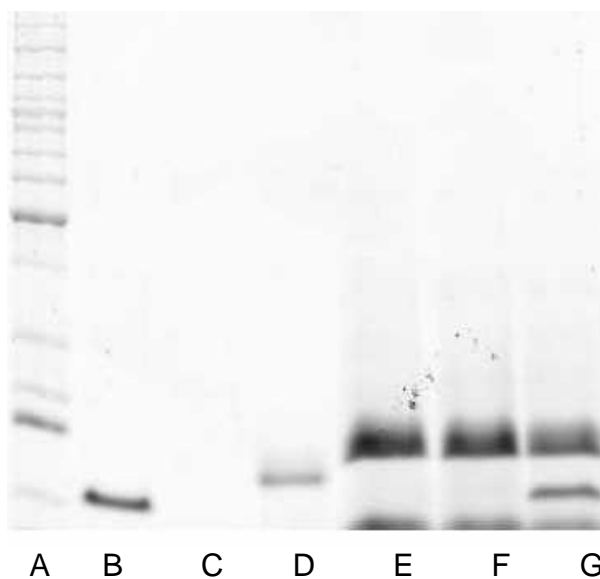


Figura 10 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado sem pré-secagem + 50 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

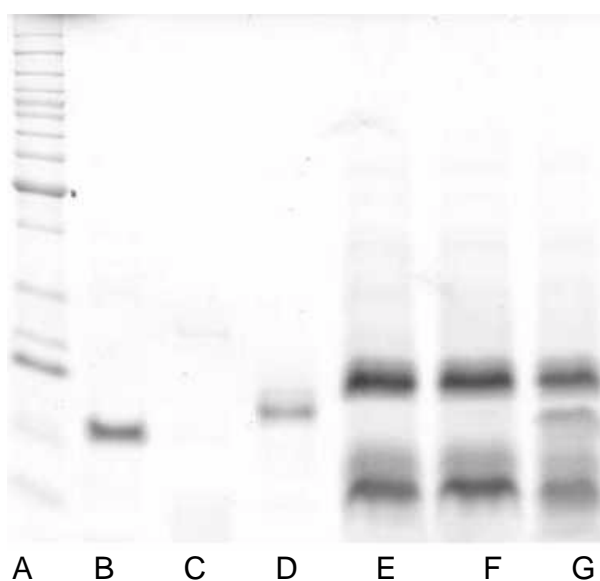


Figura 11 – Reativação, após proteólise *in vitro*, do inibidor de tripsina tratado sem pré-secagem + 60 minutos de forno a 220°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

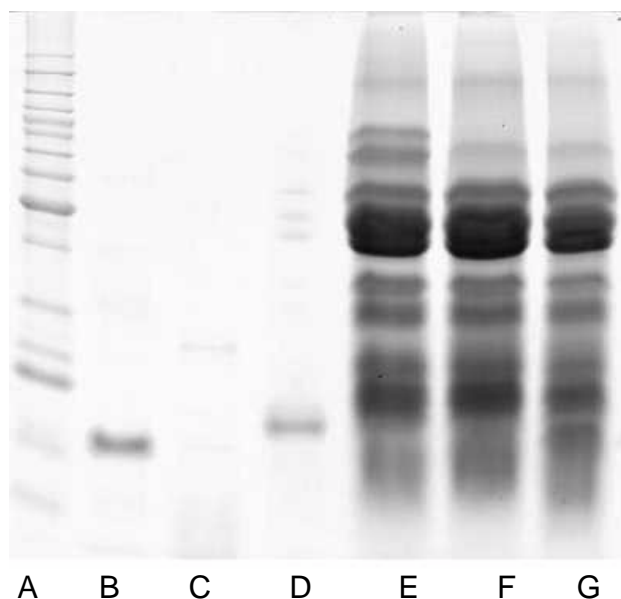


Figura 12 – Reativação do inibidor de tripsina, após proteólise *in vitro*, no controle – secagem em estufa durante 31 horas à 55°C

Legenda: A – Marcador; B – Proteína (enzima SOD); C – enzima Tripsina; D – Inibidor de tripsina; E – Amostra; F – Amostra + enzima Tripsina; G – Amostra + enzima Tripsina + Proteína (enzima SOD).

De acordo com as Figuras 7, 8, 9, 10, 11 e 12, nota-se que, novamente, a enzima tripsina apresentou certa atividade autolítica (coluna C).

Também não foi verificada a presença do inibidor de tripsina (coluna E) na sua forma original nos tratamentos aqui analisados. Porém, é relevante salientar que não é correto afirmar a inexistência de atividade inibitória, pois as análises químicas confirmam sua presença (Tabela 7). Além disso, verifica-se que, mesmo com a adição extra, a ação da enzima tripsina (colunas F e G) foi praticamente nula (Figuras 7, 8, 9, 10 e 11), diferente do que havia sido percebido nos tratamentos antes da proteólise *in vitro*.

Em um estudo referente à ação das enzimas pepsina e papaína sobre a atividade do inibidor de tripsina, observou-se que a hidrólise degradava os inibidores em peptídeos pequenos, os quais ainda retinham toda a atividade inibitória (VAINTRAUB; YATTARA, 1995).

De acordo com Sgarbieri (1979), esses inibidores possuem baixos teores de cistina e de grupos ácidos nas moléculas, conferindo-lhes a propriedade de sofrer alterações conformacionais e desnaturação parcial em meio ácido.

Segundo Carvalho et al. (2002), tem-se a possibilidade dos inibidores alcançarem o trato gastrointestinal nas suas formas ativas, pois se apresentam resistentes à hidrólise enzimática, ou, quando fragmentados, retêm a atividade inibitória. Os referidos autores, verificaram que o inibidor de tripsina, ao ser submetido à hidrólise enzimática, apresenta-se novamente ativo, mostrando que a ação do calor é benéfica na inativação do inibidor, porém, não o elimina completamente. Assim, esta inativação pode ser por complexação, o que leva à recuperação da atividade com o processo de digestão.

Novamente os tratamentos com pré-secagem (Figuras 7 e 8) apresentaram padrões protéicos semelhantes entre si, independentemente do tempo de tostagem.

Já os tratamentos sem pré-secagem apresentaram similaridade apenas no que se refere à tostagem durante 45 e 50 minutos (Figuras 9 e 10). Esse resultado pode ser devido ao fato da diferença no tempo de tostagem ser pequena, ou seja, apenas 5 minutos.

No tratamento sem pré-secagem e 60 minutos de forno (Figura 11), verifica-se que a proteólise *in vitro* levou ao aparecimento de peptídeos de baixo peso molecular, podendo ser resultado do tempo de exposição ao calor.

Quanto ao controle (Figura 12), nota-se que houve ação do inibidor de tripsina visto que ocorreu pouca degradação das frações protéicas (colunas E, F, G), reforçando que a temperatura de estufa (55°C) não foi suficiente para inativá-lo completamente, pois, como observado nos tratamentos antes da proteólise *in vitro*, mesmo com a adição da enzima tripsina, esta não provocou uma degradação similar aos demais tratamentos.

2.4.6 Análise sensorial

Os dados obtidos na análise sensorial são apresentados nos Gráficos de 1 a 11 e nas Tabelas de 10 a 17.

Conforme o Gráfico 1, pode-se observar que a faixa etária predominante entre os provadores foi de 18 a 21 anos (35%), seguida pela de 22 a 25 anos (28%), os que se encontravam com mais de 30 anos representaram 20% do total, e os que estavam na faixa etária de 26 a 29 anos, 17%. Portanto, nota-se que mais de 60% dos provadores se encontravam entre 18 e 25 anos, isso é justificado pelo fato de que a maioria dos voluntários era composta por estudantes universitários.

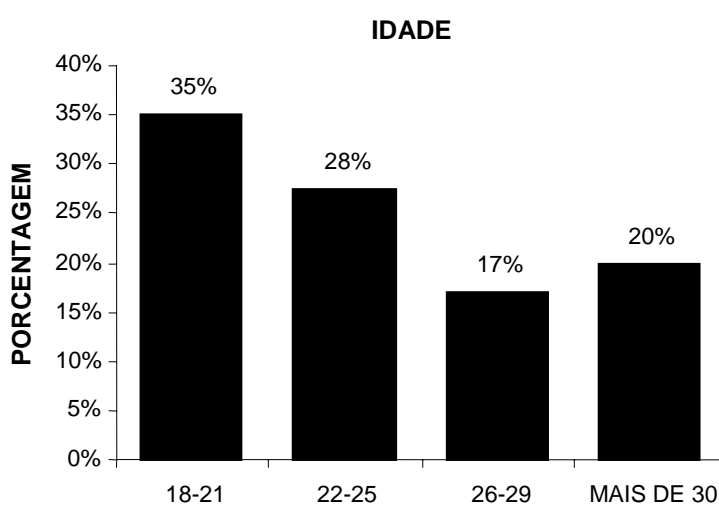


Gráfico 1 - Distribuição dos entrevistados de acordo com a faixa etária

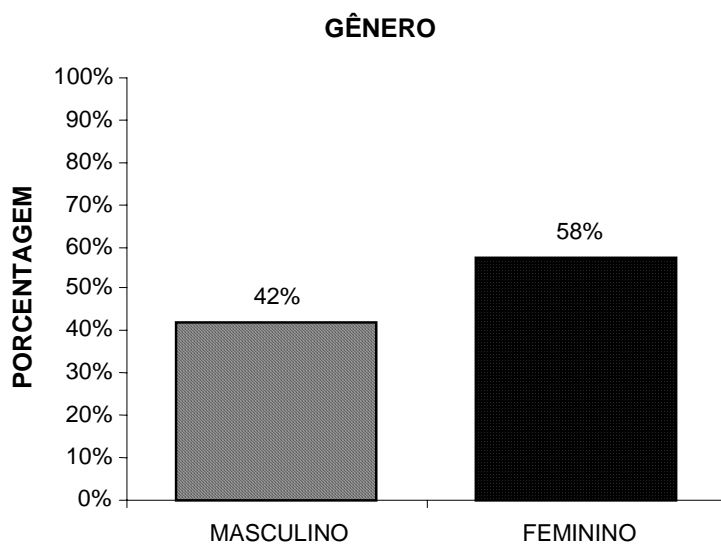


Gráfico 2 – Distribuição dos entrevistados de acordo com o gênero

No Gráfico 2, observa-se entre os provadores a maior predominância do sexo feminino (58%).

