

RITA DE CÁSSIA OLIVEIRA SANT'ANA

INFLUÊNCIA DA EXTRAÇÃO DO LIPÍDIO E DA CASCA DE DIFERENTES
FONTES PROTÉICAS NA DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Bioquímica Agrícola, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

RITA DE CÁSSIA OLIVEIRA SANT'ANA

INFLUÊNCIA DA EXTRAÇÃO DE LIPÍDIO E DA CASCA DE DIFERENTES
FONTES PROTÉICAS NA DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Bioquímica Agrícola, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de julho de 2008.

Prof^ª Márcia Rogéria de A. Lamêgo
(Co-Orientadora)

Prof. Christiano Vieira Pires
(Co-Orientador)

Prof. Adelson Luiz Araújo Tinôco

Prof^ª Neuza Maria Brunoro Costa

Prof^ª Maria Goreti de Almeida Oliveira
(Orientadora)

Aos meus pais José Fausto e Avelina das Graças.

Aos meus irmãos Júnior e Leonardo.

À minha sobrinha Maria Eduarda.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e bênção diária.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, pela minha formação.

Ao BIOAGRO – Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, pela estrutura de suporte ao curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa em Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

À Professora Maria Goreti de Almeida Oliveira, pela orientação, pelos ensinamentos, pela confiança, pelo incentivo que foi decisivo na minha formação e, sobretudo, pela amizade. Obrigada por confiar e acreditar no meu trabalho!

Ao Professor Christiano Vieira Pires, por ter aceitado fazer parte desse trabalho, pelo grande apoio, pela amizade, pela orientação e pela valiosa transmissão de conhecimentos.

Aos Professores Thiago Rennó dos Mares Guia e Márcia Rogéria de Lamêgo pela co-orientação.

À Professora Neuza Maria Brunoro Costa por aceitar fazer parte da banca, pela atenção dispensada, pelos ensinamentos e pelas sugestões.

Ao Professor Adelson Luiz Araújo Tinôco por aceitar fazer parte da banca e por todos os ensinamentos durante a graduação.

Às Professoras Maria do Carmo Gouveia Pelúzio e Hércia Stampini Duarte Martino pela atenção dispensada e pelas sugestões.

Aos meus pais José Fausto e Avelina, por terem me dado todo o incentivo, suporte e principalmente sábia orientação durante toda etapa percorrida.

Aos meus irmãos Júnior e Leonardo, pelo apoio incondicional e por terem me dado forças para vencer esta etapa e driblar as dificuldades.

À Fabrícia Queiroz, companheira de trabalho, pela paciência e disponibilidade de ajuda todas as vezes que foi necessário, pelos ensinamentos e, sobretudo, pela amizade.

Ao Secretário do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola Eduardo Pereira Monteiro pelo carinho e pela contínua disponibilidade de ajuda.

Aos técnicos de laboratório Adenilson, Jorginho, Naldo e Cassiano pelo apoio durante a realização dos experimentos.

Às estagiárias Julia Carraro, Izabela Zeferino e Zaira Hoffmam, pela colaboração durante a realização desta pesquisa.

Aos meus colegas do Laboratório de Enzimologia Anderson, Angélica, Camila, Eduardo, Fabrícia, Franciny, Kenia, Liliane, Patrícia e Lílian pelo convívio diário e pelos momentos de descontração.

Aos colegas do BIOAGRO Gláucia, Marlene e Cássio pela ajuda diária.

À Larissa Froede e Patrícia Fontes pela amizade e por estarem sempre dispostas a ajudar.

Aos meus amigos do mestrado, Larissa, Paty, Rafael, Ronny, Edvaldo, Renata, Izabela e Wendel pelas longas horas de estudos e também de diversão durante este período.

Ao Anderson e à Elisa pela grande ajuda na reta final.

Às amigas Vânia, Maria Carol, Marcela, Nádia e Bianca por fazerem parte dos momentos de descontração e por terem sempre palavras amigas nas horas certas.

A todos os meus Amigos, os quais seria impossível citar os nomes, mas tenho certeza que eles sabem quem são e que também foram peças fundamentais nesta jornada.

E a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Agradecer é admitir que houve um momento que se precisou de alguém; é reconhecer que o homem jamais poderá lograr para si o dom de ser auto-suficiente”.

BIOGRAFIA

RITA DE CÁSSIA OLIVEIRA SANT'ANA, filha de José Fausto Sant'Anna e Avelina das Graças Oliveira Sant'Ana, nasceu em 24 de fevereiro de 1983, na cidade de Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 2003, iniciou o curso de graduação em Nutrição na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, concluindo-o em março de 2007.

Em março de 2007, ingressou no Programa de Mestrado em Bioquímica Agrícola na UFV, concluindo os requisitos necessários para obter o título de *Magister Scientiae* em julho de 2008, com a defesa da dissertação.

CONTEÚDO

| | Página |
|---|--------|
| RESUMO | xiii |
| ABSTRACT | xv |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 3 |
| 2.1. Valor nutricional de proteínas | 3 |
| 2.2. Digestibilidade | 5 |
| 2.3. Digestibilidade <i>in vitro</i> | 7 |
| 2.4. Fibra e lipídio | 9 |
| 3. OBJETIVOS | 12 |
| 3.1. Objetivo Geral | 12 |
| 3.1. Objetivos Específicos | 12 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 13 |
| 4.1. Preparo das amostras | 13 |
| 4.2. Determinação do teor de proteínas | 15 |
| 4.3. Extração de gordura das amostras | 15 |
| 4.4. Determinação do teor de fibra e extração de fibra das amostras | 15 |
| 4.5. Digestibilidade <i>in vitro</i> | 16 |
| 4.5.1. Método da Queda de pH | 16 |
| 4.5.2. Método do pH Estático | 18 |

| | |
|--|----|
| 4.6. Delineamento estatístico..... | 19 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 20 |
| 5.1. Teor de proteínas..... | 20 |
| 5.2. Teor de lipídio | 23 |
| 5.3. Teor de fibra | 24 |
| 5.4. Teste de urease..... | 26 |
| 5.5. Digestibilidade <i>in vitro</i> | 27 |
| 5.5.1. Influência do lipídio no método de digestibilidade <i>in vitro</i> | 29 |
| 5.5.2 Influência da fibra no método de digestibilidade <i>in vitro</i> | 34 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 39 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 41 |
| ANEXOS | 51 |

LISTA DE TABELAS

| | Página |
|--|--------|
| 1. Teores de proteínas das amostras analisadas..... | 21 |
| 2. Teores de lipídio das amostras analisadas | 23 |
| 3. Teores de fibra das amostras analisadas | 24 |
| 4. Teor de urease das sojas analisadas | 26 |
| 5. Valores de digestibilidade <i>in vitro</i> , calculados pela equação do método de Queda de pH e pH Estático, das amostras protéicas integrais e desengorduradas | 30 |
| 6. Valores de digestibilidade <i>in vitro</i> , calculados pela equação do método de Queda de pH, das amostras integrais e sem casca | 34 |

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| 1. Curva de digestibilidade <i>in vitro</i> elaborada a partir da queda de pH e da digestibilidade <i>in vivo</i> de todas as proteínas estudadas, exceto a caseína. Cada ponto representa a média de seis repetições (Fonte: PIRES <i>et al</i> , 2006) | 17 |
| 2. Curva de digestibilidade <i>in vitro</i> elaborada a partir da queda de pH e da digestibilidade <i>in vivo</i> das proteínas de origem vegetal. Cada ponto representa a média de seis repetições (Fonte: PIRES <i>et al</i> , 2006) | 17 |
| 3. Curva de digestibilidade <i>in vitro</i> elaborada a partir do volume de NaOH gasto para manter o pH em 8,0 e da digestibilidade <i>in vivo</i> de todas as proteínas estudadas, exceto a caseína. Cada ponto representa a média de seis repetições (Fonte: PIRES <i>et al</i> , 2006).... | 18 |
| 4. Curva de digestibilidade <i>in vitro</i> elaborada a partir do volume de NaOH gasto para manter o pH em 8,0 e da digestibilidade <i>in vivo</i> das proteínas de origem vegetal. Cada ponto representa a média de seis repetições (Fonte: PIRES <i>et al</i> , 2006) | 19 |
| 5. Valores do teor de proteína da soja UFV TN 105 e do feijão vermelho das amostras integrais e sem casca | 22 |

| | |
|--|----|
| 6. Valores do teor de fibra do feijão vermelho e da soja UFV TN 105 das amostras integrais e sem casca | 25 |
| 7. Valores de digestibilidade <i>in vitro</i> pelo Método de Queda de pH das amostras integrais e desengorduradas | 31 |
| 8. Valores de digestibilidade <i>in vitro</i> pelo Método de pH Estático das amostras integrais e desengorduradas | 31 |
| 9. Queda de pH da proteína texturizada de soja, integral e desengordurada, após a adição da solução enzimática. 0,58% de lipídio | 32 |
| 10. Queda de pH da carne de peixe, integral e desengordurada, após a adição da solução enzimática | 32 |
| 11. Queda de pH do feijão vermelho, integral e desengordurada, após a adição da solução enzimática. 1,35% de lipídio | 33 |
| 12. Queda de pH da soja UFV TN 105 KL, integral e desengordurada, após a adição da solução enzimática. 16,17% lipídio | 33 |
| 13. Queda de pH do feijão vermelho, integral e sem casca, após a adição da solução enzimática | 36 |
| 14. Queda de pH da Soja UFV TN 105, integral e sem casca, após a adição da solução enzimática | 36 |
| 15. Valores de digestibilidade <i>in vitro</i> pelo Método de Queda de pH das amostras integrais e sem casca | 37 |
| 16. Valores de digestibilidade <i>in vitro</i> pelo Método de pH Estático das amostras integrais e sem casca | 38 |

LISTA DE ANEXOS

| | Página |
|--|--------|
| Anexo – Análises de Variância | 52 |
| Tabela A – Resumo da análise de variância para proteína das fontes analisadas | 52 |
| Tabela B – Resumo da análise de variância para lipídio das fontes analisadas | 52 |
| Tabela C – Resumo da análise de variância para o método de queda de pH, das amostras integrais e desengorduradas | 52 |
| Tabela D – Resumo da análise de variância para o método de pH estático, das amostras integrais e desengorduradas | 53 |
| Tabela E – Resumo da análise de variância para o método de queda de pH, das amostras integrais e sem casca | 53 |
| Tabela F – Resumo da análise de variância para o método de pH estático, das amostras integrais e sem casca | 54 |

RESUMO

SANT'ANA, Rita de Cássia Oliveira, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2008. **Influência da extração de lipídio e da casca de diferentes fontes protéicas na digestibilidade *in vitro***. Orientadora: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Co-Orientadores: Christiano Vieira Pires, Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo e Thiago Rennó dos Mares Guia.

As proteínas são as macromoléculas mais abundantes nas células vivas tendo como principal função na dieta suprir o organismo de aminoácidos indispensáveis em quantidades adequadas para síntese e manutenção dos tecidos corporais. Desse modo, a determinação da digestibilidade protéica de um alimento é um fator importante para estimar a sua qualidade, sendo o método *in vitro* uma alternativa rápida e fácil. O presente trabalho teve como objetivo determinar a influência dos lipídios e das cascas na digestibilidade *in vitro* de proteína em fontes animal e vegetal. Foram utilizadas as seguintes fontes de proteína: aveia, carne de boi, de frango, de peixe e de porco, feijão vermelho, leite em pó, proteína texturizada de soja (PTS), quinoa e cinco variedades de soja. As proteínas de origem animal apresentaram os maiores valores de digestibilidade *in vitro* que as de origem vegetal, exceto a proteína texturizada de soja que apresentou maior digestibilidade devido ao processamento térmico sofrido. No presente trabalho, não houve diferença estatística entre o conteúdo de lipídio e a digestibilidade protéica. Desse modo

não é preciso desengordurar as amostras antes de analisar a digestibilidade *in vitro*, tornando-se ainda mais fácil a utilização desses métodos para alimentos com alto teor de lipídio em indústrias de alimentos. A fibra, presente em grande quantidade na casca dos grãos, interferiu na digestibilidade *in vitro*, fazendo-se necessário a dedução de outra equação, correlacionando a digestibilidade *in vivo* e *in vitro* de um número maior de amostras ricas em fibra, exclusiva para alimentos fibrosos, sem ter necessidade da retirada da parte rica em fibra.

ABSTRACT

SANT'ANA, Rita de Cássia Oliveira, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2008. **Influence of lipid extraction and tegument removal from different protein sources on *in vitro* digestibility.** Adviser: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Co-advisers: Christiano Vieira Pires, Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo and Thiago Rennó dos Mares Guia.

Proteins are the most abundant macromolecules in living cells. Their primary role in the diet is to supply the body with essential amino acids in adequate quantities for synthesis and maintenance of body tissues. Determination of protein digestibility of foods is an important factor to estimate their quality and the *in vitro* methodology is a quick and easy way to do it. This study aimed to determine the influence of lipids and grain tegument on the *in vitro* digestibility of protein from animal and plant origin. We used the following protein sources: oat, beef, chicken, fish and pork meats, red beans, milk powder, textured soy protein (TSP), quinoa and five soybean varieties. Proteins of animal origin had higher *in vitro* values than those of plant origin, except for textured soy protein that showed higher digestibility because of the thermal treatment. In this study, there was no statistic difference between lipid content and protein digestibility. There is, therefore, no need for sample defatting before examining the *in vitro* digestibility, which facilitates even more the use of these methods for foods with high lipid levels in food industries. Fiber was mainly found in grain teguments

and interfered with the *in vitro* digestibility, making it necessary to write another equation, correlating *in vivo* and *in vitro* digestibility of a larger number of fiber-rich samples, exclusively for fibrous food, without having to remove the fiber-rich fraction.

1. INTRODUÇÃO

As proteínas são compostos orgânicos complexos, essenciais aos organismos animal e humano, que têm sua estrutura básica formada por uma cadeia de aminoácidos que contêm carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, tendo também enxofre em alguns casos. Exercem importantes papéis no organismo humano, como carreadores de íons e moléculas, hormônios, células de defesa, fonte energética e estrutural. Fornecem ao organismo quantidades adequadas de aminoácidos para a síntese e manutenção dos tecidos corporais (HERNÁNDEZ *et al.*, 1996).

As necessidades mínimas de proteína requeridas para o crescimento e a manutenção do organismo são determinadas pela eficiência de sua utilização biológica, resultante da inter-relação entre a qualidade e a quantidade da proteína ingerida (OLIVEIRA & ANGELIS, 2001).

O aspecto qualitativo das proteínas, isto é, o seu valor nutricional, depende da composição, digestibilidade, biodisponibilidade de aminoácidos indispensáveis, fonte, efeitos do processamento e presença ou ausência de toxicidade e fatores anti-nutricionais (FRIEDMAN, 1996). Além desses fatores é de suma importância considerar composição e adequação da dieta como um todo e do estado fisiológico do indivíduo que a recebe (HERNÁNDEZ *et al.*, 1996; FRANCESCHINI, 2002).

