

GUSTAVO FONSECA OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADO
PROTÉICO DE SOJA MODIFICADO COM HEXAMETAFOSFATO
DE SÓDIO**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

GUSTAVO FONSECA OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADO
PROTÉICO DE SOJA MODIFICADO COM HEXAMETAFOSFATO
DE SÓDIO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 22 de fevereiro de 2010.

Prof. Marco Túlio Coelho Silva
(co-orientador)

Prof^a. Hércia Stampini Duarte Martino
(co-orientadora)

Prof. Afonso Mota Ramos

Prof. Paulo Henrique Alves da Silva

Prof. José Carlos Gomes
(orientador)

Aos meus pais Marcos e Zilda,
Aos meus irmãos Marcelo e Renato,
Aos meus avôs, avós, tias, tios, primos, primas e amigos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Professor José Carlos Gomes, pela amizade, apoio, orientação e sugestões no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Marco Túlio Coelho Silva e à Professora Hércia Stampini Duarte Martino pelas orientações e paciência.

Ao Professor Afonso Mota Ramos e ao Professor Paulo Henrique Alves da Silva pela boa vontade e disponibilidade.

Aos meus pais Marcos e Zilda pelo apoio e incentivo constantes, pelas palavras de conforto nos momentos difíceis.

Aos meus irmãos Marcelo e Renato pela torcida e companheirismo.

À Graciana Silveira Januzi pela paciência.

Aos amigos de república.

Aos funcionários do DTA pelo suporte técnico e disponibilidade.

A todos os meus familiares e amigos que de alguma forma estiveram comigo durante esta trajetória.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. <i>Objetivo geral</i>	3
1.1.1. <i>Objetivos específicos</i>	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. <i>Breve histórico, características e situação atual da soja</i>	4
2.2. <i>Composição da soja</i>	6
2.2.1. <i>Proteínas da soja</i>	7
2.2.1.1. <i>Classificação das proteínas</i>	7
2.2.1.1.1. <i>Coeficiente de sedimentação</i>	7
2.2.1.1.2. <i>Função biológica</i>	8
2.2.1.1.3. <i>Padrão de solubilidade</i>	9
2.2.2. <i>Lipídeos da soja</i>	9
2.2.3. <i>Vitaminas</i>	10
2.2.4. <i>Minerais</i>	10
2.2.5. <i>Fibras e Carboidratos</i>	11
2.2.6. <i>Isoflavonas</i>	12
2.3. <i>Propriedades funcionais das proteínas da soja</i>	13
2.3.1. <i>Solubilidade</i>	14
2.3.2. <i>Emulsificação</i>	16
2.3.3. <i>Espumabilidade</i>	17
2.3.4. <i>Gelificação</i>	17
2.3.5. <i>Capacidade de absorção e retenção de água</i>	18
2.4. <i>Fatores que influenciam na qualidade nutricional das proteínas</i>	18
2.5. <i>Digestão e absorção em mamíferos monogástricos</i>	20
2.6. <i>Alergia e intolerância a proteínas</i>	20
2.7. <i>Alergenicidade relacionada aos produtos de soja</i>	22
2.8. <i>Métodos para avaliar a qualidade protéica</i>	23
2.8.1. <i>Coeficiente de eficiência protéica (PER)</i>	23
2.8.2. <i>Razão protéica líquida (NPR)</i>	23
2.8.3. <i>Escore químico de aminoácidos (EQ)</i>	24
2.8.4. <i>Escore químico corrigido pela digestibilidade protéica (PDCAAS)</i>	24
2.8.5. <i>Digestibilidade protéica (D)</i>	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1. <i>Obtenção do isolado protéico modificado</i>	26
3.2. <i>Caracterização do isolado protéico modificado</i>	29