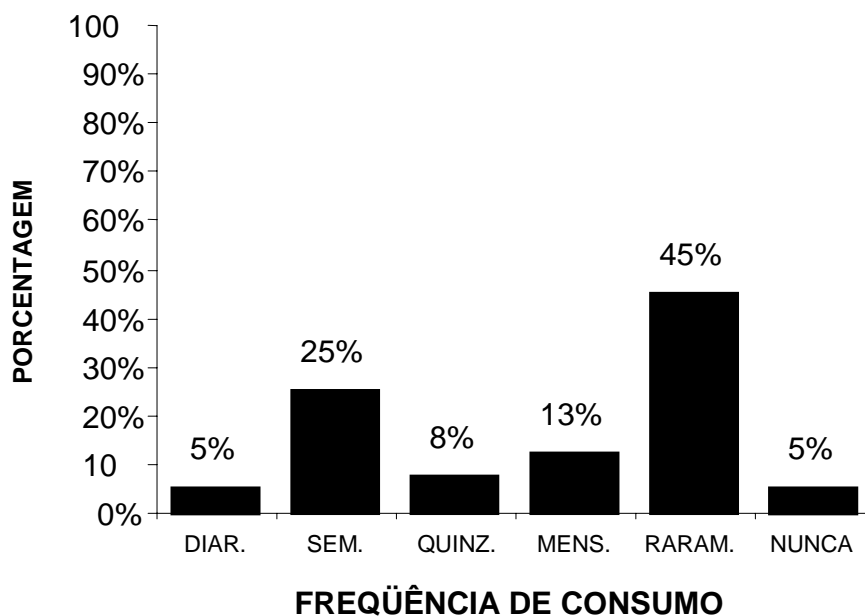


Gráfico 3 – Distribuição dos entrevistados de acordo com a frequência do consumo de soja ou derivados

É possível verificar, através do Gráfico 3, que a maioria dos provadores raramente consomem grãos de soja ou derivados (45%), 25% consomem os grãos ou derivados semanalmente e 13% o fazem mensalmente. Já os que consomem os grãos ou derivados quinzenalmente, diariamente ou nunca se referiu a uma menor parte da população em questão, com 8%, 5% e 5%, respectivamente. Com isso, verificou-se que os grãos de soja e seus derivados são, de fato, apreciados por um segmento pequeno da população.

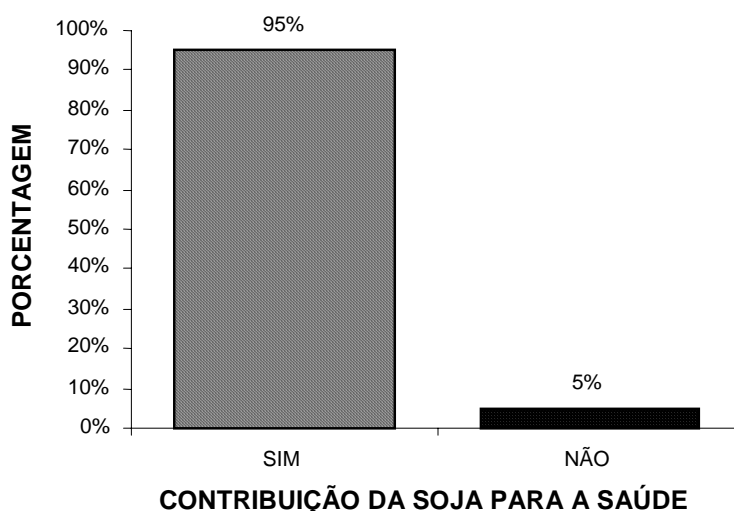


Gráfico 4 – Distribuição dos entrevistados de acordo com as citações referentes à contribuição do consumo de soja para a melhoria da saúde

Em contrapartida, verificou-se que quase a totalidade dos provadores (95%) acredita que o consumo de grãos de soja ou derivados melhora a saúde, pois apenas 5% referiu não acreditarem nessa melhora (Gráfico 4). Esse resultado sugere que essa população conhece, de um modo geral, o valor da soja como alimento, pois nos últimos anos a mídia brasileira tem divulgado intensivamente as pesquisas sobre a qualidade nutricional da soja e a relação de sua ingestão com os benefícios à saúde. Assim, essas informações podem ter ampliado o nível de informação do consumidor.

No entanto, quando questionados sobre a facilidade de adquirir ou não o hábito do consumo de grãos ou derivados de soja, 75% afirmaram ser fácil adquiri-lo, enquanto que 25% afirmaram não ser fácil adquirir esse hábito (Gráfico 5).

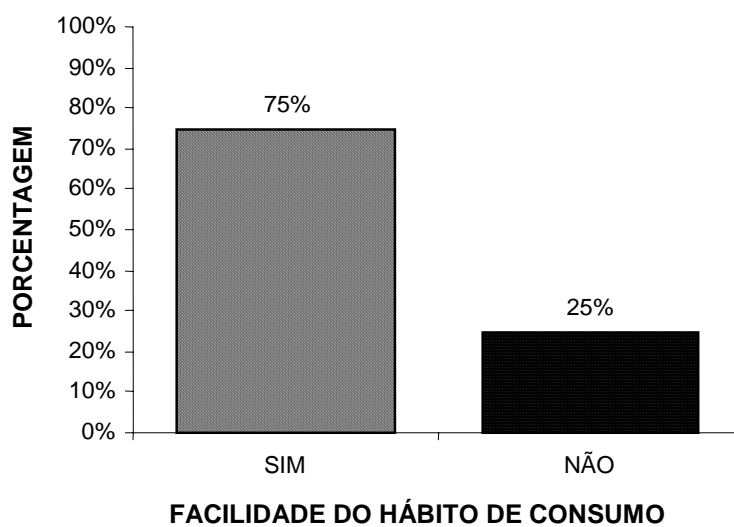


Gráfico 5 – Distribuição dos entrevistados de acordo com as citações referentes à facilidade de aquisição do hábito de consumo de soja ou seus derivados

Esse resultado é bastante interessante, pois analisando em conjunto com os resultados anteriores, temos a seguinte situação: 75% afirmam ser fácil adquirir o hábito do consumo de grãos de soja ou derivados (Gráfico 5), 95% consideram que o produto melhora a saúde (Gráfico 4), no entanto, somente 5% referem consumi-lo diariamente e 25% semanalmente (Gráfico 3). Isso demonstra que apenas o conhecimento quanto aos benefícios à saúde não é suficiente para promover aumento no consumo, mesmo que se considere fácil adquirir esse hábito, pois muitos são os fatores que influenciam na aquisição deste. Segundo Hendricks e Badruddin (1992), a seleção de um alimento é influenciada por vários fatores, sendo eles: culturais, sensoriais, econômicos, ambientais, genéticos e familiares.

Para Schiffman e Kanuk (2000), a atitude é uma predisposição aprendida pelo indivíduo, formada a partir de suas experiências e informações obtidas, as quais o influenciam a agir favorável ou desfavoravelmente em relação a um determinado

"objeto", sendo que este "objeto" pode ser um produto ou categoria de produtos, marcas, serviços, bens, pessoas, conceitos/idéias, propaganda, preço, canais de comércio, mídia, entre outros.

Com base nos valores apresentados nos Gráficos de 1 a 5, realizou-se o cruzamento dos mesmos com o intuito de verificar as possíveis correlações. Assim, cruzou-se os dados da frequência de consumo dos grãos de soja e da idade com as variáveis melhoria para a saúde e facilidade de adquirir o hábito e, por fim, a melhoria para a saúde com as variáveis facilidade de adquirir o hábito e gênero (sexo).

Seguem abaixo todos os cruzamentos, apresentados na forma de tabelas e gráficos.