A digestibilidade é a medida da percentagem das proteínas que são hidrolisadas pelas enzimas digestivas e absorvidas na forma de aminoácidos

ou de qualquer outro composto nitrogenado pelo organismo (MONTEIRO *et al.*, 2004).

As técnicas de digestibilidade protéica *in vitro* baseiam-se em digerir as amostras com enzimas proteolíticas em condições padronizadas, diferindo entre elas apenas o número e a natureza das enzimas a serem utilizadas e a medida final a serem realizadas. Duas dessas técnicas, queda de pH e pH estático, são utilizadas por serem métodos mais baratos, requerer menos tempo e necessitar de menos mão-de-obra e espaço físico (PIRES *et al.*, 2006).

A determinação da digestibilidade *in vitro* permite que as análises sejam realizadas em um laboratório simples, necessitando apenas de um banho-maria, um pHmetro e um “freezer” para armazenamento das amostras e das enzimas. Além disso, gasta-se pequena fração da fonte de proteína, ao contrário do que acontece em ensaios *in vivo*, em que é preciso muito material para o preparo das dietas e maior tempo de experimentação. Por meio dessa técnica evita-se também trabalhar com ratos. (PIRES *et al.*, 2006)

Sendo assim, os métodos de digestibilidade *in vitro* são uma possibilidade para a utilização pelas indústrias de alimentos, que atualmente vêm desenvolvendo suplementos protéicos para fins específicos, desde que sejam devidamente respeitados todos os critérios adequados para a utilização desse parâmetro bioquímico.

O presente trabalho teve como objetivo determinar a digestibilidade *in vitro* de proteína em fontes animal e vegetal, integrais e desengorduradas, e em fontes vegetal integral e sem casca, verificando assim se lipídios e fibras interferem na digestibilidade *in vitro* e conseqüentemente no ajuste matemático que correlaciona a digestibilidade *in vivo* com a digestibilidade *in vitro*. Este ajuste matemático é essencial para que as análises de digestibilidade protéica em alimentos possam ser realizados somente *in vitro* produzindo um resultado que permita correlacionar a atividade *in vitro* com a *in vivo*, sem necessidade de realizar experimento de determinação da digestibilidade *in vivo*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Valor nutricional de Proteínas

As proteínas também são chamadas de protídeos. O termo vem do grego e significa “a primeira” ou “a mais importante”. Assim, as proteínas foram os primeiros nutrientes a serem considerados essenciais para o organismo (NELSON & COX, 2004).

Além de servirem de combustível para o crescimento e desenvolvimento do organismo, quando ingeridas em altas quantidades, as proteínas levam ao fornecimento de energia. Além disso, as proteínas desempenham muitas outras funções. Dentre elas, podemos citar a função de regulação do metabolismo, de transporte de nutrientes, de atuação como catalisadores naturais, de defesa imunológica, de atuação como receptores de membranas, além de muitas outras. (WHO, 2003)

Alguns aminoácidos podem ser sintetizados no organismo a partir de precursores, sendo estes classificados como aminoácidos dispensáveis Alanina, Aspartato, Glutamato, Glicina, Prolina, Serina, Tirosina e Cisteína. No entanto, outros aminoácidos não conseguem ser sintetizados no organismo em quantidades suficientes, os quais são chamados de aminoácidos

indispensáveis e devem ser fornecidos pela alimentação (ANGELIS, 1999). Os aminoácidos indispensáveis são: Treonina, Triptofano, Histidina, Lisina, Leucina, Isoleucina, Metionina, Valina e Fenilalanina. A falta desses aminoácidos no organismo ocasiona alterações nos processos bioquímicos e fisiológicos e na síntese protéica, resultando em balanço nitrogenado negativo. Em crianças provoca diminuição do crescimento, perda de peso e profundas alterações bioquímicas (ANGELIS, 1999).

As proteínas de origem vegetal constituem a principal fonte de proteína humana, especialmente em países em desenvolvimento, pois as de origem animal são, geralmente, de custo mais elevado (CRUZ *et al.*, 2004; WONG & CHEUNG, 2001). Dentre os vegetais, as leguminosas constituem uma boa alternativa de proteínas e carboidratos, sendo um dos principais suprimentos protéicos em áreas onde fontes de proteína animal são escassas ou caras (ESTEVES *et al.*, 2002).

O feijão representa a principal fonte de proteínas das populações de baixa renda e constitui um produto de destacada importância nutricional, econômica e social. Além de ser um dos alimentos mais tradicionais na dieta alimentar do brasileiro. Portanto, como alimento básico e sob o ponto de vista quantitativo, o feijão é considerado um alimento protéico, embora, seu conteúdo calórico, mineral e vitamínico não possa ser desprezado. O valor nutritivo da proteína do feijão é baixo quando utilizado como única fonte protéica, entretanto, quando combinado com arroz, por exemplo, forma uma mistura de proteínas mais nutritiva. Isto porque, o feijão é pobre em aminoácidos sulfurados, e rico em lisina; e o arroz é pobre em lisina e relativamente rico em aminoácidos sulfurados (MESQUITA *et al.*, 2007).

O grão de soja, por ser um vegetal com elevados teores de proteína e energia, constitui boa alternativa de alimento protéico, apresentando cerca de 17 a 18% de óleo e 35 a 37% de proteína bruta de elevado valor biológico, com composição em aminoácidos indispensáveis favorável à alimentação, mas deficiente em metionina e treonina (BELLAVAR *et al.*, 2002).

O conceito de necessidades de proteínas e aminoácidos tem sido objeto de muitas discussões e vem sofrendo modificações ao longo do tempo. De acordo com ANGELIS (1999), a necessidade protéica é a quantidade que deve ser ingerida em determinado período de tempo para contrabalançar os gastos

orgânicos nesse período.

Com base nas DRIs de 2002, a ingestão diária de proteína deve variar de 0,8 a 1,0g por quilograma de peso por dia, para manutenção do balanço energético igual a zero, assegurando assim as funções vitais desempenhadas por esses macronutrientes. Esta recomendação varia em fases especiais da vida como infância e adolescência, gestação, lactação e em casos de patologias em que há o aumento das perdas deste nutriente. Portanto, seu consumo diário deve ser ajustado de acordo com as necessidades dos indivíduos. (WHO, 2003)

2.2. Digestibilidade

A digestibilidade é a medida da percentagem das proteínas que são hidrolisadas pelas enzimas digestivas e absorvidas na forma de aminoácidos ou de qualquer outro composto nitrogenado pelo organismo (MONTEIRO *et al.*, 2004).

Digestibilidade protéica é um parâmetro nutricional que avalia o aproveitamento de uma fonte protéica, podendo ser influenciada por vários fatores, como, por exemplo, compostos fenólicos, inibidores de proteína e tratamento térmico (MESQUITA *et al.*, 2007). Sendo assim, a digestibilidade da proteína se torna uma condicional da qualidade protéica, pois um dado aminoácido pode estar presente na proteína, mas não estar necessariamente disponível para o organismo. Assim, proteínas não podem ser utilizadas pelo organismo sem serem digeridas (PIRES *et al.*, 2006). Sendo assim, podemos afirmar que uma proteína com baixa digestibilidade possui baixa qualidade protéica.

VARGAS *et al.* (1984) citaram que as proteínas de origem vegetal, especialmente das leguminosas, apresentam digestibilidade muito baixa, da ordem de 50 a 70%. Acrescentaram ainda que a baixa digestibilidade do nitrogênio constitui um dos principais fatores que limitam a utilização da proteína de dietas de origem vegetal, em particular as que incluem leguminosas. A baixa digestibilidade no feijão cru, por exemplo, é atribuída à atividade dos inibidores de proteases, que diminuem a atividade das enzimas digestivas (MESQUITA *et al.*, 2007). E devido à presença de fatores

antinutricionais, a soja *in natura* não deve ser utilizada na alimentação sem que seja adequadamente processada (MENDES *et al*, 2004).

Vários fatores têm sido identificados por interferirem na digestibilidade, dentre estes incluem a presença de componentes biologicamente ativos, tratamento térmico e estrutura química da proteína. Esses fatores afetam a digestibilidade da proteína diminuindo a sua hidrólise, tornando os aminoácidos menos disponíveis para serem absorvidos pelo organismo (LIU, 1995).

A presença de compostos inerentes ao próprio alimento, por exemplo, fatores antinutricionais, como inibidores de proteases (tripsina e quimotripsina), ácido fítico, taninos ou fatores externos, como processamento e armazenamento, entre os quais se destacam o tipo e a forma de tratamento térmico aplicado, assim como o tempo e a forma de armazenamento, podem levar a uma diminuição da qualidade nutricional (VARGAS *et al.*, 1984). Muitos desses compostos, presentes em alimentos originários de leguminosas, têm mostrado causar efeitos bioquímicos e fisiológicos tanto no pâncreas quanto no crescimento de animais (GUEN e BIRK, 1993; YADAV; KHETARPAUL, 1994).

Segundo TORRE *et al.* (1991), sob condições fisiológicas, o ácido fítico é fortemente ionizado e capaz de interagir extensivamente com proteínas e íons metálicos. Muitos desses complexos são insolúveis e biologicamente indisponíveis para seres humanos em condições fisiológicas normais.

Os taninos (fenóis condensados) são considerados potentes inibidores de enzimas devido à sua complexação com enzimas (NACZK *et al.*, 1994). A grande tendência dos taninos em formar complexos com proteínas em vez de carboidratos e outros polímeros pode explicar a baixa digestibilidade das proteínas das leguminosas, inibição do crescimento e aumento da excreção de nitrogênio fecal em animais (KAUR e KAPOOR, 1992).

O valor nutricional das proteínas é aumentado pelo processamento térmico moderado, especialmente pelo calor úmido. O processamento hidrotérmico apresenta dois pontos positivos quanto ao aproveitamento da proteína de origem vegetal pelos animais. Além de eliminar fatores antinutricionais termolábeis, provoca a ruptura de sua parede celular, liberando a proteína complexada ou enclausurada, responsável pelo baixo aproveitamento protéico (MENDES *et al*, 2004). Além disso, o aumento do valor nutricional pode ser resultante de maior acessibilidade das proteínas ao

ataque enzimático, devido à desnaturação térmica. O processo térmico deve garantir suficiente inativação dos fatores antinutricionais e prevenir a degradação de aminoácidos indispensáveis (POEL *et al.*, 1990).

Entretanto, o tratamento térmico em excesso pode diminuir o valor nutricional das proteínas ou até levar à perda da função biológica, por promover ligações não usuais entre aminoácidos (como ligação entre duas lisinas) e entre aminoácidos e outros compostos dos alimentos (como lisina e açúcares redutores – Reação de Maillard). Estas ligações não usuais dos aminoácidos os tornam indisponíveis para utilização pelo organismo (ARAÚJO, 2006). Embora em algum aspecto essa desnaturação possa ser desejável, como no caso de inativação de enzimas deletérias, esse fato pode representar um problema do ponto de vista nutricional (MENDES *et al.*, 2004).

2.3. Digestibilidade *in vitro*

Todos os métodos de determinação de digestibilidade *in vitro* se baseiam em digerir a amostra com enzimas proteolíticas em condições padronizadas. A diferença está entre o número e a natureza das enzimas que se utilizam e a medida final a ser realizada. Os métodos podem ser subdivididos em métodos monoenzimáticos, métodos multienzimáticos e métodos baseados na simulação de sistemas digestivos (PIRES *et al.*, 2005).

A técnica de digestibilidade *in vitro* simula as condições fisiológicas da digestão. Sendo assim, é necessário que cada etapa da operação seja representativa, o mais fiel possível, do processo digestivo para que os resultados sejam confiáveis (OLIVEIRA *et al.*, 1993).

O método desenvolvido por MAURON *et al.* (1955) é adaptado como método oficial pela AOAC (1975) para determinar a digestibilidade de proteínas alimentares de origem animal. Baseia-se em digerir a amostra com pepsina e determinar a porcentagem de nitrogênio solubilizado. O método tem sofrido numerosas modificações devido à sua baixa correlação com os ensaios biológicos.

AKESON e STACHMAN (1964) trabalharam com um método em que as amostras de proteína são incubadas primeiramente com pepsina e, depois, com pancreatina em tampão-fosfato. O resíduo é separado por filtração e o seu

conteúdo de nitrogênio, analisado. BÜCHMANN (1979) modificou o método para a sua aplicação em amostras de cevada e outros cereais. Uma vez realizada a digestão enzimática, precipitam-se as proteínas com ácido tricloroacético, sendo o nitrogênio determinado no sobrenadante.

Outro método utilizado é o que foi proposto por SAUNDERS *et al.* (1973), em que a amostra protéica é inicialmente incubada com pepsina em pH ácido (1,0 – 1,5) a 37 °C e deixada agir nessas condições durante 2 h. A suspensão ou solução de enzima e amostra são mantidas em banho termostaticado e em constante agitação leve. Após 2 h de incubação, o pH da suspensão ou solução é elevado a 8,0 com solução de hidróxido de sódio, adicionando-se, em seguida, pancreatina em solução-tampão de fosfato de sódio, pH 8,0. A relação entre enzima/proteína é da ordem de 1:10 para pepsina e 1:5 para pancreatina. A pancreatina é deixada agir sobre a amostra durante 24 h a 37 °C, pH 8,0, e sob agitação. Ao final desse tempo, a reação é bloqueada pela adição de uma solução de ácido tricloroacético (TCA) para dar uma concentração final de TCA na mistura de 5% (p/v). O TCA precipita a fração não digerida da proteína e, por filtração ou centrifugação, separa-se a fração solúvel em TCA, que irá conter os aminoácidos ou peptídeos de baixo peso molecular liberados durante a digestão enzimática ou proteólise. Essa fração conterá aminoácidos existentes na amostra antes da digestão enzimática e poderá ser subtraída da fração total. O nitrogênio é determinado pelo método de Kjeldahl, na amostra inicial e na fração digerida, após a precipitação com ácido tricloroacético (TCA) da proteína digerida.

HSU *et al.* (1977), baseando-se na observação de MAGA *et al.* (1973), que usava a enzima tripsina para a digestão das proteínas *in vitro* e media a velocidade inicial de proteólise como indicador da digestibilidade, desenvolveram um método rápido e sensível, onde foi utilizada uma solução multienzimática (tripsina, quimotripsina e peptidase) para determinar a digestibilidade de proteínas. A diminuição de pH após 10 min de digestão com a solução multienzimática foi comparada à digestibilidade *in vivo* aparente em ratos e a equação de regressão obtida permitiu prever a digestibilidade. O método foi capaz de detectar o efeito de inibidores de tripsina e tratamento térmico sobre a digestibilidade.