3.2.1. Análises físico-químicas	29
3.2.1.1. Proteína	29
3.2.1.2. Umidade	29
3.2.1.3. Cinzas	29
3.2.1.4. Lipídios	29
3.2.1.5. Carboidratos	29
3.2.1.6. Atividade ureásica	30
3.2.1.7. pH	30
3.2.2. Determinação da solubilidade protéica	31
3.3. Avaliação da qualidade protéica do isolado modificado	31
3.3.1. Ensaio biológico	31
3.3.1.1. Coeficiente de eficácia alimentar (CEA)	32
3.3.1.2. Digestibilidade verdadeira (DV) do IPSM	32
3.3.1.3. Coeficiente de eficácia protéica (PER) do IPSM	33
3.3.1.4. Coeficiente de eficiência líquida da proteína (NPR) do IPSM	34
3.3.2. Análise estatística	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1. Características físico-químicas	35
4.1.1. Composição centesimal	35
4.1.2. Índice de atividade de urease	37
4.1.3. Curva de solubilidade protéica	37
4.2. Avaliação da qualidade protéica do IPSM	39
4.2.1. Ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) ...	39
4.2.2. Razão de eficiência protéica (PER) e Razão protéica líquida (NPR)	40
4.2.3. Digestibilidade verdadeira (DV)	41
5. CONCLUSÃO	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SOJA (% EM BASE SECA).....	7
TABELA 2 – COMPONENTES DAS FRAÇÕES PROTÉICAS DA SOJA SEPARADAS POR ULTRACENTRIFUGAÇÃO.....	8
TABELA 3 – TRIGLICERÍDEOS NA SOJA.....	10
TABELA 4 – COMPOSIÇÃO MINERAL TÍPICA DE UM ISOLADO PROTÉICO DE SOJA.....	11
TABELA 5 - COMPOSIÇÃO BASE DAS DIETAS EXPERIMENTAIS (G/100G).....	32
TABELA 6 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL (G/100G).....	35
TABELA 7 – GANHO DE PESO (GP), CONSUMO ALIMENTAR (CA) E COEFICIENTE DE EFICIÊNCIA ALIMENTAR (CEA) DOS GRUPOS CASEÍNA E IPSM (N=6).....	40
TABELA 8 – RAZÃO DE EFICIÊNCIA PROTÉICA (PER) E RAZÃO PROTÉICA LÍQUIDA (NPR) DOS GRUPOS CASEÍNA E ISOLADO (N=6).....	40
TABELA 9 – DIGESTIBILIDADE VERDADEIRA E RELATIVA DOS GRUPOS CASEÍNA E ISOLADO (N=6).....	41

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – PROJEÇÃO DA PRODUÇÃO MUNDIAL DE SOJA (SAFRA 2009/2010).....	5
FIGURA 2 – EVOLUÇÃO DA SAFRA BRASILEIRA DE SOJA.....	6
FIGURA 3 – PERFIL DE SOLUBILIDADE EM FUNÇÃO DO PH DAS PROTEÍNAS DA SOJA.....	15
FIGURA 4 – PERFIL DE SOLUBILIDADE DOS IPS MODIFICADOS E DA CASEÍNA HUMANA.....	16
FIGURA 5 – FLUXOGRAMA PARA OBTENÇÃO DO IPS MODIFICADO.....	28
FIGURA 6 – PERFIS DE SOLUBILIDADE DOS ISOLADOS MODIFICADO (IPSM) E NÃO MODIFICADO (IPS).....	38

RESUMO

OLIVEIRA, Gustavo Fonseca, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa. fevereiro, 2010. **Desenvolvimento e caracterização de isolado protéico de soja modificado com hexametáfosfato de sódio**. Orientador: José Carlos Gomes. Co-orientadores: Marco Túlio Coelho Silva e Hércia Stampini Duarte Martino.

A alergia ao leite de vaca é a intolerância alimentar mais comum da faixa etária pediátrica. Crianças de até três anos de idade são mais suscetíveis ao aparecimento da alergia alimentar possivelmente por imaturidade da mucosa intestinal e do sistema imunológico. Neste caso, o tratamento mais adequado é a substituição do leite de vaca, e derivados, da dieta, por alimentos palatáveis, sem reações cruzadas com o leite de vaca, de custo acessível e que sejam adequadas quanto às propriedades nutricionais. Assim, produtos formulados à base de soja são considerados seguros e eficazes, proporcionando uma alternativa nutricional válida para uma parte expressiva de pacientes com alergia ao leite de vaca. Buscou-se, no presente trabalho, modificar o perfil de solubilidade, em relação ao pH , da proteína da soja utilizando-se hexametáfosfato de sódio, de modo que tal proteína apresentasse comportamento adequado durante o processo de digestão. Observou-se que o tratamento com hexametáfosfato 10% m/m foi eficiente em reduzir a solubilidade das proteínas da soja em valores de pH inferiores ao ponto isoelétrico. A partir do ponto isoelétrico a solubilidade do isolado modificado aumenta sensivelmente, inclusive ficando superior à solubilidade do isolado não modificado, o que facilita sobremaneira a utilização deste em produtos alimentícios onde a solubilidade é uma propriedade importante. A baixa solubilidade das proteínas em pH estomacal é importante para o processo de coagulação. Devem-se formar coágulos firmes, mas suficientemente macios para uma apropriada digestão no intestino delgado. A formação inapropriada de coágulo pode causar crescimento descontrolado de bactérias e desordens intestinais. Os índices de qualidade protéica foram determinados por ensaio biológico e os resultados foram considerados apropriados, principalmente quanto à digestibilidade que não apresentou diferença significativa em relação à caseína ($p > 0,05$).