Tabela 10 - Descrição tabular do cruzamento da frequência de consumo dos grãos de soja com a variável melhoria para a saúde e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado

CLASSIFICAÇÃO	VOCÊ ACREDITA QUE O CONSUMO DE GRÃOS DE SOJA OU DERIVADOS MELHORA A SAÚDE?			P(χ^2)
	COM QUE FREQUÊNCIA VOCÊ CONSOME GRÃOS DE SOJA OU DERIVADOS?			
	SIM	NÃO	TOTAL	
DIARIAMENTE	2 (2)*	0 (1)	2	Obs.= n.s. Tab5%=11,07 Tab1%=15,09
SEMANALMENTE	10 (8)	0 (3)	10	
QUINZENALMENTE	2 (2)	1 (1)	3	
MENSALMENTE	5 (4)	0 (1)	5	
RARAMENTE	17 (14)	1 (5)	18	
NUNCA	2 (2)	0 (1)	2	
Total Global	38	2	40	

* Os valores esperados se apresentam entre parênteses.

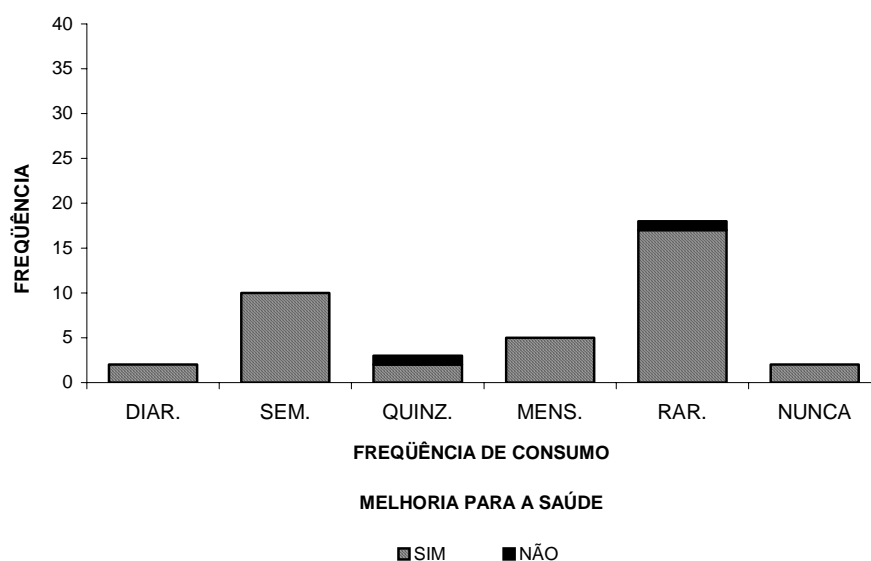


Gráfico 6 – Distribuição do cruzamento da freqüência de consumo dos grãos de soja com a variável melhoria para a saúde

Tabela 11 – Descrição tabular do cruzamento da freqüência de consumo dos grãos de soja com a variável facilidade de adquirir o hábito e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado

CLASSIFICAÇÃO	VOCÊ ACHA FÁCIL ADQUIRIR O HÁBITO DE CONSUMO DE GRÃOS DE SOJA OU DERIVADOS?			P(χ^2)
	COM QUE FREQUÊNCIA VOCÊ CONSOME GRÃOS DE SOJA OU DERIVADOS?			
	SIM	NÃO	TOTAL	
DIARIAMENTE	2 (2)*	0 (1)	2	Obs.= n.s. Tab5%=11,07 Tab1%=15,09
SEMANALMENTE	8 (8)	2 (3)	10	
QUINZENALMENTE	2 (2)	1(1)	3	
MENSALMENTE	5 (4)	0 (1)	5	
RARAMENTE	12 (14)	6 (5)	18	
NUNCA	1 (2)	1(1)	2	
Total Global	30	10	40	

* Os valores esperados se apresentam entre parênteses.

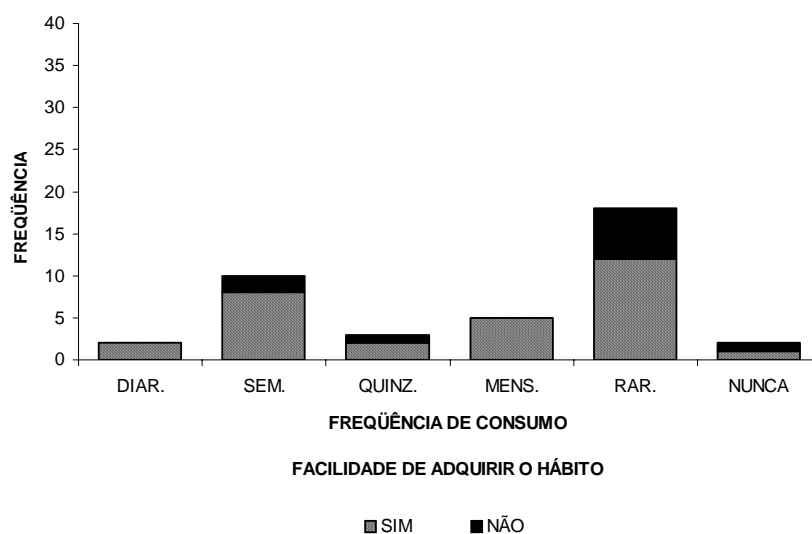


Gráfico 7 – Distribuição do cruzamento da frequência de consumo dos grãos de soja com a variável facilidade de adquirir o hábito

Tabela 12 - Descrição tabular do cruzamento da idade com a variável melhoria para a saúde e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado

CLASSIFICAÇÃO	VOCÊ ACREDITA QUE O CONSUMO DE GRÃOS DE SOJA OU DERIVADOS MELHORA A SAÚDE?			P(χ^2)
	QUAL SUA IDADE?			
	SIM	NÃO	TOTAL	
DE 18 A 21 ANOS	14 (13)*	0 (1)	14	Obs.= n.s. Tab5%=7,81 Tab1%=11,34
DE 22 A 25 ANOS	10 (10)	1 (1)	11	
DE 26 A 29 ANOS	6 (7)	1 (0)	7	
MAIS DE 30 ANOS	8 (8)	0 (0)	8	
Total Global	38	2	40	

* Os valores esperados se apresentam entre parênteses.

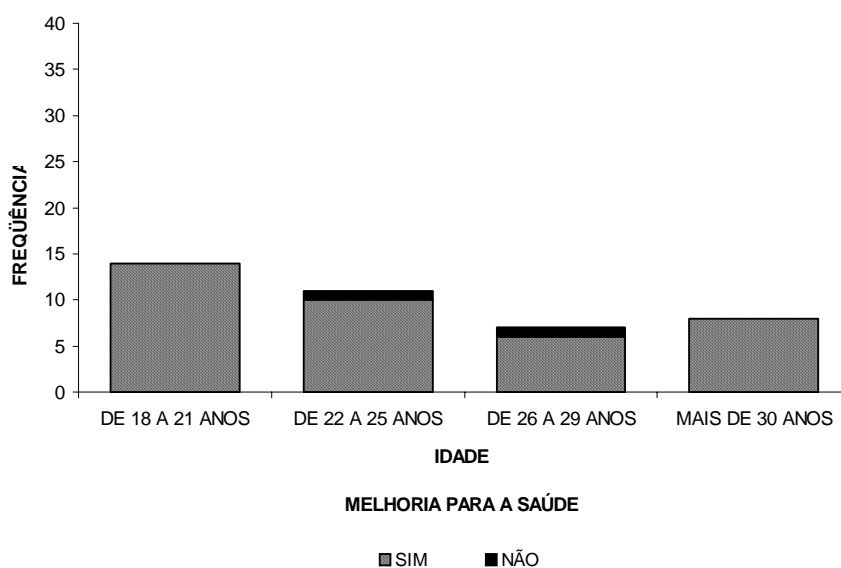


Gráfico 8 – Distribuição do cruzamento da idade com a variável melhoria para a saúde

Tabela 13 – Descrição tabular do cruzamento da idade com a variável facilidade de adquirir o hábito e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado

CLASSIFICAÇÃO	VOCÊ ACHA FÁCIL ADQUIRIR O HÁBITO DE CONSUMO DE GRÃOS DE SOJA OU DERIVADOS?			P(χ^2)
	QUAL SUA IDADE?			
	SIM	NÃO	TOTAL	
DE 18 A 21 ANOS	12 (11)*	2 (4)	14	Obs.= n.s. Tab5%=7,81 Tab1%=11,34
DE 22 A 25 ANOS	7 (8)	4 (3)	11	
DE 26 A 29 ANOS	5 (5)	2 (2)	7	
MAIS DE 30 ANOS	6 (6)	2 (2)	8	
Total Global	30	10	40	

* Os valores esperados se apresentam entre parênteses.