PIRES *et al.* (2006) adaptaram metodologias descritas por HSU *et al.* (1977) (Método de queda de pH 1), SATERLEE *et al.* (1979) (Método de queda de pH 2), ambas baseadas na queda de pH quando as proteínas são hidrolisadas, e CRUZ *et al.* (2005) (Método de pH estático), baseado na manutenção do pH em 8,0 à medida que a reação de hidrólise protéica acontece. PIRES *et al.* (2006) utilizaram uma solução enzimática contendo as enzimas tripsina e pancreatina e correlacionaram o valor do pH ao final de 10 minutos (Método 1) e 20 minutos (Método 2) com a digestibilidade verdadeira obtida *in vivo*, obtendo equações que correlacionam a digestibilidade com o pH final. Para o Método 3, a digestibilidade verdadeira *in vivo* foi correlacionada com o volume de NaOH necessário para manter o pH da solução de proteínas em 8,0 após a adição da solução enzimática.

Dos três métodos testados por PIRES *et al.* (2006), o método da queda do pH após 10 min apresentou as melhores equações, que correlacionam digestibilidade com queda de pH, para se trabalhar com todas as fontes protéicas, exceto a caseína, e proteínas de origem vegetal. Obteve-se valores de R² de 79,04% para a equação destinada a todas as fontes protéicas (%D = -230,65pH² + 3270,9pH - 11505) e R² de 81,78% para a equação destinada à proteínas de origem vegetal (%D = -122,53pH² + 1725,3pH - 5986,7). No método do pH estático, a melhor equação foi obtida quando se trabalhou com todas as proteínas, exceto a caseína com R² de 83,78% (%D = -1,4048x² + 11,573x + 68,524). Já, quando se trabalhou somente com proteínas de origem vegetal, obteve-se o menor ajuste com um R² de 43,29% (%D = -8,4115x² + 36,696x + 46,192), sendo então esta equação não representativa.

2.4. Fibra e Lipídio

A fibra alimentar, presente em alimentos de origem vegetal, é formada principalmente de celulose, hemicelulose, pectinas, gomas e lignina. São carboidratos complexos, não absorvidos pelo intestino, com ação reguladora na função gastrointestinal, (SELVENDRAN, 1984).

As fibras são classificadas, de acordo com sua solubilidade em água, em solúveis e insolúveis. As fibras solúveis são representadas pela pectina (frutas) e pelas gomas (aveia, cevada e leguminosas: feijão, grão de bico,

lentilha e ervilha), reduzem o tempo de trânsito gastrointestinal e ajudam na eliminação do colesterol. As fibras insolúveis não atuam sobre a colesterolemia, mas aumentam a saciedade, auxiliando na redução da ingestão calórica. São representadas pela celulose (trigo), hemicelulose (grãos) e lignina (hortaliças), (III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

Segundo KRITCHEVSKY (1988), a fibra pode modificar e diminuir a digestibilidade das proteínas, por aumentar a excreção de nitrogênio. No intestino, a fibra alimentar altera o metabolismo bacteriano e, como consequência, o metabolismo de nitrogênio é modificado (MASON, 1984).

Um estudo feito por RAUP e SGARBIERI (1996) mostrou que a associação de proteínas com fibras, que foram tratadas termicamente, pode estar relacionada à baixa digestibilidade das proteínas de feijão cozido e à tendência das proteínas de feijão de formarem complexos indigeríveis, o que explicaria a reduzida digestibilidade dessas proteínas

Outros estudos confirmam que o conteúdo de fibra alimentar pode ocasionar uma mistura inadequada do conteúdo intestinal e impedir o acesso de enzimas digestivas, comprovando-se que o conteúdo de fibras no alimento se comporta como fator antinutricional que reduz a digestibilidade de amido e proteínas (EASTWOOD, 1992; MELITO; TOVAR, 1995; LOPEZ *et al.*, 1997). Contudo, em um estudo feito por CRUZ *et al* (2004) não foi encontrada correlação entre o conteúdo de fibras e a digestibilidade protéica, indicando que mesmo com um alto conteúdo de fibras em feijões analisados, observou-se também valores altos para a digestibilidade, não havendo portanto, prejuízo na digestibilidade da proteína.

Os lipídios são moléculas importantes no metabolismo corporal como um todo, e têm diversas funções no organismo. As espécies moleculares de lipídios presentes no plasma, mais importantes do ponto de vista fisiológico e clínico, são os ácidos graxos, os triacilgliceróis, os fosfoglicerídeos e o colesterol. Os ácidos graxos podem ser saturados, mono ou poliinsaturados. Nos animais, os resíduos de ácidos graxos predominantes são os que têm cadeia com 16 e com 18 átomos de carbono – o palmítico e o esteárico, que são saturados, o oléico e o linoléico, que são insaturados. Os triacilgliceróis são a forma de armazenamento energético mais importante no organismo,

constituindo depósitos no tecido adiposo e muscular. Os fosfolípidos têm, entre outras, a função primordial de formar a bicamada que é a estrutura básica das membranas celulares. O colesterol é precursor dos hormônios esteróides, dos ácidos biliares, da vitamina D, além de ter importantes funções nas membranas celulares, influenciando na sua fluidez e no estado de ativação de enzimas ligadas a membranas. No entanto, em excesso, os lipídios estão envolvidos no desenvolvimento de doenças cardiovasculares sendo julgados como responsáveis pelo desenvolvimento de doenças cardíacas (III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

Os lipídios desempenham um importante papel no que respeita à qualidade de certos produtos alimentares, particularmente em relação às propriedades organolépticas que os tornam desejáveis (*e.g. flavor, cor, textura*). Por outro lado, conferem valor nutritivo aos alimentos, constituindo uma fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais (*e.g. ácidos linoléico, linolênico e araquidônico*) e de vitaminas lipossolúveis A, D, E e K (SILVA *et al*, 1999).

A principal utilização da soja, no Brasil, é como matéria-prima para a indústria de esmagamento, que produz óleo bruto ou degomado e farelo. O lipídeo é utilizado como matéria-prima para a indústria alimentícia (óleo refinado, gorduras hidrogenadas, margarinas, etc) e o farelo é principalmente utilizado na indústria de rações. O lipídio de soja é o líder mundial dos óleos vegetais representando entre 20 e 24% de todos os óleos e gorduras consumidas no mundo (MOREIRA, 1999).

O óleo de soja é obtido dos grãos da soja e seu emprego apresenta muitas vantagens, tais como: alto conteúdo de ácidos graxos essenciais; formação de cristais grandes, que são facilmente filtráveis quando o óleo é hidrogenado e fracionado; alto índice de iodo, que permite a sua hidrogenação produzindo grande variedade de gorduras plásticas, e refino com baixas perdas (POUZET, 1996).

Em estudo feito por JEWELL *et al.*(1980), observou-se que a carne bovina magra apresenta digestibilidade de 92% e com teor de gordura apresenta 91%. De acordo com esses dados verifica-se que os lipídios não interferiram na digestibilidade protéica da carne bovina.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo determinar a influência dos lipídios e das cascas na digestibilidade *in vitro* de proteína em fontes animal e vegetal.

3.2. Objetivos Específicos

- Determinar a digestibilidade *in vitro* de proteínas de diferentes fontes protéicas, desengorduradas e sem casca no caso dos grãos.
- Determinar a fração lipídica das amostras a fim de avaliar sua influência no método de digestibilidade *in vitro* de proteínas.
- Avaliar o efeito da fibra, contida na casca dos grãos, no método de digestibilidade *in vitro* de proteínas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Enzimologia, Bioquímica de Proteínas e Peptídeos do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e do Laboratório do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

Foram utilizadas as seguintes fontes de proteína: aveia, carne de boi, carne de frango, carne de peixe, carne de porco, feijão vermelho, leite em pó, proteína texturizada de soja (PTS), quinoa (cereal que é uma alternativa protéica de qualidade e é isenta de glúten) soja IAC 17 (resistente ao ataque do inseto *Anticarsia gemmatilis*), soja IAC 24 (resistente ao ataque do inseto *Anticarsia gemmatilis*), soja IAC PL-1 (convencional), soja UFV TN 105 (isenta de lipoxigenase) e soja UFV TN 105 KL (isenta de lipoxigenase e inibidor de tripsina kunitz).

As sojas IAC 17 e IAC 24 foram fornecidas pelo Dr. André Luiz Lourenção do Instituto Agronômico de Campinas.

4.1. Preparo das amostras

Foram utilizados aveia e leite em pó comercial. As carnes de boi (acém moída), de frango (peito de frango sem pele), de peixe (filé de Merluza) e de porco (pernil sem gordura aparente) foram cozidas com água em panelas domésticas, na proporção de 1:1 (p/v), até secar a água. Após o cozimento, as

carnes foram congeladas à -80°C , desidratadas em liofilizador por 24 horas e moídas em multiprocessador doméstico Arno.

Para obtenção da farinha de feijão e quinoa cozido, inicialmente foi realizada uma seleção manual dos grãos para eliminação de impurezas e sujidades. Posteriormente, os grãos foram limpos e cocionados em água, na proporção de 1:1,5 (p/v), em panela de pressão doméstica, durante 40 minutos. Após o cozimento, foram secados em estufa de ar circulante ($6\text{h}/105^{\circ}\text{C}$), sendo, em seguida, moídos em multiprocessador doméstico, utilizando-se peneiras de 20 mesh.

A proteína texturizada de soja (PTS), adquirida no comércio de Viçosa, MG, e a quinoa foram moídas em multiprocessador doméstico Arno para a obtenção de farinha. As sojas IAC 17 (resistente ao ataque do inseto *Anticarsia gemmatalis*), IAC 24 (resistente ao ataque do inseto *Anticarsia gemmatalis*), IAC PL-1 (convencional), UFV TN 105 (isenta de lipoxigenase), UFV TN 105 KL (isenta de lipoxigenase e inibidor de tripsina kunitz) e soja sem casca foram submetidas a tratamento térmico em estufa de ar circulante, com calor seco de 105°C por 6 horas, em seguida os grãos foram moídos, obtendo-se, então, uma farinha de soja.

A intensidade do tratamento térmico é avaliada através da inativação da enzima urease, sendo que faixa na qual se considera um processamento adequado varia de 0,05 a 0,20. Sendo assim, pesou-se 0,2g da amostra em um tubo de ensaio. Em seguida o tubo foi tampado e colocado em banho-maria a 30°C . A cada 2 minutos foi adicionado aos tubos 10 mL de uma solução tampão de uréia (15g de uréia dissolvida em 500 mL de solução tampão fosfato 0,05 M pH 7,0 e ajustou o pH para 7,0). O branco foi preparado com 0,2g de amostra e 10mL da solução tampão fosfato 0,05M. Com o tubo fechado a cada 5 minutos eram agitados. Passados 30 minutos, o conteúdo dos tubos foi transferido para béqueres e o pH medido em potenciômetro devidamente equilibrado. A determinação do pH entre os tubos testes e o branco foi de no mínimo 2 minutos. Entre as determinações de pH o eletrodo foi lavado com solução de HCl 0,1N para remover uma possível camada de proteína aderida á superfície do vidro. (CARDOSO *et al*, 2007)

4.2. Determinação do teor de proteínas

O teor de nitrogênio foi determinado pelo método semimicro Kjeldhal, segundo AOAC (1995). No cálculo de conversão do nitrogênio em proteínas foi utilizado o fator 6,25.

4.3. Extração de gordura das amostras

As amostras foram desengorduradas utilizando o método intermitente de Soxhlet, (AOAC, 1984). O método baseia-se na extração da fração lipídica com éter de petróleo. Após a extração e remoção do solvente, determinou-se gravimetricamente a quantidade de lipídios presente, sendo armazenada a amostra desengordurada.

Para o leite em pó, não é possível obter amostras desengorduradas pelo método intermitente de Soxhlet, pois a ligação das proteínas com lipídios, formando micelas durante o processamento, impede a retirada de todo o teor de lipídios. Por essa razão foram adquiridas no mercado amostras de leite integral e desnatado. O teor de lipídios no leite em pó integral foi determinado com o uso do butirômetro de Teichert, conforme descrito por SILVA *et al.* (1997). O método se baseia na separação e quantificação da gordura por meio do tratamento de 2,5 g de amostra, após completa dissolução em 10 mL água, com 10 mL de ácido sulfúrico e 1 mL de álcool isoamílico. O ácido dissolve as proteínas que envolvem os glóbulos de gordura, liberando-a. A liberação de calor funde a gordura, o que favorece sua separação pelo extrator (álcool isoamílico). A leitura é feita diretamente na escala graduada do butirômetro após centrifugação e imersão em banho-maria.

4.4. Determinação do teor de fibra e retirada da casca das amostras

A determinação do teor de fibra total, do feijão vermelho e da soja UFV TN 105, foi realizada pelo Método Enzimático – Gravimétrico descrito pela AOAC (1997). As amostras a serem analisadas não devem conter mais que 2% de lipídios, sendo assim foi necessário fazer uma extração destes, com éter de petróleo, das amostras de soja UFV TN 105 com e sem casca.

A casca das amostras, onde está a maior concentração de fibra, foi retirada seguindo a metodologia descrita por CRUZ et al (2004). Os grãos selecionados foram lavados e aquecidos a 55°C por 3 minutos para ligeira perda de água do cotilédono, encolhendo-o, facilitando o desprendimento da casca. Em seguida, as cascas foram retiradas manualmente, grão a grão. As cascas foram descartadas e os grãos sofreram tratamento térmico (105°C por 6 horas) em estufa de ar circulante.

4.5. Digestibilidade *in vitro*

Para a determinação da digestibilidade *in vitro*, foram analisados dois métodos por ensaio, utilizando-se um sistema enzimático contendo as enzimas tripsina e pancreatina.

A solução enzimática contendo 2,5 mg de tripsina e 1,6 mg de pancreatina (mistura das enzimas amilase, tripsina, lipase, ribonuclease e outras proteases) por mL de solução foi preparada antes de cada série de testes e mantida em banho de gelo. Essa solução foi usada para os dois métodos.

Para avaliação da digestibilidade *in vitro*, utilizaram-se as equações obtidas por PIRES *et al* (2006), sendo elas diferenciadas para fontes protéicas animais, vegetais ou as duas associadas.

4.5.1. Método de Queda de pH

O pH de 50 mL da suspensão protéica em água destilada (contendo 6,25 mg de proteína/mL) foi ajustado para pH 8, sob agitação, em banho-maria a 37°C. Cinco mililitros da solução enzimática foram adicionados à suspensão protéica mantida em banho-maria a 37°C. A queda do pH foi determinada após a adição da solução enzimática por um período de 10 minutos (descrito por HSU et al., 1977, com modificações de PIRES et al., 2006).