ABSTRACT

OLIVEIRA, Gustavo Fonseca, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa. February, 2010. **Development and characterization of modified soy protein isolate with sodium hexametaphosphate.** Adviser: José Carlos Gomes. Co-advisers: Marco Túlio Coelho Silva and Hércia Stampini Duarte Martino.

Allergy to dairy products is the most common food intolerance in childhood. Because immaturity of intestinal mucosa and of immune system children under three years old are most susceptible to the onset of food allergy. This situation requires replace of dairy products in the diet by foods without cross-reactivity with cow's milk protein, affordable and which are appropriate regarding nutritional properties. Thus formulated products based on soy are considered safe and effective, providing an alternative nutritional solution for patients with allergy to dairy products. Modification of the profile of solubility in relation to pH of soy protein suspension was the approach in this study. Sodium hexametaphosphate was the chemical agent used to modify the protein solubility profile. It was observed that treatment with 10% w/w sodium hexametaphosphate was effective in reducing the solubility of soy proteins at pH values below the isoelectric point. Above the isoelectric point the solubility of modified soy protein isolate increased considerably, higher than the solubility of the unmodified protein isolate. This behavior facilitates the use of this modified soy protein isolate in products where solubility is an important parameter. The low solubility of proteins in the stomach pH is important for the clotting process. Firm clots but soft enough for a proper digestion in the small intestine should be formed. Inappropriate clot formation can cause uncontrolled growth of bacteria and intestinal disorders. The protein quality indices were determined by biological assay and the results revealed encouraging applications, especially because digestibility showed no significant difference compared to casein ($p > 0.05$).

1. INTRODUÇÃO

A alergia ao leite de vaca é a intolerância alimentar mais comum da faixa etária pediátrica, com vários relatos de literatura apontando prevalência de até 7% em crianças menores de 3 anos de idade. As manifestações clínicas são extremamente variadas, encontrando-se acometimento cutâneo, gastrintestinal, respiratório e, mais raramente, as manifestações cardiovasculares, incluindo choque anafilático (SAMPSON, 1992).

Crianças de até três anos de idade são mais suscetíveis ao aparecimento da alergia alimentar possivelmente por imaturidade da mucosa intestinal e do sistema imunológico, com conseqüente prejuízo na absorção e maior desenvolvimento de sensibilidade às macromoléculas absorvidas. Este processo pode ocorrer também no adulto, por mecanismo bastante parecido (SAMPSON, 1997).

O tratamento mais adequado é a exclusão do leite de vaca, e derivados, da dieta, por alimentos mais palatáveis, sem reações cruzadas com o leite de vaca, de custo acessível e que sejam adequadas quanto às propriedades nutricionais, garantindo bom desenvolvimento dos pacientes. Dentre esses alimentos, destacam-se aqueles à base de soja e os hidrolisados protéicos (SICHERER, 2000).

Segundo Muraro et al. (2002), formulações à base de soja são seguras e eficazes, proporcionando uma alternativa nutricional válida para pacientes com alergia ao leite de vaca. Além disso, elas são mais baratas e mais agradáveis sensorialmente, principalmente as do isolado protéico de soja, quando comparadas com formulações de alto grau de hidrólise.

As proteínas de soja são mais eficazes no tratamento de crianças alérgicas às proteínas do leite de vaca quando esta alergia é mediada por imunoglobulinas E (IgE), ou seja, alergia verdadeira. Entretanto, em crianças com intolerância ao leite de vaca, a ocorrência de intolerância à soja mostrou ser mais comum e, neste caso, formulações com alto grau de hidrólise são recomendadas (MORO et al., 2002).

A soja [*Glycine max (L.) Merrill*], um grão nativo da China, é uma das mais antigas culturas do extremo oriente. Durante séculos, os chineses e outros povos orientais, incluindo japoneses, coreanos e sudeste-asiáticos, costumavam usar a soja de várias formas como uma das mais importantes fontes de proteína e óleo para alimentação. Agora este grão é visto por alguns como uma arma contra a fome mundial e uma fonte de proteína do futuro. Mais recentemente, a soja tem sido investigada como uma possível arma contra doenças crônicas (LIU, 1997).