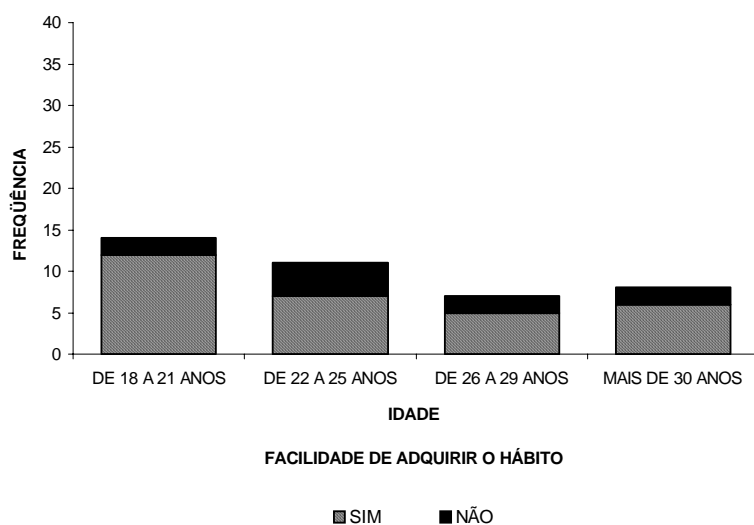


Gráfico 9 – Distribuição do cruzamento da idade com a variável facilidade de adquirir o hábito

Tabela 14 - Descrição tabular do cruzamento da melhoria para a saúde com a variável facilidade de adquirir o hábito e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado

CLASSIFICAÇÃO	VOCÊ ACHA FÁCIL ADQUIRIR O HÁBITO DE CONSUMO DE GRÃOS DE SOJA OU DERIVADOS?			P(χ^2)
	VOCÊ ACREDITA QUE O CONSUMO DE GRÃOS DE SOJA OU DERIVADOS MELHORA A SAÚDE?			
	SIM	NÃO	TOTAL	
SIM	29 (29)*	9 (10)	38	Obs.= n.s. Tab5%=3,84 Tab1%=6,63
NÃO	1 (2)	1 (1)	2	
Total Global	30	10	40	

* Os valores esperados se apresentam entre parênteses.

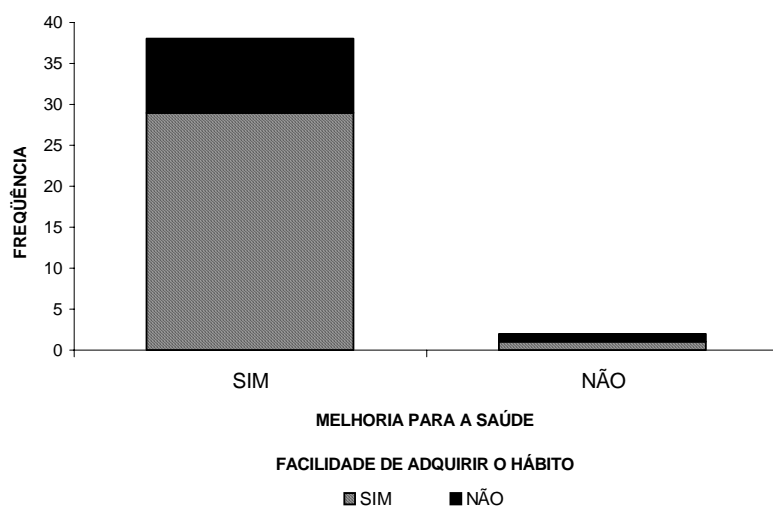


Gráfico 10 – Distribuição do cruzamento da melhoria para a saúde com a variável facilidade de adquirir o hábito

Tabela 15 – Descrição tabular do cruzamento da melhoria para a saúde com a variável gênero (sexo) e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste Qui-quadrado

CLASSIFICAÇÃO	GÊNERO			P(χ^2)
	VOCÊ ACREDITA QUE O CONSUMO DE GRÃOS DE SOJA OU DERIVADOS MELHORA A SAÚDE?			
	SIM	NÃO	TOTAL	
SIM	16 (16)*	22 (22)	38	Obs.= n.s. Tab5%=3,84 Tab1%=6,63
NÃO	1 (1)	1 (1)	2	
Total Global	17	23	40	

* Os valores esperados se apresentam entre parênteses.

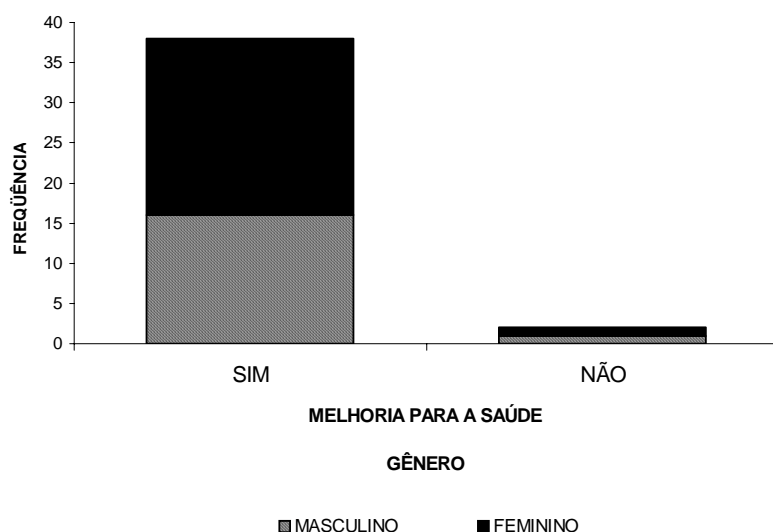


Gráfico 11 – Distribuição do cruzamento da melhoria para a saúde com a variável gênero (sexo)

A partir de todos os cruzamentos realizados, não se observou nenhuma significância estatística entre as variáveis. Isso demonstra que os provadores não correlacionam a melhora da saúde com a frequência de consumo dos grãos de soja, ou seja, apesar de 95% dos provadores terem respondido que o consumo deste tipo de produto melhora a saúde (Gráfico 4), não fazem uso do mesmo.

O mesmo acontece entre a frequência e a facilidade de adquirir o hábito, visto que 75% acreditam que possam adquirir este hábito com facilidade (Gráfico 5), porém, o resultado é controverso, pois não observou-se frequência expressiva (Gráfico 3).

Não houve influência nem da idade nem do sexo sobre a facilidade de adquirir o hábito ou com relação ao conceito de melhoria da saúde através do consumo de grãos ou derivados de soja (Gráficos 8, 9 e 11), demonstrando que o comportamento dos indivíduos entrevistados frente ao produto analisado foi o mesmo, independente do sexo ou idade.

Tabela 16 – Media das notas conferidas aos atributos avaliados nos grãos de soja tostados por diferentes tempos

Atributos	Tratamentos³	Médias
Aparência	T1	5,55±2,09 ^{1ab2}
	T2	5,85±1,73 ^a
	T3	4,85±1,92 ^{ab}
	T4	5,18±2,30 ^{ab}
	T5	4,43±2,22 ^b
	Controle	5,60±2,72 ^{ab}
Aroma	T1	4,90±1,55 ^b
	T2	6,05±1,38 ^a
	T3	4,98±1,33 ^b
	T4	5,68±1,91 ^{ab}
	T5	5,45±1,78 ^{ab}
	Controle	4,83±1,41 ^b
Sabor	T1	4,65±2,26 ^b
	T2	5,88±1,92 ^a
	T3	4,68±2,08 ^b
	T4	6,28±2,21 ^a
	T5	5,55±2,34 ^{ab}
	Controle	2,85±1,63 ^c
Textura	T1	3,60±2,18 ^c
	T2	4,95±2,05 ^b
	T3	3,93±2,10 ^{bc}
	T4	6,95±1,93 ^a
	T5	6,48±1,91 ^a
	Controle	3,35±2,29 ^c

¹ Média ± desvio padrão.

² Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

³ Tratamentos: T1 – com pré-secagem + 10 min. de forno; T2 – com pré-secagem + 15 min. de forno; T3 – sem pré-secagem + 45 min. de forno; T4 – sem pré-secagem + 50 min. de forno; T5 – sem pré-secagem + 60 min. de forno.

Realizando-se o Teste de Tukey (Tabela 16) para comparação das médias, verificou-se que, para o atributo aparência, somente as amostras T2 e T5 apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre si, não diferindo das demais. A T2 representa a

que obteve a maior aceitação, situando-se no atributo “gostei ligeiramente”, enquanto que a T5 a menor, encontrando-se na escala “desgostei ligeiramente”.

Verifica-se que a umidade teve um papel importante neste resultado, pois tanto a T2 quanto a T5 foram expostas ao maior tempo de tostagem nos diferentes tratamentos utilizados, contudo, apenas a T2, que recebeu pré-secagem, teve maior aceitação. Segundo Moser (1980) e Van Soest (1994), as condições de umidade e temperatura acima de 55°C são favoráveis à ocorrência de reações não enzimáticas entre os carboidratos solúveis e grupos aminas dos aminoácidos, resultando na reação de Maillard. Para tanto, a coloração dos grãos de soja tostados podem ser explicados por esta reação, pois o escurecimento é a mais característica das conseqüências da reação de Maillard.

De acordo com Davis (1995), a reação de Maillard é considerada como a mais importante no processo de escurecimento dos alimentos tratados pelo calor, podendo influenciar tanto positivamente quanto negativamente na qualidade do alimento submetido ao tratamento térmico.

No caso da soja esta influência é considerada positiva, pois se assemelha ao que acontece na torrefação do café e do cacau, onde a reação de Maillard é responsável pelo desenvolvimento da coloração e dos aromas agradáveis que os caracterizam (HOSKIN, 1994).

Esse resultado demonstra que houve, devido a tostagem, melhora na aparência do produto, principalmente na amostra que recebeu pré-secagem e ficou mais tempo exposta ao calor, mas, mesmo assim, não foi efetivamente apreciada pelos provadores a ponto de obter médias equivalentes a gostei muito ou extremamente.