Para verificar a influência do lipídio no método da queda de pH, utilizou-se a equação, descritas por PIRES *et al* (2006), para proteína de origem animal e vegetal, exceto a caseína, como mostra a figura a seguir:

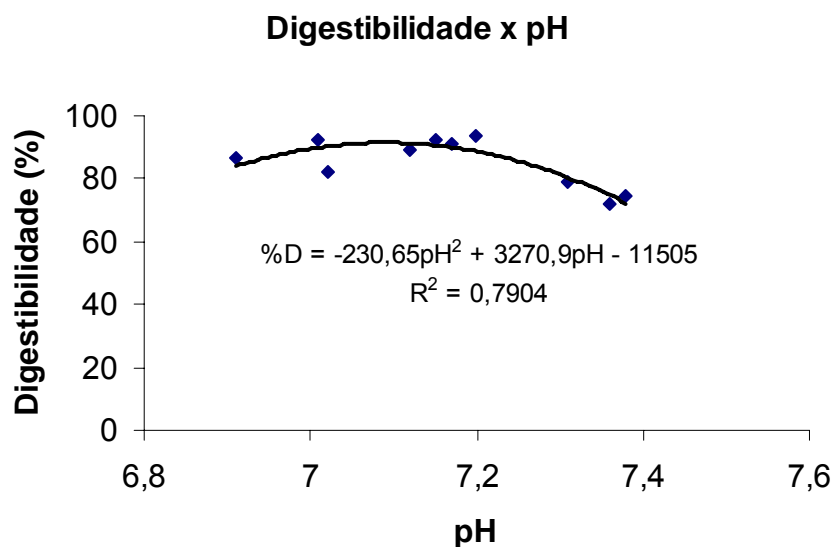


Figura 1 – Curva de digestibilidade *in vitro* elaborada a partir da queda de pH e da digestibilidade *in vivo* de todas as proteínas estudadas, exceto a caseína. Cada ponto representa a média de seis repetições (Fonte: PIRES *et al*, 2006).

Para determinar a influência da fibra no método de Queda de pH, utilizou-se a equação para proteína de origem vegetal, segundo PIRES *et al* (2006):

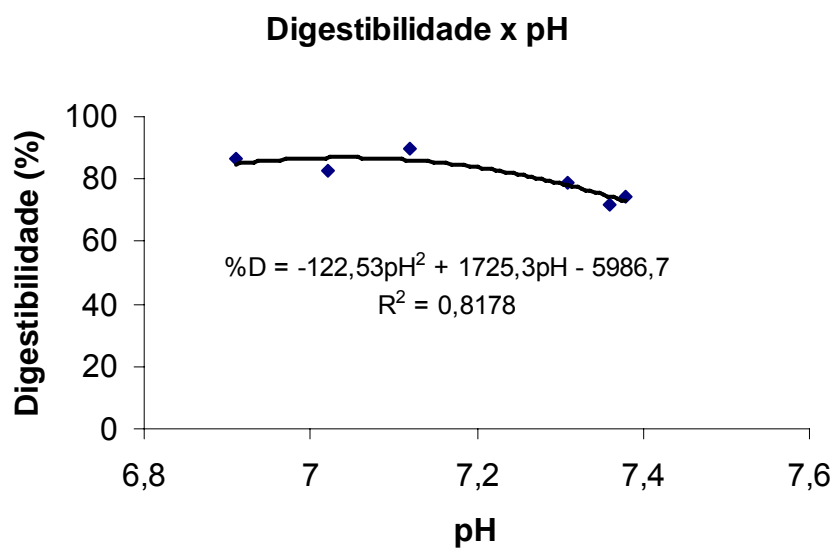


Figura 2 – Curva de digestibilidade *in vitro* elaborada a partir da queda de pH e da digestibilidade *in vivo* das proteínas de origem vegetal. Cada ponto representa a média de seis repetições (Fonte: PIRES *et al*, 2006).

4.5.2. Método de pH Estático

O pH de 50 mL da suspensão protéica em água destilada (contendo 6,25 mg de proteína/mL) foi ajustado para pH 8, sob agitação, em banho-maria a 37°C. Cinco mililitros da solução enzimática foram adicionados à suspensão protéica mantida em banho-maria a 37°C. Em seguida foi adicionado NaOH 0,1N, em quantidade suficiente para manter o pH em 8,0, independentemente do tempo de 10 min, desde que a queda de pH não varie mais do que 0,03 unidades em 1 min. O fator 0,03 foi obtido pela hidrólise da caseína, durante a queda do pH, entre o tempo de 9 a 10 min, pois a partir desse ponto a diferença de pH é muito pequena, não sendo, portanto, significativa (CRUZ, 2003). Posteriormente, o volume de NaOH gasto durante o teste foi determinado (descrito por CRUZ *et al.*, 2003, com modificações de PIRES *et al.*, 2006).

Para verificar a influência do lipídio no método do pH estático, utilizou-se a equação, descrita por PIRES *et al.* (2006), para proteína de origem animal e vegetal, como mostra a figura abaixo:

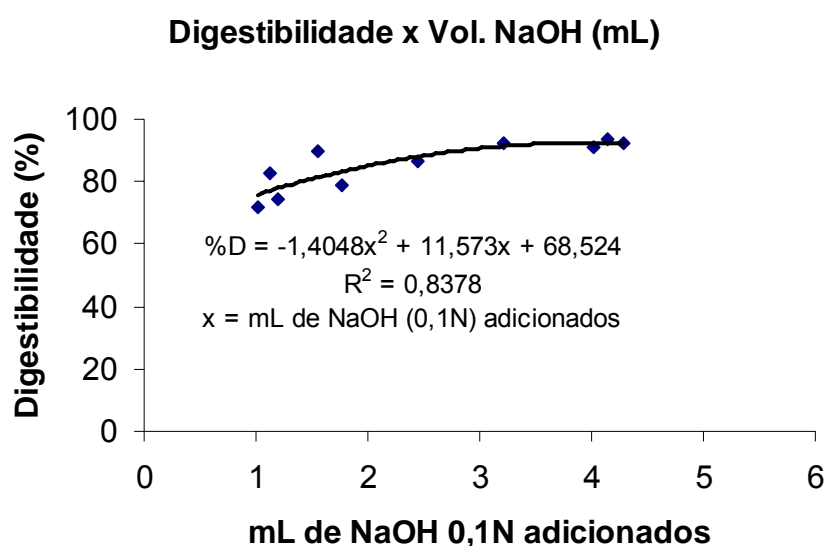


Figura 3 – Curva de digestibilidade *in vitro* elaborada a partir do volume de NaOH gasto para manter o pH em 8,0 e da digestibilidade *in vivo* de todas as proteínas estudadas, exceto a caseína. Cada ponto representa a média de seis repetições (Fonte: PIRES *et al.*, 2006).

A determinação da influência da fibra no método de pH Estático não foi avaliada devido ao fato da equação desse método para vegetais ter uma correlação ($R^2 = 0,4329$) muito baixa com o ensaio *in vivo*.

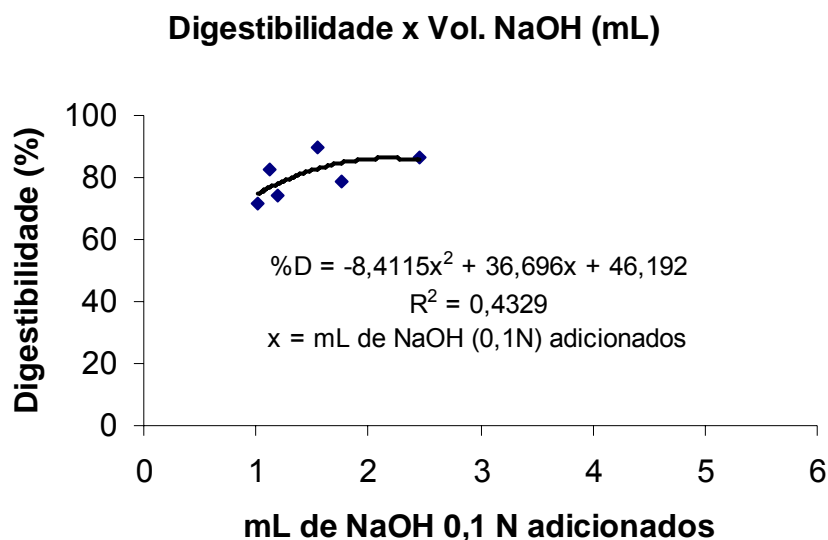


Figura 4 – Curva de digestibilidade *in vitro* elaborada a partir do volume de NaOH gasto para manter o pH em 8,0 e da digestibilidade *in vivo* das proteínas de origem vegetal. Cada ponto representa a média de seis repetições (Fonte: PIRES *et al*, 2006).

4.6. Delineamento estatístico

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 1%, para a determinação do valor de F. Para valores significativos, utilizou-se o teste de Tukey a 1% de probabilidade, para comparação entre as médias. As análises estatísticas foram processadas com auxílio do software Saeg 9.1 (Euclides, 1983).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Teor de proteínas

O teor de proteínas, calculado a partir de base úmida, nas amostras estudadas está representado na Tabela 1. A carne de boi, de frango e de porco foram as que tiveram o maior teor de proteínas, não diferindo entre si ($p > 0,01$), seguida da carne de peixe (70,78%) e PTS (52,12%), que diferiram entre si ($p < 0,01$).

As sojas IAC PL-1 (45,21%), IAC 17 (44,40%), IAC 24 (44,06%) e UFV TN 105 KL (41,84%) exibiram valores de proteína iguais em nível de 1% de probabilidade, exibindo, entretanto, diferença ($p < 0,01$) da soja UFV TN 105 (36,12%) e da soja UFV TN 105 sem casca (41,40%). Feijão vermelho sem casca (25,44%), leite em pó integral (24,77%) e feijão vermelho (23,40%) também não apresentaram diferença entre si ($p > 0,01$).

Segundo NEVES *et al* (2006), as sementes de leguminosas utilizadas na alimentação contêm cerca de 20% a 30% de proteína, exceto a soja e tremoço (*Lupinus* - uma das mais ricas fontes de proteínas entre as sementes de leguminosas) que apresentam maiores teores. Essas afirmações são ratificadas com os resultados desse trabalho, onde a digestibilidade do feijão teve média de 24,42% e da soja de 42,17%.

Em literaturas especializadas, a porcentagem de proteínas no feijão varia entre 16 e 33% para os diversos tipos de feijão, sendo influenciada pela

expressão genética, vigor da planta, maturação, tamanho dos grãos, fatores ambientais e condições de armazenamento (OSBORN, 1988; ANTUNES e SGARBIERI, 1979). MESQUITA *et al* (2007) afirma que o feijão é um excelente alimento, fornecendo nutrientes essenciais ao ser humano, como proteínas, ferro, cálcio, magnésio, zinco, vitaminas (principalmente do complexo B), carboidratos e fibras. Portanto, como alimento básico e sob o ponto de vista quantitativo, o feijão é considerado um alimento protéico, embora, seu conteúdo calórico, mineral e vitamínico não possa ser desprezado.

Tabela 1 – Teores de proteínas das amostras secas analisadas

| Amostras | Proteínas (g/100 g) |
|------------------------------------|----------------------|
| Aveia | 18,13 ^h |
| Quinoa | 12,93 ⁱ |
| Carne de Boi | 75,20 ^a |
| Carne de Frango | 75,04 ^a |
| Carne de Peixe | 70,78 ^b |
| Carne de Porco | 72,27 ^{a,b} |
| Leite em pó desnatado | 32,94 ^f |
| Leite em pó integral | 24,77 ^g |
| Feijão vermelho | 23,40 ^g |
| Feijão vermelho sem casca | 25,44 ^g |
| Proteína Texturizada de Soja (PTS) | 52,12 ^c |
| Soja IAC 17 | 44,40 ^{d,e} |
| Soja IAC 24 | 44,06 ^{d,e} |
| Soja IAC PL-1 | 45,21 ^d |
| Soja UFV TN 105 | 36,12 ^f |
| Soja UFV TN 105 KL | 41,84 ^{d,e} |
| Soja UFV TN 105 sem casca | 41,40 ^e |

Os resultados são médias de triplicatas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

Estudos feitos por PIRES *et al* (2006) e MONTEIRO *et al* (2004) encontraram para a soja convencional 41,85 e 39,55% de proteína,

respectivamente, e para a soja isenta de inibidor de tripsina Kunitz e de lipoxigenases, 40,0 e 42,44% de proteína, respectivamente. Os resultados desses autores confirmam os encontrados nesse trabalho, onde a soja convencional (IAC PL-1) obteve 45,21% de proteína e a soja isenta de inibidor de tripsina Kunitz e de lipoxigenases, (UFV TN 105 KL) apresentou 41,84% de proteína.

O teor de proteína do feijão vermelho integral (23,40%) e sem casca (25,44%) não apresentou diferença entre si ($p>0,01$). Ao contrário desse resultado, PEREIRA e COSTA (2002) afirmaram a existência de variação no teor protéico entre feijão integral e sem casca, onde encontraram para o feijão preto sem casca, 19,7% de proteína e para o feijão preto com casca, 22,0% de proteína. Esta variação pode ser decorrente da diferença entre os cultivares estudados, da diferença nas condições de plantio e/ou do armazenamento ou da variabilidade ao se descascar o feijão manualmente. Já a soja UFV TN 105 com casca (36,12%) e sem casca (41,40%) obteve diferença no teor de proteína.

De todas as amostras estudadas, a aveia (18,13%) e a quinoa (12,93%) foram as que apresentaram menor teor de proteínas, diferindo entre si e das demais ($p<0,01$), embora esses teores sejam mais altos do que os normalmente encontrados para outros cereais, como milho, arroz e trigo.

A Figura 5 ilustra os teores de proteína das fontes integrais e sem casca.

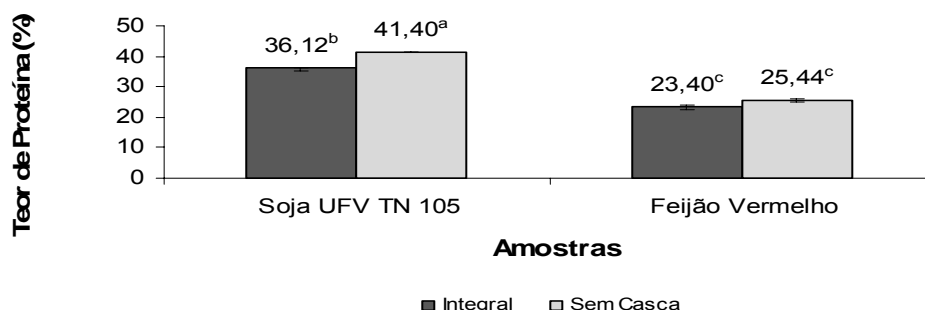


Figura 5 – Valores do teor de proteína da soja UFV TN 105 e do feijão vermelho das amostras integrais e sem casca. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

Percebe-se que as amostras com menor teor de fibra apresentaram maior teor de proteína, sendo essa diferença significativa ($p < 0,01$) apenas na soja UFV TN 105. Esse resultado mostra que na casca dos grãos há maior concentração de fibra, com baixo teor de proteína. Sendo assim, ao retirar a casca, a quantidade de proteína será praticamente a mesma, porém em uma menor massa do grão, explicando assim o aumento na porcentagem protéica nas amostras sem casca de soja UFV TN 105 e de feijão vermelho.