A proteína da soja supera todos os outros suplementos nos programas de nutrição ao redor do planeta. Esta vantagem sobre outras proteínas é atribuída à abundância da soja, baixo custo e um programa de pesquisa ativo bem como seu uso histórico como alimento no Oriente. Algumas pesquisas conseguiram reduzir o custo de produção de lisina e metionina sintéticas para uso em suplementação de aminoácidos em proteínas vegetais. A lisina é usada principalmente para suplementação da proteína da farinha de trigo na produção de pão. Entretanto, a fortificação de proteínas com lisina deve ter sua eficiência comparada com a suplementação por proteína de soja. Esta tem um excedente de lisina e, quando usada para complementar alimentos à base de cereais, ela não somente equilibra seu perfil de aminoácidos como também aumenta sua quantidade total de proteína (SMITH & CIRCLE, 1980).

A qualidade nutricional de uma proteína depende de muitos fatores, incluindo a digestibilidade e a composição em aminoácidos, devendo esses ser absorvidos em uma forma biodisponível. Portanto, para avaliar a qualidade nutricional de uma proteína é importante conhecer a sua composição aminoacídica e a biodisponibilidade dos aminoácidos presentes nessa proteína (FRIEDMAN, 1996).

Embora a função nutricional das proteínas e sua importância para a manutenção da boa saúde física e mental sejam reconhecidas, os conceitos de qualidade nutricional das proteínas têm sido amplamente discutidos e modificados nos últimos anos. A qualidade nutricional das proteínas depende basicamente de sua composição em aminoácidos essenciais, digestibilidade, biodisponibilidade e ausência de toxicidade e/ou propriedades antinutricionais.

A escolha do método depende de diversos fatores: reprodutibilidade de resultados, rapidez de obtenção de resultados e custos (ADLER-NISSEN, 1986).

Buscou-se, no presente trabalho, modificar o perfil de solubilidade, em relação ao *pH*, da proteína da soja utilizando-se hexametáfosfato de sódio, de modo que tal proteína apresentasse comportamento adequado durante o processo de digestão.

É importante ressaltar que, diferentemente de outros trabalhos, neste partiu-se do grão de soja integral e não de isolados comerciais.

A modificação química ocorreu durante a fase de ressuspensão do isolado precipitado antes da secagem em *spay-dryer*, na hipótese de uma maior interação do hexametáfosfato com as proteínas. Villalva (2008) modificou seu isolado durante a etapa de extração das proteínas em *pH* 10.

1.1. Objetivo geral

Desenvolver um isolado protéico de soja com perfil de solubilidade, em relação ao *pH*, modificado utilizando-se hexametáfosfato de sódio, determinar suas características físico-químicas e avaliar sua qualidade nutricional.

1.1.1. Objetivos específicos

- Obter um isolado protéico de soja modificado através da adição de hexametáfosfato de sódio em uma das etapas do processamento.
- Determinar as características físico-químicas deste isolado.
- Avaliar a qualidade nutricional através de ensaio biológico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Breve histórico, características e situação atual da soja

Acredita-se que a soja originou-se na China, provavelmente nas regiões norte e central, há cerca de 4.000 a 5.000 anos. A planta foi registrada pelo imperador chinês Shen Nong, por volta de 2838 a.C., quando descreveu as plantas da China em seu livro (LIU, 1997).

Durante séculos, o cultivo da soja permaneceu restrito apenas aos países orientais, sendo usada na preparação de grande variedade de alimentos frescos, fermentados e secos (MORAIS e SILVA, 1996).

A soja foi introduzida na Europa em 1712, pelo botânico alemão Engelbert Kaempfer. Na época, o botânico relacionou a leguminosa e os detalhes dos vários produtos alimentícios fabricados pelos japoneses (RUSSEL, 2004).

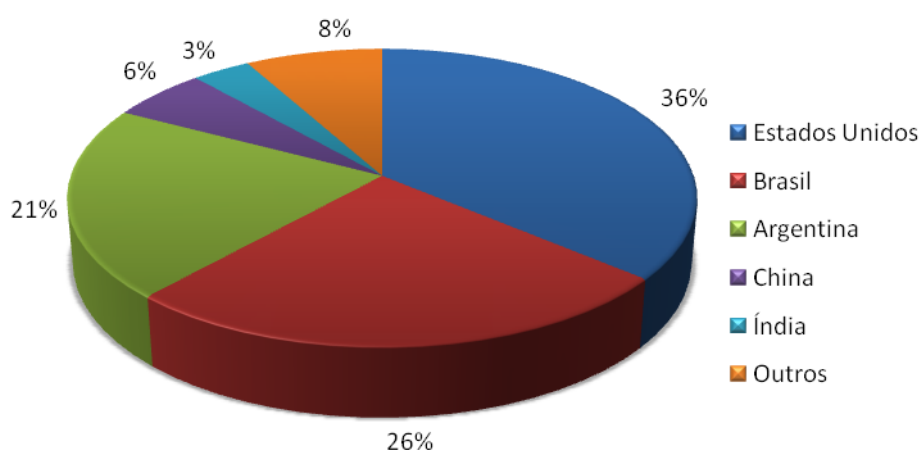
Nos Estados Unidos a soja passou a ser utilizada a partir de 1804. Primeiramente, o processamento visava apenas a obtenção de óleo, com toda a massa restante destinada à alimentação de gado leiteiro e ao uso como fertilizante. Após a Segunda Guerra Mundial, quando foi detectada uma deficiência mundial de proteínas para a alimentação humana, foi dada atenção especial à soja havendo grandes avanços em novas tecnologias para a viabilização e aceitação de suas proteínas na alimentação humana (PEARSON, 1983).