Em relação ao atributo aroma (Tabela 16), observa-se que novamente a amostra T2 obteve a maior aceitação, diferindo estatisticamente ($p \leq 0,05$) da T1, T3 e controle. Semelhante ao que aconteceu com a aparência, neste atributo, a T2 também se situa no termo hedônico “gostei ligeiramente”. A T1 e a T3 foram as que receberam os menores tempos de tostagem nos diferentes tratamentos aplicados, enquanto que o controle foi exposto somente à temperatura de estufa (55°C), já a T2 foi exposta ao maior tempo no tratamento com pré-secagem. Esse resultado também pode ser explicado pela ocorrência da reação de Maillard em decorrência da tostagem, visto que,

como consequência desta reação, são produzidos cores e aromas agradáveis quando os alimentos são corretamente processados (NUNES; BAPTISTA, 2001).

No entanto, mesmo com essa melhora no referido aspecto organoléptico, os grãos de soja continuam não sendo tão apreciados pelos provadores, visto que a aceitação se manteve na região do “gostei ligeiramente”.

Pela análise dos resultados em relação ao sabor (Tabela 16), observou-se que todas as amostras diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) do controle. As amostras T2 e T4 obtiveram a maior aceitação, situando-se no termo hedônico “gostei ligeiramente”, e também diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) das amostras T1 e T3. O T5 somente diferiu do controle.

A aceitação da soja e seus produtos sofrem restrições devido, principalmente, ao seu sabor considerado desagradável. Esse sabor característico denominado *beany flavor*, ou sabor de feijão cru, é originado da associação de compostos carbonílicos de cadeia curta com a fração protéica, sendo catalisados pelas enzimas lipoxigenases (MONTEIRO et al., 2004). Entretanto, sabe-se que o emprego do tratamento térmico inativa essas enzimas.

Em estudo realizado por Brown et al. (1982), os autores verificaram que em temperaturas superiores a 91°C, 99% das lipoxigenases podem ser inativadas. Assim, o resultado do controle já era esperado, em virtude do mesmo ter sido exposto apenas à temperatura de estufa (55°C), não sendo esta suficiente para interromper o processo de catalisação dos ácidos graxos.

Todavia, quanto ao tratamento com pré-secagem, o maior tempo de exposição ao calor (T2) foi o mais eficiente para produzir um produto mais agradável ao paladar. Dos tratamentos sem pré-secagem, o tempo intermediário (T4) mostrou-se mais eficiente.

Contudo, apesar das alterações benéficas promovidas pela tostagem, ainda assim não houve uma aceitação considerada expressiva por parte dos provadores, mostrando que o consumo de um produto é realmente influenciado por vários fatores e não apenas por aspectos nutricionais.

Quanto ao atributo textura (Tabela 16), as amostras T4 e T5 situaram-se nos termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei ligeiramente”, respectivamente,

obtendo maior aceitação, diferindo significativamente ($p < 0,05$) das amostras T1, T2, T3 e controle. Com relação a estas últimas, somente a T2 diferiu significativamente ($p < 0,05$) da T1 e controle. Isso demonstra que os tratamentos sem pré-secagem, com os maiores tempos de exposição ao calor, ou seja, 50 e 60 minutos, foram os mais eficazes quanto à textura, fazendo com que o produto se tornasse mais crocante, e assim, mais apreciado.

Fazendo-se uso do teste de Qui-quadrado (Tabela 17), é possível verificar a frequência com que cada amostra foi escolhida pelos provadores em comparação aos valores que eram esperados para as mesmas. Em todos os atributos, a frequência observada foi significativa ($p \leq 0,01$).

No atributo aparência, o controle foi o que mais agradou aos provadores, obtendo a maior frequência nas escalas 8 e 9, estando a frequência observada bem acima da esperada. Em seguida, vem o tratamento T2 nas escalas 6 e 7. O T3 foi o que ficou na média das preferências, visto que foi a maior frequência na escala 5. O T5 foi o mais rejeitado, pois obteve a maior frequência nas escalas 2 e 3. Essa análise é importante para perceber qual a frequência de distribuição, o que não pode ser visualizado através do teste de Tukey (Tabela 16), pois no referido teste não é possível verificar que da escala 6 a 9, as duas amostras mais preferidas quanto a aparência se referem ao T2 e controle, isto é, no teste de Tukey o T2 obteve a maior média, confirmando a boa aceitação, mas o mesmo não acontece com o controle em termos de média.

Tabela 17 – Distribuição das variáveis aparência, aroma, sabor e textura segundo a escala hedônica (CHAVES; SPROESSER, 1996) e respectiva significância estatística da relação de dependência entre elas pelo teste de Qui-quadrado

ATRIBUTOS	ESCALA									P(χ^2)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
APARÊNCIA	Valores observados para a escala									
T1 ¹	2	2	4	3	6	7	9	6	1	
T2	1	1		8	4	10	11	3	2	
T3	1	5	3	8	9	5	6	2	1	Obs.=65,75** Tab5%=55,76 Tab1%=63,69
T4	1	4	6	8	2	7	4	4	4	
T5	2	7	9	5	3	3	8	2	1	
Controle	4	4	3	2	4	7	1	9	6	
Valores esperados	2	4	4	6	5	7	7	4	3	
AROMA	Valores observados para a escala									
T1		2	5	7	17	3	3	2	1	
T2			1	4	11	6	13	4	1	
T3		1	4	8	16	6	3	2		Obs.=84,69** Tab5%=55,76 Tab1%=63,69
T4		3	3	5	5	12	2	9	1	
T5		3	4	3	9	10	6	4	1	
Controle	3		1	5	23	5	2	1		
Valores esperados	1	2	3	5	14	7	5	4	1	
SABOR	Valores observados para a escala									
T1	3	6	6	5		12	5	1	2	
T2		2	3	7	2	9	9	5	3	
T3	1	5	9	6	4	5	5	5		Obs.=98,59** Tab5%=55,76 Tab1%=63,69
T4	1	1	4	4	2	8	4	10	6	
T5	2	4	2	7	1	8	6	7	3	
Controle	9	12	7	3	7	1	1			
Valores esperados	3	5	5	5	3	7	5	5	2	
TEXTURA	Valores observados para a escala									
T1	9	7	4	7	3	7		3		
T2	2	2	8	6	4	6	9	2	1	
T3	6	4	10	6	3	6	2	3		Obs.=118,6** Tab5%=55,76 Tab1%=63,69
T4		1	2	3	1	8	5	10	10	
T5		1	4	1	2	14	3	9	6	
Controle	12	6	4	8	2	4	2		2	
Valores esperados	5	4	5	5	3	8	4	5	3	

**Valor significativo ao nível de 1% pelo teste de Qui-quadrado.

¹Tratamentos: T1 – com pré-secagem + 10 min. de forno; T2 – com pré-secagem + 15 min. de forno; T3 – sem pré-secagem + 45 min. de forno; T4 – sem pré-secagem + 50 min. de forno; T5 – sem pré-secagem + 60 min. de forno.

Quanto ao aroma, o T4 obteve a maior freqüência tanto na escala 8 como na 6. Nesta última, o T5 vem logo em seguida, ficando os tratamentos T4 e T5 bem próximos quanto a preferência. Já o T2 obteve um valor bastante expressivo na escala 7. O controle ficou na média, sendo o mais preferido na escala 5. Os demais foram os mais rejeitados, sendo o T3 maior na escala 4 e o T1 na escala 3. Novamente, comparando o resultado encontrado ao teste de Tukey (Tabela 16), confirma-se que o T2 apresentou a maior média, ou seja, a maior aceitação, sendo o T4 e T5 os posteriores. No entanto, nota-se que o controle obteve a menor aceitação (Tabela 16), o que não é confirmado no teste de Qui-quadrado, pois o mesmo destacou-se na escala 5 e não abaixo desta, o que figuraria a maior rejeição.

No quesito sabor, o T4 foi o mais preferido (escalas 8 e 9), seguido do T2 na escala 7 e do T1 na escala 6. O controle e o T3 foram os mais rejeitados, pois aparecem com maior freqüência nas escalas inferiores a 5. Em relação ao teste de Tukey (Tabela 16), este confirma o resultado, exceto quanto ao T1 e T3, que não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$), porém, observando as distribuições referentes às freqüências, verifica-se que foram bem distintas.

Na escala 9, o T4 foi o mais preferido quanto a textura. Já na escala 8, o T4 e o T5 tiveram freqüências bem próximas, mostrando que ambas foram bem aceitas pelos provadores. O T2 obteve a maior freqüência na escala 7. Em ordem decrescente de escala, o controle, T3 e T1 foram os menos apreciados. Esse resultado foi confirmado pelo teste de Tukey (Tabela 16), visto que neste caso as médias estão similares à distribuição observada.

3 CONCLUSÕES

De acordo com os dados obtidos, concluiu-se que:

- a tostagem em forno convencional inativou os inibidores de tripsina;
- o tratamento sem pré-secagem foi o mais eficaz, pois, com esse tratamento, houve menor reativação dos inibidores após a proteólise *in vitro*;
- a eletroforese comprovou que a inativação dos inibidores pode ter ocorrido por complexação, havendo, assim, posterior reativação;
- a tostagem foi responsável pela melhora da digestibilidade da proteína e da dialisibilidade do ferro *in vitro*;
- não houve correlação entre a digestibilidade da proteína e os inibidores de tripsina;
- o tratamento que promoveu a maior aceitabilidade dos grãos de soja tostados foi o que recebeu o tempo intermediário de 50 minutos, entre os que não foram submetidos à pré-secagem;
- a composição centesimal esteve dentro dos valores esperados para este produto.