5.2. Teor de lipídio

A Tabela 2 apresenta o teor de lipídios das amostras analisadas. O leite em pó integral é a fonte com maior teor de lipídio (26,72%), diferindo das demais ($p < 0,01$), seguida pela carne de porco (22,73%). A amostra com menor teor de lipídio foi a proteína texturizada de soja, com apenas 0,58%.

Tabela 2 – Teores de lipídio das amostras analisadas

| Amostras | Lipídio (g/100 g) |
|------------------------------------|----------------------|
| Aveia | 7,98 ^f |
| Quinoa | 5,62 ^{f,g} |
| Carne de Boi | 19,30 ^c |
| Carne de Frango | 4,91 ^g |
| Carne de Peixe | 1,35 ^h |
| Carne de Porco | 22,73 ^b |
| Leite em pó integral | 26,72 ^a |
| Feijão Vermelho | 1,35 ^h |
| Proteína Texturizada de Soja (PTS) | 0,58 ⁱ |
| Soja IAC 17 | 17,78 ^{c,d} |
| Soja IAC 24 | 11,84 ^e |
| Soja IAC PL-1 | 15,95 ^d |
| Soja UFV TN 105 | 20,27 ^{b,c} |
| Soja UFV TN 105 K L | 16,17 ^d |

Os resultados são médias de duplicatas.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

MORAES *et al* (2006) obteve uma média no teor de lipídio de 20,60%, variando de 24,03% a 18,56% e VIEIRA *et al* (1999) obtiveram porcentagens de óleo variando de 22,24% a 23,80%, observando que à medida que se aumenta o teor de proteína, o teor de óleo é reduzido.

No presente trabalho, dentre as amostras de soja, a soja sem lipoxigenase (UFV TN 105) apresentou maior teor de lipídio (20,27%) deferindo das demais variedades: IAC 17 (17,78%), UFV TN 105 KL (16,17%), IAC PL-1 (15,95%), IAC 24 (11,84%), com $p < 0,01$. Essa alta porcentagem de lipídio na soja UFV TN 105 pode explicar o baixo teor de proteína da mesma.

5.3. Teor de fibra

A Tabela 3 apresenta os teores de fibra total das amostras de feijão vermelho e soja UFV TN 105 com e sem casca.

Tabela 3 – Teores de fibra total das amostras analisadas

| Amostras | Fibra (g/100 g) | |
|-----------------|-----------------|-----------|
| | Integral | Sem casca |
| Feijão vermelho | 21,31 | 18,81 |
| Soja UFV TN 105 | 25,75 | 16,97 |

As amostras de feijão vermelho obtiveram teor de fibra de 21,31% para a amostra integral e 18,81% para a amostra sem casca. Outros autores afirmaram que os feijões possuem em torno de 15 a 25% de fibra alimentar e constituem uma boa fonte de fibra alimentar solúvel e insolúvel (HUGHES; SWANSON, 1989; HUGHES, 1991).

A soja apresentou 25,75% de fibra total para a amostra integral e 16,97% de fibra total para a amostra sem casca. SARMENTO *et al* (2001) encontraram 18,99% de fibra em detergente neutro (que estima uma das frações do conteúdo total de fibra, composto por celulose, hemicelulose e lignina) para a soja integral.

A diferença encontrada no teor de fibra dos outros autores e os encontrados no presente trabalho pode ser explicada pelo uso de técnicas de determinação diferentes. Mas percebe-se que o alto teor de fibra encontrado para a soja e o feijão integrais indica que a casca contém grande quantidade deste componente.

A Figura 6 ilustra os teores de fibra total das fontes integrais e sem casca.

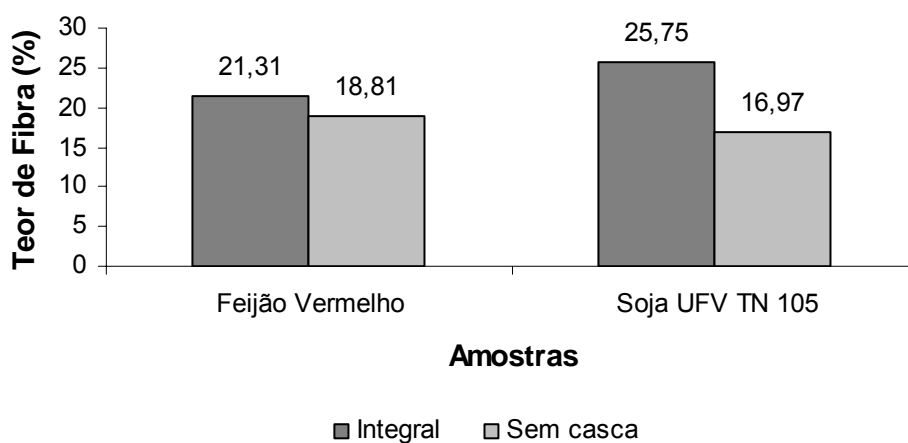


Figura 6 – Valores do teor de fibra do feijão vermelho e da soja UFV TN 105 das amostras integrais e sem casca.

5.4. Teste de Urease

A Tabela 4 apresenta os resultados do teste de uréase feito nas amostras de soja pra verificar o efeito do tratamento térmico nos grãos. O índice de urease elevado ($>0,20$) indica que o calor aplicado foi insuficiente e índice de urease baixo ($<0,05$), indica que o calor foi excessivo. Sendo assim, podemos observar que o tratamento térmico aplicado nesse trabalho (105°C por 6 horas) foi insuficiente para desativar os fatores antinutricionais das sojas.

Tabela 4: Teor de urease das sojas analisadas

| Amostras | pH | | Δ pH |
|--------------------|----------------|----------------------|-------------|
| | Tampão Fosfato | Tampão Fosfato Uréia | |
| Soja IAC 17 | 6,88 | 8,59 | 1,71 |
| | 6,84 | 8,53 | 1,69 |
| Soja IAC 24 | 6,84 | 8,65 | 1,81 |
| | 6,88 | 8,63 | 1,75 |
| Soja IAC PL-1 | 6,77 | 8,76 | 1,99 |
| | 6,84 | 8,80 | 1,96 |
| Soja UFV TN 105 | 6,84 | 8,38 | 1,54 |
| | 6,87 | 8,45 | 1,58 |
| Soja UFV TN 105 KL | 6,87 | 8,25 | 1,38 |
| | 6,88 | 8,28 | 1,40 |

5.5. Digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade é o primeiro fator que reflete a eficiência da utilização protéica da dieta, portanto, pode ser considerada um condicionante de sua qualidade (CHIARADIA, 1997). Sendo assim, os métodos ajustados por PIRES *et al* (2006) para proteínas de origem animal e vegetal proporcionam valores de digestibilidade *in vitro* bem próximos daqueles *in vivo*, permitindo, assim, o uso dessas metodologias como uma forma rápida e barata para a predição da digestibilidade de proteínas.

Estudos da FAO/WHO (1991) e da FAO/WHO/UNU (1985) identificaram vários fatores que contribuem para a menor digestibilidade das proteínas de alimentos vegetais em relação às proteínas animais. A presença de fatores dietéticos (compostos fenólicos, componentes da fibra alimentar, pigmentos, inibidores de enzimas e outros) modificam a digestão e as reações químicas que alteram a liberação de aminoácidos e de proteínas por processos enzimáticos.

Os valores obtidos para a digestibilidade *in vitro* das amostras integrais estudadas variaram entre 32,13% (UFV TN 105 – soja sem lipoxigenase) e 90,76% (PTS) (Tabela 5). Essa grande variedade era esperada já que os alimentos analisados foram de origem vegetal, com uma menor digestibilidade protéica devido aos fatores antinutricionais, e animal, que possui uma alta digestibilidade.

Em estudo feito por PIRES *et al* (2006), as proteínas de origem animal apresentaram maiores valores de digestibilidade verdadeira (obtida por ensaio *in vivo* com animais) que as de origem vegetal, possivelmente devido à ausência de fatores antinutricionais, os quais, sabidamente, contribuem para diminuir a digestibilidade em alimentos de origem vegetal. De acordo com BRESSANI (1989), a maioria das proteínas de origem animal tem boa digestibilidade, implicando em uma absorção de aminoácidos de forma eficaz. Nesse presente estudo, a maior digestibilidade foi da proteína texturizada de soja (fonte vegetal), 90,76%, seguida das carnes (fonte animal) não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 5). A maior digestibilidade da PTS pode ser explicada pelo processamento ao qual é submetido o farelo de soja, resultando em uma melhora da digestibilidade protéica, no qual os fatores antinutricionais

são retirados durante o processamento.

Pelo método de digestibilidade *in vitro* de queda de pH, as sojas UFV TN 105 K L (57,11%), IAC 17 (52,91%), IAC PL-1 (52,21%), IAC 24 (46,16%) não difeririam entre si com significância de 1%, diferente da soja UFV TN 105 (32,13%) que obteve a menor digestibilidade de todas as amostras, com diferença estatística ($p < 0,01$). O feijão vermelho apresentou 46% de digestibilidade, não diferindo da digestibilidade das soja (Tabela 5).

Apesar do alto teor protéico, a qualidade nutricional das proteínas de reserva de leguminosas mostra-se baixa em comparação com fontes protéicas de origem animal. Isso é resultante, entre vários fatores, de características estruturais, da digestibilidade e da deficiência de aminoácidos sulfurados das proteínas, assim como da presença de fatores antinutricionais, em especial os inibidores de tripsina e lectinas (NEVES *et al*, 2006).

No trabalho realizado por PIRES *et al* (2006), de todas as proteínas analisadas, aquela que apresentou menor digestibilidade verdadeira foi a soja convencional (71,76%), não diferindo estatisticamente da soja isenta de inibidor de tripsina Kunitz e lipoxigenases, que apresentou 74,26% de digestibilidade. Esses dados confirmam os resultados encontrados no presente trabalho, onde a soja convencional (Soja IAC PL-1) apresentou 52,21% e a soja isenta de inibidor de tripsina Kunitz e lipoxigenases (UFV TN 105 KL) apresentou 57,11% de digestibilidade protéica, não tendo diferença entre si ($p > 0,01$). Isto mostra que a eliminação genética deste inibidor não levou a um aumento significativo na digestibilidade protéica. MONTEIRO *et al* (2004) encontraram digestibilidade verdadeira de 86,36% para variedade de soja convencional e de 90,59% para a soja isenta KTI-LOX-.

Uma possível explicação para as diferenças encontradas entre os valores de MONTEIRO *et al* (2004), de PIRES *et al* (2006) e do presente trabalho pode estar no método de preparo das amostras, como o binômio tempo e temperatura utilizados no tratamento térmico da soja. HERKELMAN *et al* (1992), estudando o efeito de cultivares (com teor normal x baixo teor de KTI) e do tratamento térmico sobre a digestibilidade aparente da proteína da soja administrada a suínos, observaram que animais expostos a dietas com soja convencional apresentaram desempenho inferior a animais que receberam dietas com soja com baixo teor de KTI. Porém, um adequado tratamento

térmico é requerido para melhorar o valor nutricional de ambos os tipos de soja.

No presente trabalho foi encontrado, para o feijão vermelho, digestibilidade protéica de 46,00% para o método de queda de pH e 73,33% para o método de pH estático. Comparando-se esses resultados de digestibilidade *in vitro* aos encontrados na literatura, cujos percentuais variaram de 48,80 a 73,00% (EGGMENDONÇA *et al.*, 2003; ESTEVES, 2000; RIOS *et al.*, 2003), observa-se que os resultados deste trabalho estão dentro do esperado. Mas deve-se ressaltar que o valor da digestibilidade *in vitro* pelo método de pH estático se aproxima mais da digestibilidade *in vivo* como encontrado por CRUZ, 2003 (88,61% de digestibilidade verdadeira para o feijão vermelho) e PIRES, 2005 (78,70% de digestibilidade verdadeira para o feijão Pérola)

5.5.1 Influência do lipídio no método de digestibilidade *in vitro*

A Tabela 5 mostra os valores de digestibilidade das amostras integrais e desengorduradas, analisados utilizando os métodos de queda de pH e pH estático, respectivamente. As análises de variância (anexo 1) mostraram que não há diferença estatística ($p > 0,01$) entre a digestibilidade *in vitro* das amostras integrais e desengorduradas, nos métodos de queda de pH e de pH estático. Sendo assim, pode-se afirmar que o lipídio não interfere na determinação da digestibilidade protéica utilizando-se estes métodos de digestibilidade protéica *in vitro*.

Comparando-se a digestibilidade protéica *in vitro* encontrada nesse trabalho e a digestibilidade *in vivo* encontrada por PIRES *et al* (2006) pode-se afirmar que a melhor equação para avaliar fontes protéicas de origem vegetal é a de pH Estático, uma vez que os valores *in vivo* foram de 74,26% para a soja sem lipoxigenase e inibidor de tripsina e de 71,76% para a soja convencional. O feijão obteve uma digestibilidade de 78,70%. Esses valores se aproximam mais dos encontrados no método de pH estático onde a digestibilidade da soja variou de 71,78 a 72,03% e do feijão 73,33%.

Tabela 5: Valores de digestibilidade *in vitro*, calculados pela equação do método de Queda de pH e pH estatico, das amostras protéicas integrais e desengorduradas

| Amostras | % Digestibilidade | | | |
|--------------------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|
| | Queda de pH* | | pH estático** | |
| | Integral | Desengordurada | Integral | Desengordurada |
| Quinoa | 72,61 ^b | 68,35 | 75,59 ^{b,c} | 74,54 |
| Carne de Boi | 83,89 ^{a,b} | 83,67 | 75,77 ^{b,c} | 76,60 |
| Carne de Frango | 78,39 ^{a,b} | 55,89 | 76,41 ^{b,c} | 72,17 |
| Carne de Peixe | 90,14 ^a | 88,04 | 79,27 ^{a,b} | 80,64 |
| Carne de Porco | 71,67 ^b | 66,21 | 74,29 ^{b,c} | 71,18 |
| Leite em pó | 85,62 ^{a,b} | 86,87 | 84,53 ^a | 82,40 |
| Feijão vermelho | 46,00 ^c | 43,82 | 73,33 ^{b,c} | 73,68 |
| PTS | 90,76 ^a | 91,17 | - | - |
| Soja IAC 17 | 52,91 ^c | 62,36 | 71,90 ^c | 71,63 |
| Soja IAC 24 | 46,16 ^c | 35,85 | 71,86 ^c | 71,01 |
| Soja IAC PL-1 | 52,21 ^c | 51,97 | 72,03 ^c | 70,86 |
| Soja UFV TN 105 | 32,13 ^d | 42,55 | 71,69 ^c | 72,13 |
| Soja UFV TN 105 KL | 57,11 ^c | 55,00 | 71,78 ^c | 71,70 |

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

*%D = $-230,65\text{pH}^2 + 3270,9\text{pH} - 11505$ ($R^2 = 0,7904$)

**%D = $-1,4048x^2 + 11,573x + 68,524$ ($R^2 = 0,8378$); em que: x = mL de NaOH (0,1 N) adicionados.

Para as fontes protéicas de origem animal o método *in vitro* que apresentou valores mais próximos ao *in vivo* foi o método de Queda de pH, onde as carnes tiveram uma digestibilidade de 91,13 a 93,37% e no presente trabalho 71,67 a 90,14%.