No Brasil, o agronegócio da soja teve sua expansão apenas na década de 1970, ganhando competitividade e elevando o País à condição de um dos maiores produtores e exportadores mundiais (GOMES, 2001).

Botanicamente, a soja pertence à família *Leguminosae*, à subfamília *Papilionoideae* e ao gênero *Glycine*, L. A forma cultivada, denominada *Glycine max* (L.) Merrill, cresce anualmente (LIU, 1997).

Morfológicamente, a semente de soja é como a maioria das leguminosas, não apresenta praticamente endosperma; consiste de um tegumento e um embrião bastante desenvolvido. Este último contém dois cotilédones que funcionam como estrutura de reserva. O tegumento protege o embrião de fungos e infecções bacterianas antes e depois do plantio (MULLER, 1981).

A soja se tornou a mais importante *commodity* agrícola, e ainda continua com forte crescimento. A estimativa de produção mundial para a safra 2009/2010 está em aproximadamente 253 milhões de toneladas, com os maiores produtores sendo Estados Unidos, Brasil, Argentina, China e Índia (Figura 1) (USDA, 2010).



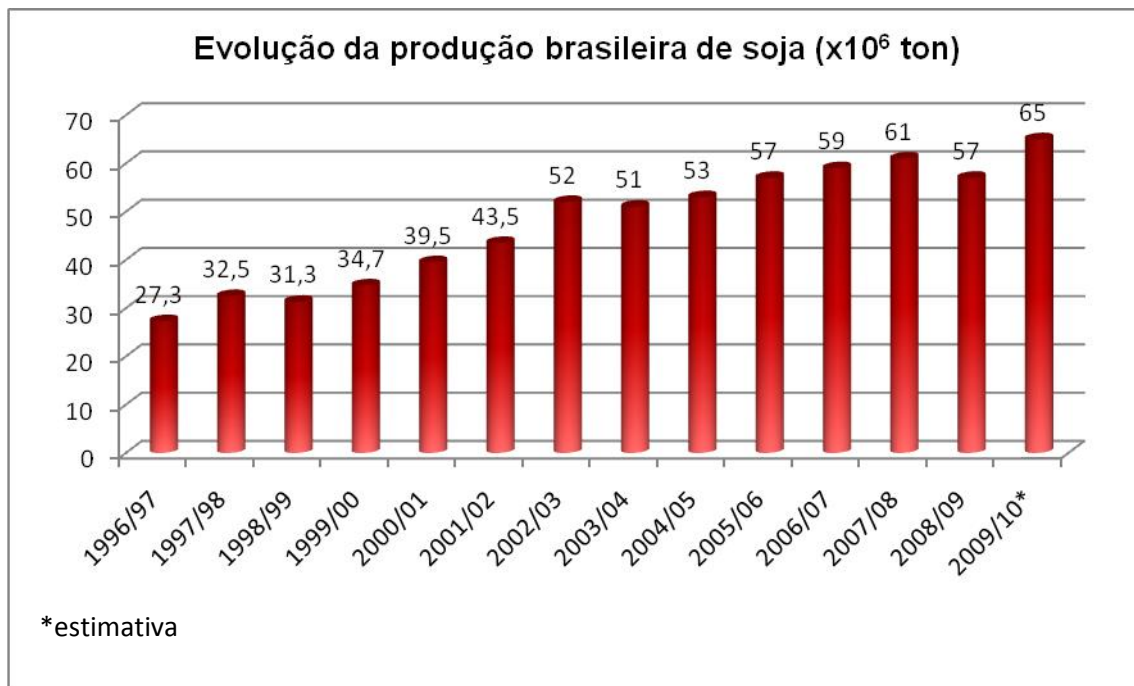
Fonte: adaptado de USDA, 2010

Figura 1 – Projeção da produção mundial de soja (safra 2009/2010)