REFERÊNCIAS

ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.5, p.1101-1109, set./out. 2004.

AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. **Nutrient data laboratory**. Disponível em: <www.nal.usda.gov>. Acesso em: 22 ago. 2005.

AKESON, W.R.; STAHMANN, M.A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.83, p.257-261, 1964.

AL-WESALI, M.; LAMBERT, N.; WELHAM, T.; DOMONEY, C. The influence of pea seed trypsin inhibitors on the *in vitro* digestibility of casein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.68, n.4, p.431-437, 1995.

ALDRICH, C.G.; MERCHEN, N.R.; NELSON, D.R.; BARMORE, J.A. The effects of roasting temperature applied to whole soybeans on site of digestion by steers: 2. Protein and amino acid digestion. **Journal Animal Science**, Champaign, v.73, p.2131-2140, 1995.

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

AMERSHAN BIOSCIENCES. **Image master 2D platinum 5.0**. Piscataway, 2003. 1 CD-ROM.

ANDERSEN, P. K. Survival analysis 1982-1991: The second decade of the proportional hazards regression model. **Statistics in Medicine**, New York, v.10, p.1931-1944, 1991.

ANDERSON, J.W.; JOHNSTONE, B.M.; COOK-NEWELL, M.E. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. **New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v.333, n.5, p.276-282, 1995.

ANDERSON, R.L.; RACKIS, J.J.; TALLENT, W.H. Biologically active substances in soy products. In: WILCKE, H.L.; HOPKINS, D.T.; WAGGLE, D.H. (Ed.). **Soy protein and human nutrition**. New York: Academic Press, 1979. p.209-233.

ANTUNES, P. L.; SGARBIERI, V. C. Effect of heat treatment on the toxicity and nutritive value of dry bean (*Phaseolus vulgaris*, var. rosinha G2) protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.28, n.5, p.9535-9380, 1980.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington, 1995. 2v.

ASP, N. G.; JOHANSSON, C. A.; HALLMER, H.; SILJESTROM, M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 31, n. 3, p. 476-482, 1983.

AXELROD, B.; CHEESBROUGH, T. M.; LAAKSO, S. Lipoxygenases in soybean. **Methods Enzymology**, New York, v.71, p.441-451, 1981.

BARBI, J.W. Technology comparisons and results on processing and nutrition of fullfat soya. In: INTERNATIONAL FULLFAT SOYA CONFERENCE, 2., Budapest, 1996. **Annals...** Budapest: American Soybean Association, 1996. p.56-66.

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, jan./abr. 1999.

BATH, D.; DUNBAR, J.; KING, J.; BERRY, S.; OLBRICH, S. Byproducts and unusual feedstuffs. **Feedstuffs**, Minnetonka, v.71, n.31, p.32-38, 1999.

BATISTA, I.F.C.; OLIVA, M.L.V.; ARAUJO, M.S.; SAMPAIO, M.U.; RICHARDSON, M.; FRITZ, H.; SAMPAIO, C.A.M. Primary structure of a Kunitz-type trypsin inhibitor from *enterolobium contortisiliquum* seeds. **Phytochemistry**, New York, v.41, n.4, p.1017-1022, 1996.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. Leguminosa. In: _____. **Química de los alimentos**. Madrid: Acribia, 1988. cap.16, p.585-598.

BELITZ, H.D.; WEDER, J.K.P. Protein inhibitors of hydrolases in plants foodstuffs. **Food Reviews International**, New York, v.6, p.151-211, 1990.

BENDER, A.E. Effects on nutritional balance: antinutrients. In: WATSON, D.H. **Natural toxicants in food: progress and prospects**. London: Ellis Horwood International Publishers, 1987. p.110-124.

BIANCHI, M.L.P.; SILVA, H.C.; OLIVEIRA, J.E.D. Considerações sobre a biodisponibilidade do ferro nos alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.42, n.2, p.94-100, 1992.

BLAS, C.; MATEOS, G.G.; REBOLLAR, P.G. (Ed.). **Normas FEDNA sobre valoración nutritiva de leguminosas y cereales tratados**. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, 2001. 18p.

BORSOI, M.A. **Nutrição e dietética: noções básicas**. São Paulo: SENAC, 2001. 79p.

BRANDON, D. L.; BATES, A. H. Definition of functional and antibodybinding sites on Kunitz soybean trypsin inhibitor isoforms using monoclonal antibodies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.36, p.1336-1341, 1988.

BRANDON, D.L.; BATES, A.H.; FRIEDMAN, M. Elisa analysis of soybean trypsin inhibitor in processed foods. **Nutritional and Toxicological Consequences of Foods Processing**, New York, v.37, p.321-336, 1991.

_____. Antigenicity of soybean protease inhibitors. In: TROLL, W.; KENNEDY, A.R. (Ed.). **Proteinase inhibitors as cancer chemopreventive agents**. New York: Plenum Press, 1993. p.107-129.

BRANDON, D. L., HAQUES, S. L., FRIEDMAN, M. Interaction of monoclonal antibodies with soybean trypsin inhibitors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.35, p.195-200, 1987.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Normas para pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução CNS nº 196/96 e outras)**. 2.ed. ampliada. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 64p.

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.

_____. All vegetable protein mixtures for human feeding. **Journal of Food Science**, Chicago, v.31, p.626-630, 1983.

BROWN, B.D.; WEI, L.S.; STEINBERG, M.P.; VILOTTA, R. Minimizing protein insolubilization during thermal inactivation of lipoxygenase in soybean cotyledons. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Chicago, v.59, n.2, p.88-92, 1982.

BURT, C. The factorial analysis of qualitative data. **British Journal of Psychology (Statistical)**, London, v.3, p.166-185, Nov. 1950.

CAFÉ, M.B.; SAKOMURA, N.K.; JUNQUEIRA, O.M.; CARVALHO, M.R.B. Determinação do valor nutricional das sojas integrais processadas para aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.2, n.1, p.1516-1535, 2000.

CALAM, J.; BOJARSKI, J.C.; SPRINGER, C.J. Raw soya-bean flour increases cholecystokinin release in man. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.58, p.175-179, 1987.

CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; SILVA, F.C. Avaliação do aproveitamento do ferro de leguminosas por diálise *in vitro*. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO, 5., 1999, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: SBAN, 1999. p.258.

CANTO, W.L.; TURATTI, J.M. Produção e mercado de produtos intermediários de soja no Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, n.7, v.2, p.111-139, 1989.

CARBONARO, M.; MARLETTA, L.; CARNOVALE, E. Factors affecting cystine reactivity in proleolytic digests of *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.40, n.2, p.169-173, 1992.

CARPENTER, C.E.; MAHONEY, A.W. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.31, n.4, p.333-367, 1992.

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, set. 2002.

CHAVES, J.B.P.; SPROESSER, R.L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa, 1996. 81p.

CHIARELLO, M. D. A soja e os alimentos funcionais: oportunidades de parcerias em P&D para os setores público e privado. **Revista Parcerias Estratégicas**, Brasília, n.15, p.48-60, out. 2002.

CHUNG, T.K.H.; YIP, S.K.; LAM, P.; CHANG, A.M.Z.; HAINES, C.J. A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study on the effect of oral estradiol on acute menopausal symptoms. **Maturitas**, Amsterdam, v. 25, p.115-123, 1996.

CLARK, J.W.; SANTOS-MOORE, A.; STEVENSON, L.E.; FRACKELTON JR., A.R. Effects of tyrosine kinase inhibitors on the proliferation of human breast cancer cell lines and proteins important in the ras signaling pathway. **International Journal of Cancer**, New York, v.65, p.186-191, 1996.

CLEMENTI, S.; CRUCIANI, G.; GIULIETTI, G.; BERTUCCIOLI, M.; ROSI, I. Food quality optimization. **Food Quality and Preference**, Barking, v.2, p.1-12, 1990.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Exportação complexo soja e trigo**. Disponível em: <www.conab.gov.br/download/indicadores/0304-oferta-e-demanda-mundial.pdf>. Acesso em: 20 set. 2005.

COOK, J.D. Determinants of nonheme iron absorption in man. **Food Technology**, Chicago, v.37, n.10, p.124-126, 1983.

DAVIS, E. Functionality of sugars: physicochemical interactions in foods. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.62, suppl., p.170S-177S, 1995.

DAVIS, S.R. Phytoestrogen therapy for menopausal symptoms? There's no good evidence that it's any better than placebo. **British Medical Journal**, Edinburgh, v.323, p.354-355, 2001.

DE ANGELIS, R.C. **Fome oculta**: impacto para a população do Brasil. São Paulo: Atheneu, 1999. 236p.

DE KLEIJN, M.J.; VAN DER SCHOUW, Y.T.; WILSON, P.W.; GROBBEE, D.E.; JACQUES, P.F. Dietary intake of phytoestrogens is associated with a favorable metabolic cardiovascular risk profile in postmenopausal us women: the framingham study. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.132, p.276-282, 2002.

DE SCHUTTER, A.C.; MORRIS, J.R. Soybeans: full fat. In: THACKER, P.D.; KIRKWOOD, R.N. (Ed). **Non traditional feed sources in swine production**. New York: Butterworths Publishers, 1990. p.439-451.