As Figuras 7 e 8 ilustram os diferentes valores de digestibilidade *in vitro*, pelos Métodos de queda de pH e pH estático, das fontes integrais e desengorduradas.

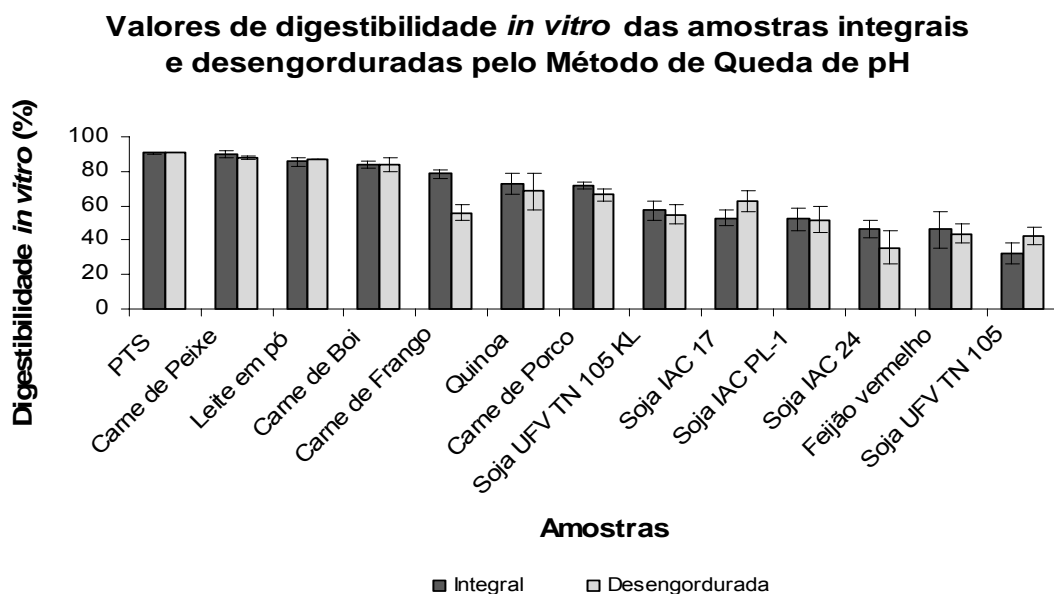


Figura 7 – Valores de digestibilidade *in vitro* pelo Método de Queda de pH das amostras integrais e desengorduradas.

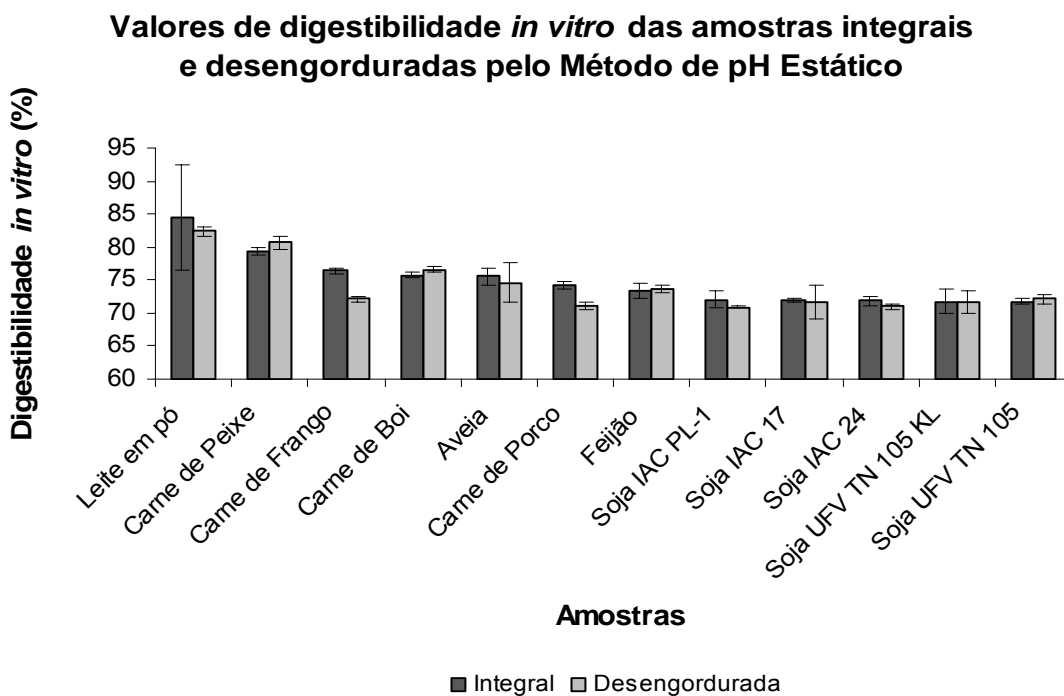


Figura 8 – Valores de digestibilidade *in vitro* pelo Método de pH Estático das amostras integrais e desengorduradas.

As Figuras 9 a 12 mostram o comportamento de algumas amostras, integrais e desengorduradas durante os 10 minutos da queda do pH.

Queda de pH após a adição da solução de enzimas

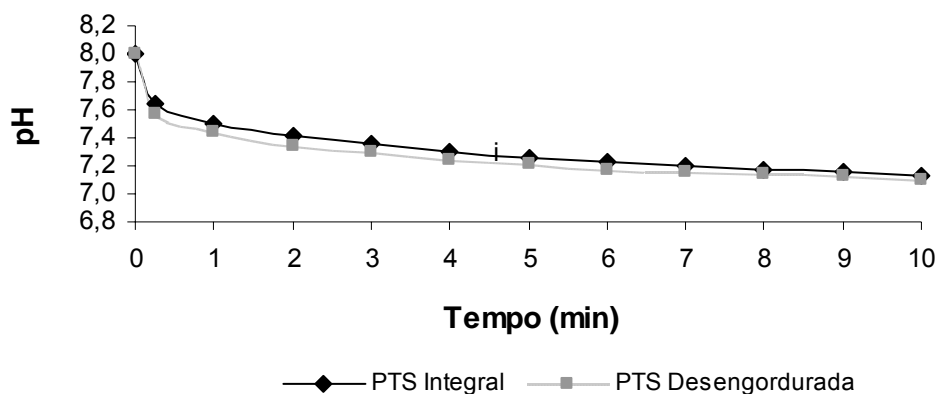


Figura 9 – Queda de pH da proteína texturizada de soja, integral e desengordurada, após a adição da solução enzimática.

Queda de pH após a adição da solução de enzimas

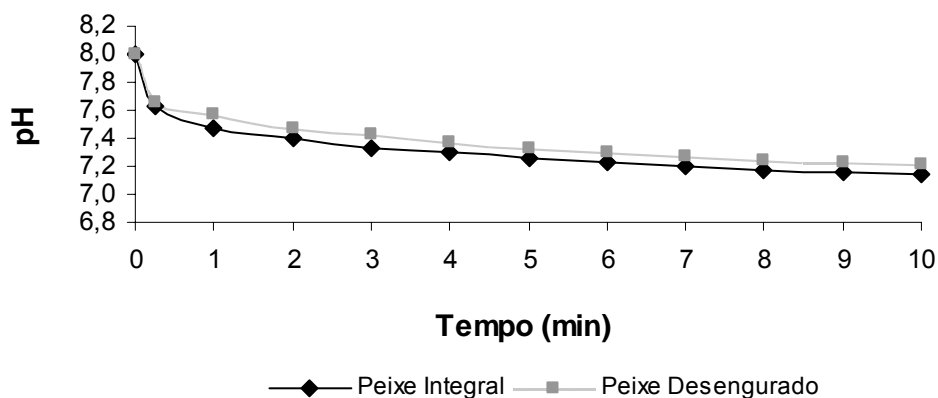


Figura 10 – Queda de pH da carne de peixe, integral e desengordurada, após a adição da solução enzimática.

Queda de pH após a adição da solução de enzimas

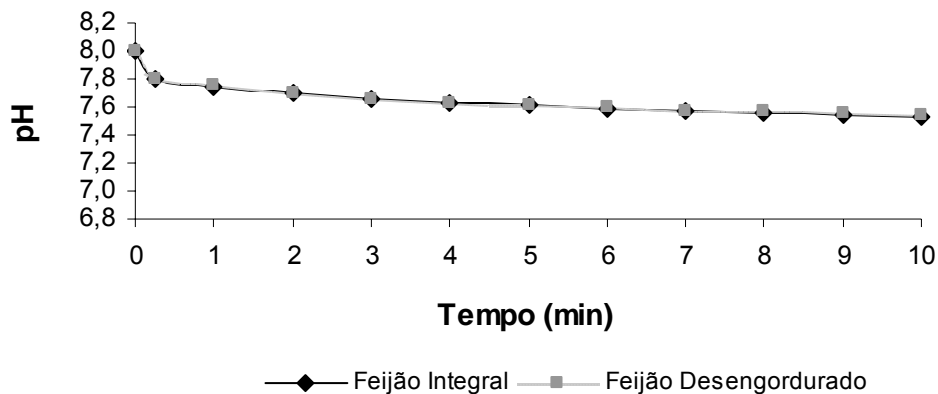


Figura 11 – Queda de pH do feijão vermelho, integral e desengordurada, após a adição da solução enzimática.

Queda de pH após a adição da solução de enzimas

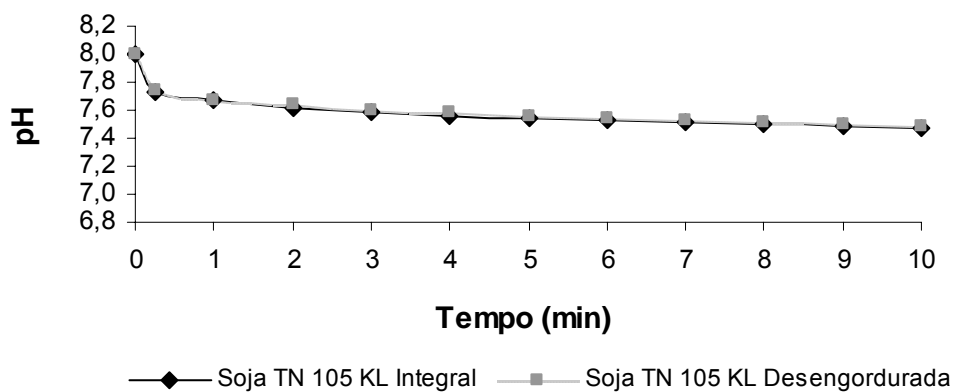


Figura 12 – Queda de pH da soja UFV TN 105 KL, integral e desengordurada, após a adição da solução enzimática.

Percebe-se que as curvas tiveram comportamento semelhante às aquelas apresentadas pelas amostras integrais e desengorduradas. Essa semelhança na curva indica que após a adição da solução de enzimas as amostras integrais e desengorduradas obtiveram hidrólise protéica semelhantes e, conseqüentemente, valores de pH próximos em tempos iguais. Sendo assim, a digestibilidade protéica *in vitro* pelo método de Queda de pH dispensa desengordurar as amostras protéicas antes da análise.

5.5.2 Influência da fibra no método de digestibilidade *in vitro*

A presença de fibra, notavelmente polissacarídeos estruturais de paredes celulares, e suas interações com proteínas podem reduzir a acessibilidade da proteína à proteólise, causando redução de digestibilidade (GALLAND-IRMOULI *et al.* 1999; MELITO e TOVAR, 1995). Sabe-se que a fibra pode interferir na absorção de alguns minerais, dificultando o crescimento de animais experimentais (BEDNAR *et al.* 2001).

No presente trabalho, a fibra presente em sua grande maioria na casca do vegetal, causou alteração significativa ($p < 0,01$) na digestibilidade *in vitro* no método de queda de pH. O método de pH estático para proteínas de origem vegetal tem uma baixa correlação com o ensaio *in vivo* ($R^2 = 0,4329$), por isso não foi utilizado para prever a digestibilidade *in vitro* das amostras protéica.

A soja UFV TN 105, no método de queda de pH, obteve digestibilidade protéica de 47,79% para a amostra integral e 51,99% para a amostra sem casca, tendo assim um aumento significativo ($p < 0,01$) na digestibilidade após a retirada da casca do grão (Tabelas 6).

Tabela 6: Valores de digestibilidade *in vitro*, calculados pela equação do método de Queda de pH, das amostras integrais e sem casca

| Amostras | % Digestibilidade* | |
|-----------------|--------------------|--------------------|
| | Integral | Sem casca |
| Feijão vermelho | 55,84 ^b | 69,99 ^a |
| Soja UFV TN 105 | 46,81 ^b | 54,12 ^a |

Médias seguidas por uma mesma letra em uma mesma linha não diferem entre si ao nível de 1% pelo teste F.

*%D = $-122,53pH^2 + 1725,3pH - 5986,7$ ($R^2 = 0,8178$).

Na Tabela 6, método de queda de pH, o feijão vermelho teve um aumento na digestibilidade após a retirada da casca de 25,98% e a soja UFV TN 105 obteve um aumento de 15,16%. A maior diferença na digestibilidade do

feijão pode ser explicada pela alta concentração de tanino na casca do mesmo, o que não acontece na casca da soja.

Para o feijão, a digestibilidade de proteínas varia entre 50 e 80%, sendo tipicamente menor que a de produtos de origem animal (80 a 95%) (NAVARRETE *et al.*, 1981). Essa baixa digestibilidade é considerada o principal fator responsável pelo baixo valor nutritivo dos feijões (HUGHES, 1991).

No presente trabalho, para o feijão vermelho a digestibilidade protéica da amostra integral e sem casca foi de 55,84% e 69,99% no método de queda de pH. Deste modo, afirma-se que a casca interferiu no método de digestibilidade *in vitro* ($p < 0,01$), aumentando-a na retirada da casca dos grãos. Valor parecido foi encontrado por HERNANDEZ *et al.* (1984), onde a digestibilidade *in vitro* do feijão preto foi de 58,4%. SGARBIERI & WHITAKER (1982) encontraram no experimento para a digestibilidade verdadeira do feijão preto sem casca, 76,8%.