A produção nacional, estimada em aproximadamente 65 milhões de toneladas, representa um acréscimo de 14% (8 milhões de toneladas) sobre o volume de 57 milhões de toneladas produzidas em 2008/09. O Estado de Mato Grosso lidera o ranking da produção nacional com um volume estimado em 18,65 milhões de toneladas, em uma área estimada em 6,14 milhões de hectares, seguido do Paraná (13,28 milhões de toneladas) e do Rio Grande do Sul com uma produção de 8,76 milhões de toneladas. Estes resultados vêm ao encontro das expectativas do mercado (Interno e Externo) de aumento significativo da produção nacional de soja para a temporada 2009/10, com a soja conquistando áreas das lavouras de algodão e milho em função das

condições de mercado e da maior liquidez e rentabilidade que a soja apresenta, comparativamente às demais culturas de verão (CONAB, 2010).

A evolução da safra brasileira de soja pode ser observada pela Figura 2.



Fonte: adaptado de USDA, 2010

Figura 2 – Evolução da safra brasileira de soja

2.2. Composição da soja

A composição da semente da soja depende de muitos fatores como variedade, época de plantio, local geográfico e clima. A porcentagem de proteínas na soja varia de 39,5% a 50,2% e a porcentagem de óleo de 16,3% a 21,6%. Mesmo considerando esta variação, a soja é um dos mais competitivos e valiosos produtos agrícolas, devido à sua composição química *sui generis*, pois possui alto teor de proteína e lipídios comparados com outras leguminosas e cereais de expressão comercial. Outros componentes valiosos encontrados na soja incluem fosfolipídios, vitaminas e minerais (LIU, 1997).

Segundo Liu (1997), a soja contém muitas substâncias secundárias como inibidores de tripsina, fitatos e oligossacarídeos. Outras como isoflavonas, são

registradas pela sua poderosa habilidade na diminuição do risco de ocorrência do câncer e outras enfermidades.

Em média, a soja é constituída de 40% de proteína, 35% de carboidratos, 20% de lipídios e 5% de cinzas (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição química da soja (% em base seca)

Parte	Proteínas	Lipídeos	Carboidratos	Cinzas
Grão inteiro	40	20	35	5
Cotilédone	43	23	29	5
Casca	9	1	86	4,3
Hipocótilo	41	11	43	4,4

Fonte: adaptado de LIU (1997)

2.2.1. Proteínas da soja

Segundo Saidu (2005), a maior parte das proteínas está armazenada nos cotilédones, sob a forma de aleuronas ou corpos protéicos. A maioria delas é globulina e tem massa molar acima de 100 kDa. As globulinas da soja têm solubilidade mínima em valores de pH entre 3,7 e 5,2 e máxima em pH entre 1,5 e 2,5 e acima de pH 6,3. Além disso, seu ponto isoelétrico está situado entre pH 4,2 e 4,6. A proteína da soja tem maior valor nutricional que outras fontes de proteínas vegetais destinadas à alimentação humana, apresentando alto teor de lisina.

2.2.1.1. Classificação das proteínas

As proteínas podem ser classificadas segundo vários critérios, alguns deles são os seguintes:

2.2.1.1.1. Coeficiente de sedimentação

As proteínas da soja, solúveis em água, são caracterizadas de acordo com a sua massa molar, ou por seus coeficientes de sedimentação, usando ultracentrifugação para separar as proteínas. Sob condições apropriadas de

tampão, as proteínas de soja apresentam quatro frações após a ultracentrifugação, designadas como 2, 7, 11 e 15S, em que S é a unidade Svedberg (Tabela 2). As frações 7S (β -conglucina) e 11S (glicina) são os principais componentes protéicos e constituem a maior parte da proteína total. De particular importância entre os componentes de menor ocorrência estão os inibidores de tripsina, que fazem parte da fração 2S, que são fatores antinutricionais. Esses fatores, se não inativados, têm efeito negativo na digestibilidade e, conseqüentemente, na eficiência nutricional da proteína. Outro componente que pode causar problemas nas aplicações da proteína da soja é a lipoxigenase. Essa enzima catalisa a oxidação de lipídios que contêm ácidos graxos insaturados, e os produtos da oxidação conferem características indesejáveis ao alimento, como o sabor de “feijão cru” (MCKLEM, 2002; PEARSON, 1983; RADOVIC et al., 1999).