DEL VALLE, F.R. Nutritional qualities of soya protein as affected by processing. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Chicago, v.58, n.3, p.419-429, Mar. 1981.

DESHPANDE, S.S.; DAMODARAN, S. Structure: a digestibility relationship of legume 7S proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v.54, n.1, p.108-113, 1989.

DESHPANDE, S.S., NIELSEN, S.S. *In vitro* digestibility of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: the role of heat-stable protease inhibitors. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.5, p.1330-1334, 1987.

DI PIETRO, C.M.; LIENER, I.E. Heat inactivation of the Kunitz and Bowman-Birk soya bean protease inhibitors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.37, p.39-44, 1989.

DISLER, P.B.; LYNCH, S.R.; CHARLATAN, R.W.; TORRANCE, J.D.; BOTHWELL, T.H.; WALKER, R.B.; MAYET, F. The effect of tea on iron absorption. **Gut British Society of Gastroenterology**, London, v.16, p.193-200, 1975.

ELPO, E.R.S.; FREITAS, R.J.S.; GOMES, E.C. Avaliação dos teores de ferro nos alimentos da cesta básica. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.48, n.1, p.65-67, 1998.

EMBRAPA. **Reunião anual de pesquisa de soja da região Sul - 2000**. Disponível em: <www.cnpt.embrapa.br/i_soja.htm>. Acesso em: 14 jul. 2003.

FAIRWEATHER-TAIT, S.J.; FOX, T.E.; WHARF, S.G.; EAGLES, J. The bioavailability of iron in different weaning foods and the enhancing effects of a fruit drink containing ascorbic acid. **Pediatric Research**, Baltimore, v.37, p.1-6, 1995.

FAO. **Carbohydrates in human nutrition**. Rome, 1998. 140p. Disponível em: <www.fao.org/es/esn/nutrition/carboweb/carbo.pdf>. Acesso em: 22 ago. 2005.

FRIEDMAN, M.; BRANDON, D.L.; BATES, A.H.; HYMOWITZ, T. Comparison of a commercial soyabean cultivar and an isolate lacking the Kunitz trypsin inhibitor: composition, nutritional value and effects of heating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.39, p.327-335, 1991.

FUKUSHIMA, D. Internal structure of 7S and 11S globulin molecules in soybean proteins. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.45, p.203, 1968.

GALEAZZI, M.A.M.; SGARBIERI, V.C. Inactivation and reactivation of trypsin inhibitors in different bean varieties. In: ORGANIZATION OF THE AMERICAN STATES. **Advances in bean research: chemistry, nutrition, technology**. São Paulo: EDUSP, 1988. p.15.

GALLAGHER, J.C.; RAFFERTY, K.; HAYNATZKA, V.; WILSON, M. The effect of soy protein on bone metabolism. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.130, p.667s, 2000. Abstract.

GATEL, F. Protein quality of legume seeds for non-ruminant animals: a literature review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.45, p.317-348, 1994.

GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (*Glycine max.*) consumidos no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n.3, p.309-312, 1998.

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

GRANT, G.; WATT, W.B.; STEWART, J.C.; BARDOCZ, S.; PUSZTAI, A. Intestinal and pancreatic responses to dietary soyabean (*Glycine max.*) proteins. **Biochemical Society Transactions**, London, v.16, n.4, p.610-611, 1988.

GREEN, G.M.; LYMAN, R.L. Feedback regulation of pancreatic enzyme secretion as a mechanism for trypsin-induced hypersecretion in the rat. **The Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, Maywood, n.140, p.6, 1972.

GREENACRE, M. J. **Correspondence analysis in practice**. London: Academic, 1993. 193p.

GUNDEL, J.; MATRAI, T. Different methods of heat treatment for soybeans in piglet nutrition. In: INTERNATIONAL FULLFAT SOYA CONFERENCE, 2., 1996, Budapest. **Annals...** Budapest: American Soybean Association, 1996. p.433-450.

HAFEZ, Y.S.; SINGH, G.; McLELLAN, M.E.; MONROE-LORD, L. Effects of microwave heating on nutritional quality of soyabeans. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v.28, p.413-421, 1983.

HAJÓS, G.; GELENCSÉR, E.; PUSZTAI, A.; GRANT, G.; SAKHRI, M.; BARDOCZ, S. Biological effects and survival of trypsin inhibitors and the agglutinin from soybean in the small intestine of the rat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.43, n.1, p.165-170, 1995.

HALLBERG, L.; ROSSANDER-HULTHÉN, L.; BRUNE, M.; GLEERUP, A. Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v.46, p.317-327, 1992.

HAMBRAEUS, L. Animal and plant food based diets and iron status: benefits and costs. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v.58, p.235-242, 1999.

HASDAI, A.; NITSAN, Z.; VOLCANI, R.; BIRK, I. Growth, digestibility and enzyme activities in the pancreas and intestines of guinea-pigs fed on raw and heated soyabean flour. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.62, p.529-537, 1989.

HASLER, C.M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, Chicago, v.52, n.11, p.63-70, 1998.

HENDRICKS, K.M.; BADRUDDIN, S. Weaning recommendations: the scientific basis. **Nutrition Reviews**, New York, v.50, n.50, p.125-133, 1992.

HOLM, H.; ROSELNAD, J.E.; THORSEN, L.I.; FLATMARK, A.; HANSEN, L.E. Raw soybeans stimulate human pancreatic proteinase secretion. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, n.122, p.1407-1416, 1992.

HOSKIN J.C. Sensory properties of chocolate and their development. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.60, suppl., p.1068S-1070S, 1994.

HURRELL, R.F.; LYNCH, S.R.; TRINIDAD, T.P.; DASSENKO, A.S.; COOK, J.D. Iron absorption in human as influenced by bovine milk proteins. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.49, p.546-552, 1989.

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

JORGE NETO, G. Soja integral na alimentação de aves e suínos. **Avicultura & Suinocultura Industrial**, São Paulo, n.988, p.4-15, 1992.

KAANKUKA, F.G.; BALOGUN, T.F.; TEGBE, T.S.B. Effects of duration of cooking of full-fat soya beans on proximate analysis, levels of antinutritional factors, and digestibility by weaning pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.62, n.2-4, p.229-237, 1996.

KAGAWA, A. (Ed.). **Standard table of food composition in Japan**. Tokyo: University of Nutrition for Women, 1995. p.104-105.

KAKADE, M.L.; SIMONS, N.; LIENER, I.E. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.51, n.3, p.377-382, 1974.

KAPANIDIS, A.N.; LEE, T.C. Heating cruciferous vegetables increases *in vitro* dialyzability of intrinsic and extrinsic iron. **Journal of Food Science**, Chicago, v.60, n.1, p.128-131, Jan./Feb. 1995.

KASS-ANNESE, B. Alternative therapies for menopause. **Clinical Obstetrics & Gynecology**, Philadelphia, v.43, p.162-183, 2000.

KATIC, Z.; KRIZIC, N.; PLIESTIC, S.; TAJANA, K. Optimizing toasting process of full fat soya. In: INTERNATIONAL FULLFAT SOYA CONFERENCE, 2., 1996, Budapest. **Annals...** Budapest: American Soybean Association, 1996. p.90-98.

KENNEDY, A. R. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.125, p.733S-743S, 1995.

KOROLLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J.H. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 39p.

KRACHLER, M.; ROSSIPAL, E. Concentrations of trace elements in extensively hydrolysed infant formula and their estimated daily intakes. **Annals of Nutrition and Metabolism**, Basel, v.44, n.2, p.68-74, 2000.

KUNITZ, M. Crystallization of trypsin inhibitor from soybeans. **Science**, Washington, v.101, p.668-669, 1945.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembling of the bacteriophage T₄. **Nature**, London, v.227, p.680-685, 1970.

LAJOLO, F.M.; TIRAPGUI, J. Proteínas e aminoácidos. In: OLIVEIRA, J.E.D. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 1998. cap.3, p.41-65.

LEE, R.G.; BITHELL, T.C.; FOERSTER, T.; ATHENS, J.W.; LUKENS, J.N. **Hematología clínica**. São Paulo: Manole, 1998.

LESSIRE, M.; LECLERCQ, B.; CONAN, L. Variabilité de la valeur énergétique de la graine de soja traitée pour les volailles. **INRA Productions Animales**, Paris, v.1, n.4, p.265-270, 1988.

LIDDLE, R.A.; GOLDFINE, I.D.; WILLIAMS, J.A. Bioassay of plasma cholecystokinin in rats: effects of food, trypsin inhibitor, and alcohol. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.87, n.3, p.542-549, 1984.

LIENER, I.E. The nutritional significance of plant protease inhibitor. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v.38, n.1, p.109-113, 1979.

_____. Trypsin inhibitors: concern for human nutrition or not? **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.116, n.5, p.920-923, 1986.

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

_____. Possible adverse effects of soybean anticarcinogens. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.125, p.744-750, 1995.

LIENER, I.E.; GOODALE, R.L.; DESHMUKH, A.; SATTERBERG, T.L.; WARD, G.; DI PIETRO, C.M.; BANKEY, P.E.; BORNER, J.W. Effect of a trypsin inhibitor from soybeans (Bowman-Birk) on the secretory activity of the human pancreas. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.94, n.2, p.419-427, 1988.