BRESSANI (1993) apontou ser multicausal a reduzida digestibilidade das proteínas do feijão e de outras leguminosas, havendo, além dos inibidores de proteases, outros fatores ligados à casca (taninos), aos cotilédones (proteínas, taninos e fitatos), ao processamento e ao armazenamento. O tanino faz parte de um grupo heterogêneo de compostos fenólicos presentes nos vegetais e pode interagir com as proteínas, formando complexos. Esta interação poderá ocorrer tanto com as proteínas dos alimentos, como com as enzimas do trato gastrintestinal (COELHO & LAJOLO, 1993). Os taninos, em quase sua totalidade, encontram-se na casca dos grãos, principalmente no feijão de cor (COELHO, 1991).

Outro componente da casca que pode interferir na digestibilidade é o ácido fítico. O ácido fítico, por ser carregado negativamente, também forma complexos com proteínas de cargas positivas e diminui, assim, a digestibilidade deste nutriente (TORRE *et al.*, 1991).

De acordo com BRESSANI (1989), o tegumento do feijão preto é rico em taninos, os quais interferem no processo digestivo, por interação com a proteína ingerida ou com as enzimas digestivas presentes no trato gastrintestinal. Portanto, é esperado que a digestibilidade e qualidade protéica seja mais elevada e o menor conteúdo de taninos no feijão descascado e

cozido. Segundo o mesmo autor, a digestibilidade protéica requer estudos adicionais sobre os fatores inerentes à semente e sobre o processo que a torna tão baixa. Ele sugere levar isto em consideração quando se trata de seu consumo.

As Figuras 13 e 14 mostram o comportamento das amostras integrais e sem casca durante os 10 minutos da queda do pH.

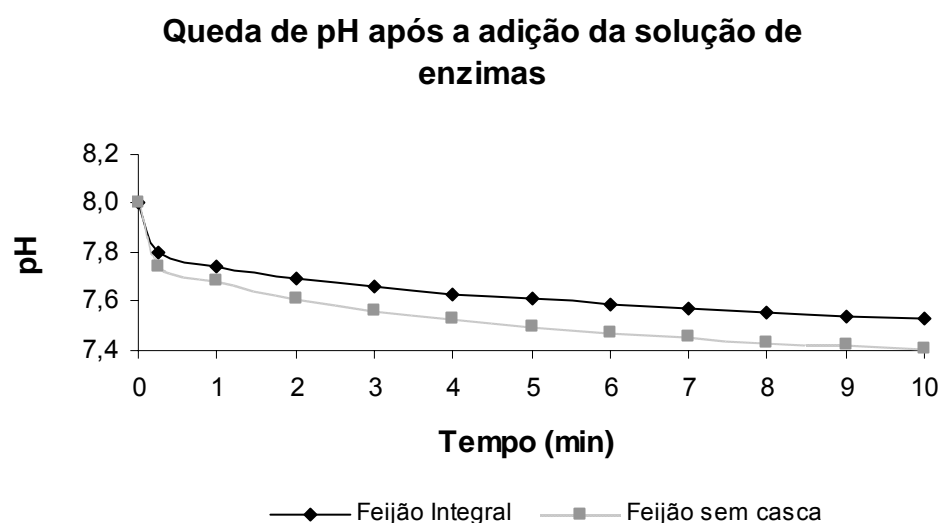


Figura 13 – Queda de pH do feijão vermelho, integral e sem casca, após a adição da solução enzimática.

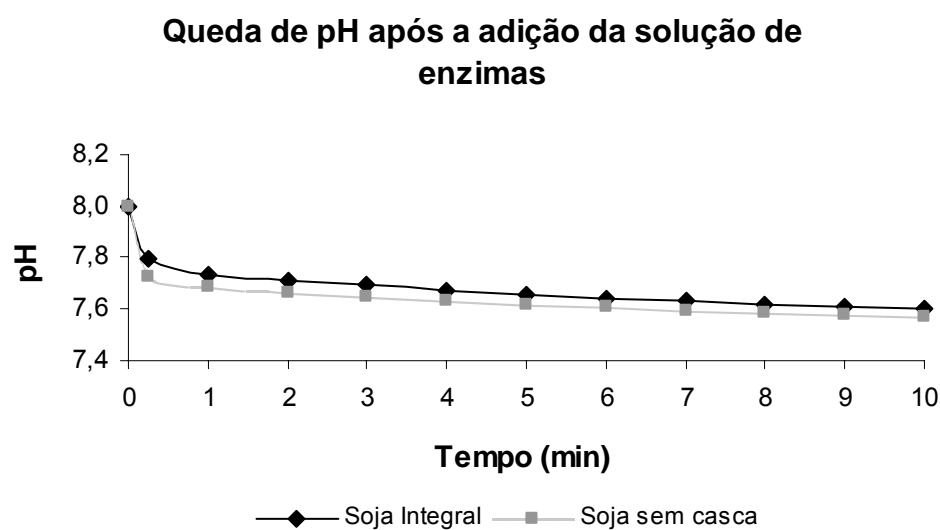


Figura 14 – Queda de pH da Soja UFV TN 105, integral e sem casca, após a adição da solução enzimática.

Pode-se perceber que as curvas, após 10 minutos de adição da solução de enzimas, as amostras sem casca obtiveram uma maior queda em relação às amostras integrais, ou seja, houve maior hidrólise da proteína com menor teor de fibra. Sendo assim, pode-se afirmar há maior digestibilidade protéica dos alimentos com menor teor de fibra.

As Figuras 15 e 16 ilustram os diferentes valores de digestibilidade *in vitro*, pelos Métodos de queda de pH e pH estático, das fontes integrais, e sem casca.

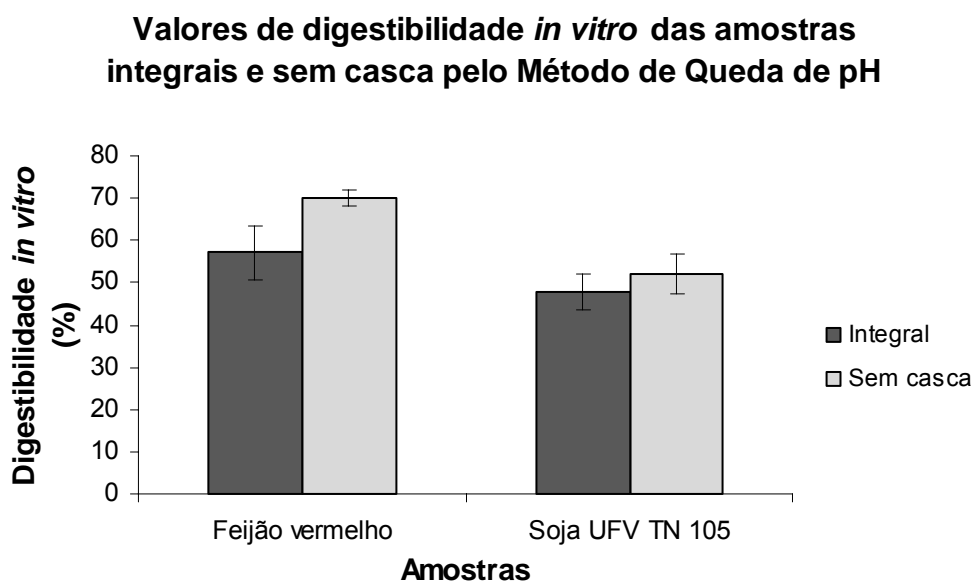


Figura 15 – Valores de digestibilidade *in vitro* pelo Método de Queda de pH das amostras integrais e sem casca.

Valores de digestibilidade *in vitro* das amostras integrais e sem casca pelo Método de pH Estático

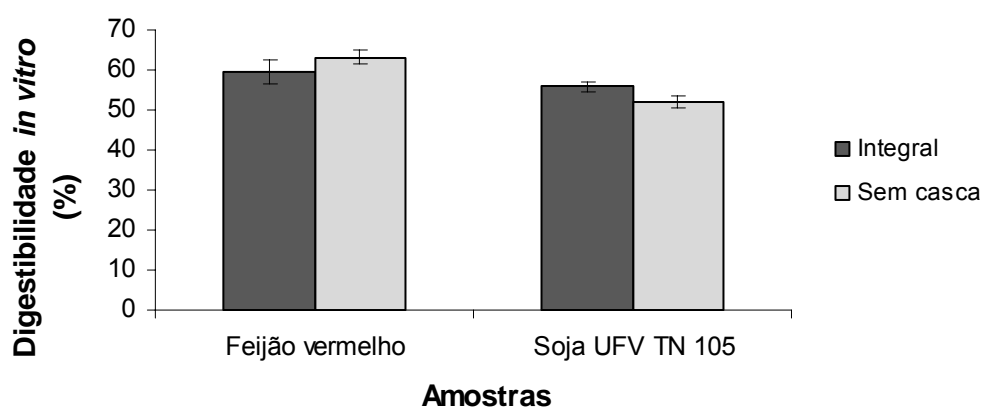


Figura 16 – Valores de digestibilidade *in vitro* pelo Método de pH Estático das amostras integrais e sem casca.

Após realizadas as análises de quantificação do teor de proteína e da digestibilidade protéica *in vivo*, pode-se afirmar que as fontes protéicas de origem animal têm uma melhor qualidade protéica em relação às fontes de origem vegetal, destacando-se a proteína texturizada de soja, que obteve uma ótima digestibilidade e uma quantidade considerável de proteína.

6. CONCLUSÕES

As equações descritas por PIRES *et al* (2006) são uma ótima alternativa para a determinação da digestibilidade protéica de um alimento. No método da queda do pH, as melhores equações que correlacionam digestibilidade com queda de pH foram obtidas para todas as fontes protéicas e para as proteínas de origem vegetal, com R^2 de 79,04 e 81,78%, respectivamente. No método do pH estático, quando se correlacionou a digestibilidade com o volume de NaOH necessário para manter em 8,0 o valor de pH, a melhor equação foi obtida quando se trabalhou com todas as proteínas (R^2 de 83,78%).

No presente trabalho as proteínas de origem animal apresentaram os maiores valores de digestibilidade *in vitro* que as de origem vegetal, exceto a proteína texturizada de soja que apresentou maior digestibilidade devido ao processamento sofrido. Dentre as carnes, a de peixe foi a proteína com maior digestibilidade, porém não diferiu das demais amostras de carne, indicando que as fontes protéicas originárias das carnes apresentam a mesma digestibilidade.

A proteína texturizada de soja exibiu valor de digestibilidade protéica superior aos da soja convencional (IAC PL 1) e da soja isenta de inibidor de tripsina Kunitz e de lipoxigenases (UFV TN 105 KL), evidenciando melhora na digestibilidade da proteína de produtos à base de soja submetidos a processamento térmico.

No presente trabalho, verificou-se ainda que não houve influência do

conteúdo de lipídio na digestibilidade protéica, indicando que o lipídio das amostras não interferiu no método de digestibilidade *in vitro* de queda de pH e pH estático. Desse modo não é preciso desengordurar as amostras antes de realizar o experimento de digestibilidade *in vitro*, dispensando-se então uma etapa nessa técnica, economizando tempo e amostra, tornando-se ainda mais fácil a utilização desses métodos para alimentos com alto teor de lipídio em indústrias de alimentos.

A fibra, presente em grande quantidade na casca dos grãos, interferiu na digestibilidade *in vitro*, tanto no método de queda de pH quanto no método de pH estático. Sendo assim, faz-se necessário a retirada da casca dos vegetais ricos em fibra para utilização das equações descritas por PIRES *et al* (2006). A retirada da casca pode não corresponder à realidade do consumo de um determinado alimento, como por exemplo, o feijão que normalmente é consumido com casca. Desse modo, seria interessante a dedução de outra equação, que correlacione a digestibilidade *in vivo* e *in vitro* de um número maior de amostras ricas em fibra, exclusiva para alimentos fibrosos, sem ter necessidade da retirada da parte rica em fibra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ANGELIS, R. C. de. Métodos biológicos de avaliação do valor nutricional de proteínas. **Alimentação**, São Paulo, n. 50, p. 51-54, out. 1999.

ANTUNES, P. L.; BILHALVA, A. B.; ELIAS, M. C.; SOARES, G.J.D. Valor Nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) cultivares Rico 23, Carioca, Pirata-1 e Rosinha – G2. **Rev. Brás. Agroc.**, v. 1, n. 1, p. 12-18, 1995.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 478p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16 ed. Gaithersburg: AOAC, 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Washington, 1975. 1094 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 14. ed. Arlington: 1984. 1141p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed. Washington, 1995.

BEDNAR, G.E.; PLATIL, A.R.; MURRAY, S.M.; GRIESHOP, C.M.; MERCHEN, N.R.; FAHEY, G.C. Starch and fiber fractions in selected food and feed ingredients affect their small intestinal digestibility and fermentability and their large bowel fermentability in vitro in a canine model. **Journal of Nutrition**, v.131, n.2, p. 276-286, 2001.

BELLAVER, C.; COTREFAL, G.; GRECCO, M. Soja integral: processamento e uso. **Aliment. Anim.**, v.7, p.28-30, 2002.

BRESSANI, R. Revisión sobre la calidad del grano de frijol. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 39, n. 3, p. 419-442, 1989.

BUCHMANN, N. B. In vitro digestibility of protein from barley and others cereals. **J. Sci. Food. Agric.**, v. 30, p. 538-589, 1979.

CARDOSO, Luciana Resende ; OLIVEIRA, Maria Goreti de Almeida ; Mendes F. Q. ; PIRES, Christiano Vieira ; SANT'ANA, Rita de Cassia Oliveira ; RIBEIRO, F. R. ; MOREIRA, Maurílio Alves . **Atividade de inibidores de proteases em linhagens de soja geneticamente melhoradas**. Alimentos e Nutrição (UNESP), v. 18, p. 19-26, 2007

CHIARADIA, A. C. N. **Determinação da estrutura de pigmentos de feijão e estudo da sua ação na qualidade protéica**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 107 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

COELHO, J.V., LAJOLO, F.M. Evolução dos fenólicos totais e taninos condensados (protoantocianidinas) durante o desenvolvimento das sementes do feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Guatemala, v.43, n.1, p.61-65, 1993.

COELHO, R. C. Considerações sobre as proteínas do feijão. **Rev. Nutr.**, v.4, n.1, p.122-145, 1991.

CRUZ, G. A. D. R. **Efeito do armazenamento sobre a digestibilidade e qualidade protéica de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 95 f. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CRUZ, G. A. D. R.; OLIVEIRA, M. G. A.; PIRES, C. V.; PILON, A. M.; CRUZ, R. S.; BRUMANO, M. H. N.; MOREIRA, M. A. Evaluation of the protein digestibility, protease inhibitor and dietary fibers of different bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.7, n. 2, p. 103-109, 2004.