Tabela 2 – Componentes das frações protéicas da soja separadas por ultracentrifugação

Sedimentação	Proporção (%)	Componentes	Massa (kDa)
2S	22	Inibidores de tripsina Citocromo C	8 – 21,5 12
7S	37	Hemaglutinina Lipoxigenase β -amilases 7S globulina	110 102 61,7 180 – 210
11S	31	11S globulina	350
15S	11	-	600

Fonte: adaptado de PEARSON (1983).

2.2.1.1.2. Função biológica

Existem dois tipos de proteínas: metabólicas e de reserva. As metabólicas incluem enzimas e proteínas estruturais, e estão ligadas à atividade celular normal, incluindo a síntese do segundo tipo. As proteínas de reserva, juntamente com os depósitos de óleo, são formadas durante o desenvolvimento do grão. Após a germinação do grão, vão fornecer nitrogênio e esqueletos de carbono para o desenvolvimento da planta. A maior parte das proteínas da soja é deste tipo (LIU, 1997).

2.2.1.1.3. Padrão de solubilidade

Osborne dividiu as proteínas em cinco classes baseadas na solubilidade em diferentes solventes, estes grupos são conhecidos como as frações de Osborne. Depois de extrações contínuas de materiais biológicos usando água, solução salina diluída, etanol a 70% e álcali obtiveram-se 5 frações protéicas: albumina, proteínas solúveis em água, globulina, proteínas solúveis em soluções salinas diluídas, prolaminas, solúveis em etanol e glutelinas, solúveis em soluções alcalinas. As proteínas das leguminosas são principalmente albuminas e globulinas, sendo que estas representam a maior fração (DANIELS et al. 1977).

2.2.2. Lipídeos da soja

Os grãos da soja armazenam seus lipídios principalmente na forma de triglicerídeos, em organelas denominadas corpos lipídicos. Após a maturação da semente, eles são encontrados nas células vizinhas às aleuronas (PEARSON, 1983).

Os lipídios da soja são constituídos por triglicerídeos, fosfolipídeos, matéria insaponificável (esteróis, tocoferóis, hidrocarbonetos) e ácidos graxos livres. A lecitina, que é constituída dos três mais importantes fosfolipídeos, a fosfatidilcolina, a fosfatidiletanolamina e o fosfatidilinositol, é um subproduto do óleo de soja e amplamente utilizada como emulsionante (RUSSEL, 2004).

O ácido graxo encontrado em maior porcentagem no óleo de soja é o ácido linoléico, decrescendo os demais ácidos graxos na seguinte ordem: oléico, palmítico, linolênico e ácido esteárico (SAIDU, 2005).

Na Tabela 3 aparece a composição básica dos triglicerídeos dos grãos de soja segundo Liu (1997).

Tabela 3 – Triglicerídeos na soja

Ácido graxo	Carbonos	Insaturações	Proporção (%)
Palmítico	16	0	8 – 17
Esteárico	18	0	3 – 30
Oléico	18	1	25 – 60
Linoléico	18	2	25 – 60
α-linolênico	18	3	2 – 15

Fonte: adaptado de LIU (1997)

2.2.3. Vitaminas

As vitaminas hidrossolúveis presentes na soja são: tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), niacina (vitamina B3), ácido pantotênico (vitamina do complexo B) e ácido fólico. Já as vitaminas lipossolúveis biodisponíveis encontradas na soja são a A e E (LIU, 1997).

Quando as proteínas da soja são ingeridas em quantidade equivalente à metade das necessidades humanas diárias, o grão consumido proverá também vitaminas na proporção de 30 a 50% da Ingestão Diária Recomendada (IDR), sendo as principais a tiamina, a riboflavina e a niacina (PEARSON, 1983).

2.2.4. Minerais

Dentre os minerais presentes na soja, o potássio apresenta a maior concentração, seguido por fósforo, magnésio, enxofre, cálcio, cloro e sódio, devendo ser ressaltado que o conteúdo destes minerais atinge valores médios entre 0,2 e 2,1% (PEARSON, 1983).

Também, verifica-se uma quantidade de cálcio biodisponível presente no grão de soja cerca de quatro vezes maior que a quantidade que se faz presente no extrato hidrossolúvel de soja. Este último tem uma quantidade do mineral aproximadamente igual àquela presente no leite de vaca. Os minerais presentes em menores proporções na soja e nos seus produtos incluem o silício, ferro, zinco, manganês, cobre, molibdênio, flúor, cromo, selênio, cobalto, cádmio, mercúrio, iodo, chumbo e arsênio, podendo o conteúdo destes

minerais variar de 0,01 a 140 ppm. Assim como outros componentes, os minerais na soja também são influenciados pela variedade, estação e localidade de plantio (PERKINS, 1995; ENDRES, 2001).

A Tabela 4 apresenta a composição mineral típica de um isolado protéico de soja.