LINDER, M.C. **Nutrición**: aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos. Pamplona: Eunsa, 1988. p.189-216.

LISSIN, L.W.; COOKE, J.P. Phytoestrogens and cardiovascular health. **Journal of the American College of Cardiology**, New York, v.35, p.1403-1410, 2000.

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

LUTEN, J.; CREWS, H.; FLYNN, A.; VAN DAEL, R.; KASTENMAYER, P.; HURRELL, R.; DEELSTRA, H.; SHEN, L.; FAIRWEATHER-TAIT, S.; HICKSON, K.; FARRÉ, R.; SCHLEMMER, U.; FRAHLICH, 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.

LYNCH, S.R. Interaction of iron with other nutrients. **Nutrition Research**, Tarrytown, v.55, n.4, p.102-110, 1997.

MAGA, J.A.; LORENZ, K.; ONAYEMI, O. Digestive acceptability of proteins as measured by the initial rate of *in vitro* proteolysis. **Journal of Food Science**, Chicago, v.38, n.1, p.173-174, Jan. 1973.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9.ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179p.

MARTÍNEZ, C.; ROS, G.; PERIAGO, M.J.; LOPEZ, G. Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.49, n.2, p.106-113, 1999.

MARTINI, F.C.C. **Comparação entre a disponibilidade de ferro na presença de vitamina A e beta-caroteno em alimentos e medicamentos**. 2002. 98p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 1991. 354 p

MONSEN, E.R.; HALLBERG, L.; LAYRISSE, M.; HEGSTED, D.M.; COOK, J.D.; MERTZ, W.; FINCH, C.A. Estimation of available dietary iron. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.31, p.134-141, 1978.

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.2, abr./jun. 2004.

MONTEIRO, M.R.P.; MOREIRA, M.A.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V. Avaliação da digestibilidade protéica de genótipos de soja com ausência e presença do inibidor de tripsina Kunitz e lipoxigenases. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.6, n.1, p.99-107, 2003.

MOSKOWITZ, H.R. **Applied sensory analysis of foods**. Boca Raton: CRC Press, 1988. 259p.

MURKIES, A.L.; WILCOX, G., DAVIS, S.R. Phytoestrogens. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Baltimore, v.83, p.297-303, 1998.

MOSER, L.E. Quality of forages as affected by post-harvest storage and processing. In: FAHEY JUNIOR, G.C. (Ed.). **Crop quality storage, and utilization**. Madison, Wisconsin: American Soybean Association, 1980. p.227-260.

MURRAY, J.H. The role of the micronizer in full fat soya production with reference to young animal nutrition. In: INTERNATIONAL FULLFAT SOYA CONFERENCE, 2., 1996, Budapest. **Annals...** Budapest: American Soybean Association, 1996. p.67-77.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of pigs**. 8.ed. Washington: National Academy of Science, 1977.

_____. **Nutrient requirements of pigs**. 9.ed. Washington: National Academy of Science, 1988.

_____. **Nutrient requirements of pigs**. 10.ed. Washington: National Academy of Science, 1998.

NESTEL, P.J.; POMEROY, S.; KAY, S.; KOMESAROFF, P.; BEHRING, J.; CAMERON, J.D.; WEST, L. Isoflavones from red clover improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal women. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Baltimore, v.84, p.895-898, 1999.

NUNES, C.S.; BAPTISTA, A.O. Implicações da reação de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v.96, p.53-59, 2001.

NUNES, J.R.V.; DIERCK, S.M.A.G. Efeito do processamento da soja crua sobre o desempenho de leitões. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.45, n.5, p.511-517, 1993.

OLIVEIRA, J.E.D. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 1998.

OSBORNE, T.B.; MENDEL, L.B. The use of soya beans as food. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.32, p.4510-4514, 1917.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 10.ed. São Paulo: Nobel, 1982. 430p.

PRADO, F.C.; RAMOS, J.A.; VALLE, J.R. **Atualização terapêutica**: manual prático de diagnóstico e tratamento. São Paulo: Artes Médicas, 1999.

QIN, G.; TER ELST, E.R.; BOSCH, M.W.; VAN DER POEL, A.F. Thermal processing of whole soya beans: studies on the inactivation of antinutritional factors and effects on ileal digestibility in piglets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, n.57, p.313-324, 1996.

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

RACKIS, J.J.; GUMBMAN, M.R. Protease inhibitors: physiological properties and nutritional significance. In: ORY, R.L. **Antinutritional and natural toxicants in foods**. Westport: Food & Nutrition Press, 1982. p.203-237.

RACKIS, J. J.; SESSA, D. J.; HONIG, D. H. Flavor problems of vegetable food proteins. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Chicago, v.56, p.262-271, 1979.

RHEE, K.S.; RHEE, K.C. Nutritional evaluation of the protein in oilseed products heated with sugars. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n.1, p.164-168, Jan./Feb. 1981.

RODRIGUES, P.B.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; GOMES, P.C.; NUNES, R.V.; TOLEDO, R.S. Valores energéticos da soja e subprodutos da soja, determinados com frangos de corte e galos adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.4, p.1771-1782, 2002.

ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 140p.

ROUSSEAU, P.L.; ONUH, S.O.; HON, K.K.B.; OUEDRAOGO, C.L.; LALLES, J.P.; TOULLEC, R.; GRONGNET, J.F. Roasted fullfat soybean as an ingredient of milk replacers for goat kids. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v.28, n.1, p.53-59, Apr. 1998.

RYAN, C.A. **The biochemistry of plants**. New York: Academic, 1981. 351p.

SAKOMURA, N.K.; BIANCHI, M.D.; PIZAURO JUNIOR, J.M.; CAFÉ, M.B.; FREITAS, E.R. Efeito da idade dos frangos de corte sobre a atividade enzimática e digestibilidade dos nutrientes do farelo de soja e da soja integral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.4, p.924-935, 2004.

SANT'ANA, L.F.R.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; GOMES, M.R.A. Valor nutritivo e fatores antinutricionais de multimisturas utilizadas como alternativa alimentar. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.3, p.129-135, 2000.

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

SCHEIBER, M.D.; REBAR, R.W. Isoflavones and postmenopausal bone health: a viable alternative to estrogen therapy? **Menopause**, Philadelphia, v.6, p.233-241, 1999.

SCHIFFMAN, L.G.; KANUK, L.L. **Comportamento do consumidor**. 6.ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000.

SERRANO, X.; VILLALBI, E. **The extrusion cooking process in piglet feeding: nutritional implications**. Bellaterra: Univesidad Autónoma de Barcelona, 1999. p.188-197.

SETNA. **Tablas de composición de materias primas**. Madrid: Rivas Vaciamadrid, 2000. 30p.

SGARBIERI, V.C. **Propriedades físico-químicas e nutricionais de proteínas de feijão (*Phaseolus vulgaris*,L.) var. rosinha G2**. 1979. 207p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, 1979.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

SGARBIERI, V.C.; WHITAKER, J.R. Physical, chemical and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. **Advances in Food Research**, Orlando, v.28, n.1, p.93-166, 1982.

SIMON, M.; MELNICK, D. The *in vitro* digestibility of raw and heat-processed soy products varying in the nutritive value of the protein. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.27, n.2, p.114-126, Mar. 1950.

SNYDER, H.E.; KWON, T.W. **Soybean utilization**. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1987. 346p.

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

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/QC software**: usage and reference (version 6). 2.ed. Cary, 1996. 1 CD-ROM.

STIPANUK, M.H. **Biochemical and physiological aspects of human nutrition**. Philadelphia: Saunders Company, 2000. 1007p.

TAN-WILSON, A.L.; COSGRIFF, S.E.; DUGGAN, M.C.; OBACH, R.S.; WILSON, K.A. Bowman-Birk proteinase isoinhibitors complements of soybean strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, n.33, p.389-393, 1985.

TSUKAMOTO, I.; MIYOSHI, M.; HAMAGUCHI, Y. Purification and characterization of trypsin inhibitors from beans *Phaseolus vulgaris* 'Kintoki'. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.60, n.3, p.281-286, 1983.

UNICEF. **Situação mundial da infância**. Brasília, 1998. p.92-97.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. **Tabela brasileira de composição de alimentos**: projeto integrado de composição de alimentos. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tabela/tbcmenu.php>>. Acesso em 22 ago. 2005.

VAINTRAUB, I.A.; YATTARA, H.B. Proteolysis of kunitz soybean trypsin inhibitor. Influence on its activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.43, n.4, p.862-866, 1995.

VAN DER POEL, A.F.B.; VERSTEGEN, M.W.A.; TAMMINGA, S. Chemical physical and nutritional effects of feed processing technology. In: WESTERN NUTRITION CONFERENCE, 16., 1995, Saskatoon. **Proceedings...** Saskatoon: Edmonton, 1995. p.70-86.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Comstock Publishing, 1994. 476p.

XAVIER-FILHO, J.; CAMPOS, F.A.P. Proteinase inhibitors. In: CHEEK, P.R. **Toxicants of plant origin**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p.1-27.

ZHU, S.; RIAZ, M.N.; LUSAS, E.W. Effect of different extrusion temperatures and moisture content on lipoxygenase inactivation and protein solubility in soybeans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.44, p.3315-3318, 1996.