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

EASTWOOD M. A. The physiological effect of dietary fiber. **Annu. Rew. Nutr.**, v.12, p.19-35, 1992.

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

ESTEVES, A. M. **Comparação química e enzimática de seis linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2000. 55 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

ESTEVES, A. N.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D.; CORRÊA, A. D. Comparação química e enzimática de seis linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciênc. agrotec., Lavras**. V.26, n.5, p.999-1005, set./out., 2002.

EUCLYDES, R.F. Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG. Central de Processamento de Dados. Viçosa, MG: UFV. 1983. 68p.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. **Necesidades de energia y de proteínas**. Ginebra: OMS, 1985. 220 p. (Informe de una reunión consultiva conjunta FAO/OMS/UNU de expertos).

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. **Evaluation of protein quality**. Rome: FAO, Food Nutrition, 1991. (Report of the Joint FAO/WHO expert consultation on protein quality evaluation).

FRANCESCHINI S.C.C, PRIORE S.E, EUCLYDES M.P. **Necesidades e recomendações de nutrientes**. In: Cuppari L. **Guias de medicina ambulatorial e hospitalar – Nutrição clínica do adulto**. Barueri, São Paulo. Ed. Manole, 2002. 406p.

FRIEDMAN, M. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 6-29, 1996.

GALLAND-IRMOULI, A.V.; FLEURENCE, J.; LAMGHARY, R.; LUCON, M.; ROUXEL, C.; BARBAROUX, O.; BRONOWICKI, J.P.; VILLAUME, C.; GUÉANT, J.L. Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (Dulse). **Journal of Nutrition Biochemistry**, v.10, p. 353-359, 1999.

GUEN, M. P.; BIRK, Y. Protease inhibitors from legume seeds: nutritional effects, mode of action and structure-function relationship. In: van der POEL, A. F. B.; HUISMAN, J.; SAINI, H. S. **Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds**. [S.l.: s.n.], 1993. p.157-171.

HERKELMAN, K. L.; CROMWELL, G. L.; PFEIFFER, T. W.; KNABE, D. A. Apparent digestibility of amino acids in raw and heated conventional and low trypsin inhibitor soybeans for pigs. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 818-826, 1992.

HERNÁNDEZ, M.; LA VEJA, A.; SOTELO, A. Determination de la digestibilidad proteínica *in vitro* e *in vivo* en cereais y leguminosas, crudos e cocidos. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 34, n. 3, p. 513-522, 1984.

HERNÁNDEZ, T.; HERNÁNDEZ, A.; MATÍNEZ, C. Calidad de proteínas. Conceptos y evaluación. **Alimentaria**, 27: 27-37, 1996.

HSU, H. W.; VAVAK, D.L.; SATERLEE, L.D.; MILLER, G.A. Multienzyme technique for estimating protein digestibility. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 5, p. 1269-1273, 1977.

HUGHES, J. S. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. **Food Tech.**, v.45, n.9, p.122-126, 1991.

HUGHES, J. S.; SWANSON, B. G. Soluble and insoluble dietary fiber in cooked common bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Food Microstruc.**, v.8, p.15-21, 1989.

III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, 2001.

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. **Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Proteins, and Aminoacids (macronutrients)**. Washington DC, National Academy Press, 2002.

JEWELL, D. K.; KENDRICK, J. G.; SATERLEE, L. D. The DC-PER assay: a method for predicting protein quality solely from amino acid compositional data. **Nutrition Reports International**, v. 21, p. 25-38, 1980.

KAUR, J. R.; KAPOOR, A. C. Nutrient composition and antinutritional factors of rice and bean (*Vigna umbellate*). **Food Chem.**, v. 43, n. 22, p. 119-124, 1992.

KRITCHEVSKI, D. Dietary fiber. **Ann. Rew. Nutr.**, v.8, p.301-328, 1988.

LIU, K. Cellular biological and physicochemical basis for the hard-to-cook defect in legumes seeds. CRC. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, p. 263, 1995.

LÓPEZ, G.; ROS, G.; RINCÓN, F.; PERIAGO, M. J.; MARTÍNEZ, C.; ORTUÑO, J. Propiedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.47, n.3, p.203-207, 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**, v. 38, p. 173-174, 1973.

MASON, V. C. Metabolism of nitrogenous compounds in the large gut. **Proc. Nutr. Soc.**, v.43, p.45-53, 1984.

MAURON, J.; MOTTO, F.; BUJARD, E.; EGLY, R. H. The availability of lysine, methionine and tryptophan in condensed milk and milk powder. In vitro digestion studies. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.59, p.433-451, 1995.

MELITO, C.; TOVAR, J. Cell walls limit in vitro protein digestibility in processed legume seed. **Food Chem.**, v.53, p.305-307, 1995.

MENDES, W.S., SILVA, I.J., FONTES, D.O. *et al.* Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 56, n. 2, 2004.

MESQUITA, F. R., CORREA, A. D., ABREU, C. M. P. *et al.* Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 4, 2007.

MONTEIRO, J. B. R.; COSTA, N. M. B.; ESTEVES, E. A.; MILAGRES, K. H. Avaliação da qualidade protéica de dois formulados em pó, à base de soja enriquecidos com zinco, selênio e magnésio para utilização em nutrição enteral. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 006-010, 2004.

MORAES, R. M. A.; JOSE, I. C.; RAMOS, F. G.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. **Revista de Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n.5, v.41, p.715-729. 2006.

MOREIRA, M. A. Programa de Melhoramento genético da qualidade de óleo e proteína da soja desenvolvido na UFV. In: **Congresso Brasileiro de Soja, Londrina. Anais...** Londrina: Embrapa Soja, p. 99-104. 1999.

NACZK, M.; NICHOLS, T.; PINK, D.; SOSULSKI, F. Condensed tannins in canola hulls. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, n. 10, p. 2196-2200, 1994.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Editora Sarvier, p. 1119, 2004.

NEVES, V. A.; SILVA, S. I.; SILVA, M. A. Isolamento da globulina majoritária, digestibilidade *in vivo* e *in vitro* das proteínas do tremoço-doce (*Lupinus albus* L.), var. multolupa. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(4): 832-840, out.-dez. 2006.

OLIVEIRA, I. M. V.; ANGELIS, R. C. Requisitos protéicos mínimos de diferentes fontes vegetais para ratos de laboratório em fase de crescimento. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, 38(1): 23-28, 2001.

OLIVEIRA, M.D.S. *et al.* Efeito de métodos de coleta de fluido ruminal sobre a digestibilidade *in vitro* de alguns nutrientes de ração para bovinos. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 22, n. 5, p. 794-800, 1993.

OSBORN, T. C. Genetic control of bean seed protein. **CRC Crit. Rev. Plant. Sci.**, v.7, p.93-116, 1988.

PEREIRA, C. A. S.; COSTA, N. M. B. Proteínas do feijão preto sem casca: digestibilidade em animais convencionais e isentos de germes (germ-free). **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 15, n. 1, p.5-14, 2002.

PIRES, C. V. **Otimização de técnicas de determinação da digestibilidade *in vitro* para a substituição da digestibilidade *in vivo* no cálculo do escore químico corrigido pela digestibilidade protéica – PDCAAS**. Viçosa, MG: UFV, 2005. 70f. Dissertação (Doutorado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M. G. A.; ROSA, J. C.; COSTA, N. M. B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(1): 179-187, jan.-mar. 2006.

PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M. G. A.; ROSA, J. C.; CRUZ, G. A. D. R.; MENDES, F. Q.; COSTA, N. M. B. Digestibilidade *in vitro* e *in vivo* de proteínas de alimentos: estudo comparativo. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 17, n. 1, p. 13-23, jan./mar. 2006.

POEL, T. F. B.; BLONK, J.; ZUILICHEM, D. J.; OORT, M. G. Thermal inactivation of lectins and trypsin inhibitor activity during steam processing of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and effects on protein quality. **J. Sci. Food Agric.**, v. 53, n. 2, p. 215-228, 1990.

POUZET, A. Presentation of some results of the Concerted Action on the management of oilseed crops in the European Union. **OCL – Oleagineux Corps Gras Lipides**, v.6, n.1, p.6-21, 1996.

RAUP, D. S.; SGARBIERI, V. C. Efeitos de frações fibrosas extraídas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na utilização de macro e micronutrientes da dieta pelo rato. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.16, n.2., p.100-107, 1996.

RIOS, A. de O.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D. Efeito da estocagem e das condições de colheita sobre algumas propriedades físicas, químicas e nutricionais de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 39-45, dez. 2003. Suplemento.

SARMENTO, P.; GARCIA, R.; PIRES, A. J. V.; NASCIMENTO, A. S. Grãos de soja como fonte de urease na amonização do bagaço de cana-de-açúcar com uréia. **Sci. agric.**, Piracicaba, v.58, n.2, p. 223-227, 2001.

SAUNDERS, R. M.; CONNOR, A. N.; BOOTH, E. M.; KOHLER, G. O. Measurement of digestibility of alfalfa protein concentrates by *in vivo* and *in vitro* methods. **Journal of Nutrition.**, v. 103, p. 530-535, 1973.

SELVEDRAN, R. R. The plant cell wall as a source of dietary fiber: chemistry and structure. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.39, p.320-337, 1984.

SGARBIERI, V. C.; WHITAKER, J. R. Physical, chemical and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. **Adv. Food Res.**, v. 28, n. 3, p. 93-166, 1982.

SILVA, D.J. da. **Análises de alimentos: métodos químicos e bioquímicos.** Viçosa: UFV, 1981. 166 p.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A.. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, Feb. 1999 .

SILVA, P. H. F., PEREIRA, D. B. C., OLIVEIRA, L. L. COSTA JÚNIOR, L. C. G. **Físico-química do leite e derivados – Métodos analíticos.** Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora Ltda, 1997. 190 p.

TORRE, M.; RODRIGUES, A. R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.1, n.1, p.1-22, 1991.

VAN SOEST, P.J. Use of detergents in the analyses of fibrous feeds. 2. A rapid method for determination of fiber and lignin. **Journal Association Official Analytical Chemists**, Arlington, v.46, n.1, p.829-835, May 1963.

VARGAS, E.; BRASSANI, R.; NAVARRETE, D. Digestibilidad de la proteína y energía de dietas elaboradas a base de arroz y frijoles en humanos adultos. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion.**, v.34, n.1, p.109-129, 1984.

VIEIRA, C. R.; CABRAL, L. C.; OLIVEIRA, A. C. P.; Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, Ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.7, p.1277-1283, jul. 1999.

WONG, K. H.; CHEUNG, P. C. K. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part II. *In vitro* protein digestibility and amino acid profiles of protein concentrates. **Food Chemistry**, v.72, p. 11-17, 2001.

World Health Organization. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation**, series 916, Geneva 2003.

YADAV, S.; KHETARPAUL, N. Indigenous legume fermentation: effect of some antinutrients and *in vitro* digestibility of starch and protein. **Food Chemistry**, v.50, p. 403-406, 1994.

ANEXO

Anexo – Análises de Variância

Tabela A- Resumo da análise de variância para proteína das fontes analisadas.

| FV | GL | SQ | QM | F |
|---------|----|----------|---------|----------|
| Fonte | 16 | 19446,60 | 1215,41 | 1267,61* |
| Resíduo | 34 | 32,60 | 0,96 | |
| Total | 50 | 19479,20 | | |

* Significativo a 1% pelo teste F

Tabela B- Resumo da análise de variância para lipídio das fontes analisadas.

| FV | GL | SQ | QM | F |
|---------|----|----------|---------|---------|
| Fonte | 13 | 1768,711 | 136,055 | 481,98* |
| Resíduo | 14 | 3,952 | 0,285 | |
| Total | 27 | 1772,663 | | |

* Significativo a 1% pelo teste F

Tabela C- Resumo da análise de variância para o método de queda de pH, das amostras integrais e desengorduradas

| FV | GL | SQ | QM | F |
|-----------------|-----|------------|--------|--------------------|
| Fonte proteica | 12 | 49849.3 | 4154.1 | 112.01* |
| Gordura | 1 | 178.8 | 178.8 | 4.82 ^{NS} |
| Fonte x gordura | 12 | 2442.3 | 203.5 | 5.49 ^{NS} |
| Resíduo | 130 | 4821.1 | 37.1 | |
| Total | 155 | 57291.5369 | | |

* Significativo a 1% pelo teste F

^{NS} Não significativo a 1% pelo teste F

FV = Fonte Variável

GL = Grau de Liberdade

SQ = Soma dos Quadrados

QM = Quadrado Médio

Tabela D- Resumo da análise de variância para o método de pH estático, das amostras integrais e desengorduradas

| FV | GL | SQ | QM | F |
|-----------------|-----|--------|-------|-------------------|
| Fonte | 11 | 1888,3 | 171,7 | 42,1* |
| Gordura | 1 | 23,1 | 23,1 | 5,7 ^{NS} |
| Fonte x Gordura | 11 | 89,0 | 8,1 | 2,0 ^{NS} |
| Resíduo | 116 | 472,8 | 4,1 | |
| Total | 139 | 2473,2 | | |

* Significativo a 1% pelo teste F

^{NS} Não significativo a 1% pelo teste F

Tabela E- Resumo da análise de variância para o método de queda de pH, das amostras integrais e sem casca

| FV | GL | SQ | QM | F |
|---------------|----|-----------|----------|-------------------|
| Fonte | 1 | 930,4475 | 930,4475 | 70,18* |
| Fibra | 1 | 690,5949 | 690,5949 | 52,09* |
| Fonte x Fibra | 1 | 69,9985 | 69,9985 | 5,3 ^{NS} |
| Resíduo | 20 | 265,1432 | 13,2572 | |
| Total | 23 | 1956,1841 | | |

* Significativo a 1% pelo teste F

^{NS} Não significativo a 1% pelo teste F

FV = Fonte Variável

GL = Grau de Liberdade

SQ = Soma dos Quadrados

QM = Quadrado Médio

Tabela F- Resumo da análise de variância para o método de pH estático, das amostras integrais e sem casca

| FV | GL | SQ | QM | F |
|---------------|----|----------|----------|---------------------|
| Fonte | 1 | 297,5708 | 297,5708 | 71,80* |
| Fibra | 1 | 3,2769 | 3,2764 | 0,791 ^{NS} |
| Fonte x Fibra | 1 | 41,4086 | 41,4086 | 9,99* |
| Resíduo | 16 | 66,3128 | 4,1445 | |
| Total | 19 | 408,5691 | | |

* Significativo a 1% pelo teste F

^{NS} Não significativo a 1% pelo teste F

FV = Fonte Variável

GL = Grau de Liberdade

SQ = Soma dos Quadrados

QM = Quadrado Médio