Tabela 4 – Composição mineral típica de um isolado protéico de soja

Elemento	Concentração
Arsênio	0,2 ppm
Cádmio	<0,2 ppm
Cálcio	0,18%
Cloro	0,13%
Cromo	<1,0 ppm
Cobalto	<1,0 ppm
Cobre	12 ppm
Flúor	<10 ppm
Iodo	<10 ppm
Ferro	160 ppm
Lítio	<0,2 ppm
Magnésio	380 ppm
Manganês	17 ppm
Mercúrio	<0,5 ppm
Molibdênio	<0,3 ppm
Fósforo	0,76%
Potássio	960 ppm
Selênio	0,36 ppm
Sódio	1,10%
Enxofre	-
Zinco	40 ppm

Fonte: adaptado de PEARSON (1983)

2.2.5. Fibras e Carboidratos

A fibra dietética é o conjunto de compostos que resistem à hidrólise por meio das enzimas do aparelho digestivo. Esses componentes incluem celulose, hemicelulose, lignina, substâncias pécticas, gomas e mucilagens. Elas aumentam a velocidade do trânsito intestinal (celulose) e alteram a microflora para uma microflora mais saudável (celulose, hemicelulose, galactanas e

pentosanas). As fibras estão presentes em quantidades significativas na soja e têm sido apontadas como fator benéfico à saúde, como a redução do risco de câncer de cólon, do colesterol sanguíneo, da pressão sanguínea e dos níveis de glicose no sangue (ENDRES, 2001; PEREIRA e OLIVEIRA, 2004).

Os carboidratos são o segundo componente majoritário no grão de soja. A soja contém, aproximadamente, 30% de carboidratos totais, sendo 15% carboidratos solúveis e 15% insolúveis. Basicamente, os oligossacarídeos na soja são açúcares não redutores, contendo duas ou mais unidades de frutose, glicose e galactose. Dentre os carboidratos solúveis, a rafinose e estaquiase recebem mais atenção, principalmente pela sua presença estar relacionada com a flatulência e dores abdominais causados pelo consumo da soja e os seus produtos. Isto se deve ao fato de o organismo humano não possuir a enzima α -galactosidase, responsável pela hidrólise destes oligossacarídeos. Por isto, eles não são digeridos no duodeno, passando intactos pelo intestino delgado, sendo metabolizados no intestino grosso pelos microorganismos que contêm esta enzima e produzindo gases como dióxido de carbono, nitrogênio, hidrogênio etc (CRISTOFARO et al. 1974, LIENER 1994).

Os carboidratos insolúveis são componentes estruturais encontrados, principalmente, nas paredes celulares. Eles incluem celulose, hemicelulose e pectina. O tegumento representa aproximadamente 8% do grão de soja, contendo 86% de carboidratos (LIU, 1997).

2.2.6. Isoflavonas

As isoflavonas são compostos difenólicos heterocíclicos, de ocorrência natural, cuja distribuição no reino vegetal está praticamente limitada à subfamília *Papilionoideae* das *Leguminosae*, em que as sementes de soja destacam-se como a principal fonte (MURKIES, 1998).

As isoflavonas ocorrem naturalmente em vegetais, principalmente sob a forma glicosídica. Após a ingestão, elas são hidrolisadas e desmetiladas pelas enzimas hidrolíticas das bactérias intestinais, liberando as formas agliconas

livres, bem como os produtos demetilados. No lúmen, as bactérias convertem grande parte dessas agliconas em outras moléculas (SAIDU, 2005).

Flavonóides são considerados antioxidantes potentes, reagindo com radicais livres e inibindo a oxidação de lipídios. Estudos epidemiológicos mostram uma relação inversa entre uma dieta com ingestão de flavonóides e mortalidade por doenças coronárias. As isoflavonas, que juntamente com outros compostos vegetais denominados fitoquímicos, não são reconhecidos oficialmente como nutrientes, mas são reconhecidos pelo efeito benéfico à saúde da mesma forma que as vitaminas, e os minerais (MESSINA, 1994).

Nos últimos anos, vários trabalhos científicos têm sido publicados, expondo os diversos modos nos quais as isoflavonas podem ajudar na manutenção da saúde humana. Devido ao extensivo consumo dos produtos de soja pelos asiáticos, estudos epidemiológicos têm mostrado uma possível relação entre as isoflavonas e a prevenção de doenças crônico-degenerativas, como doenças cardiovasculares, osteoporose e cânceres de mama, cólon e próstata, quando comparado com a dieta dos ocidentais, pobre nessa leguminosa (SAIDU, 2005).

2.3. Propriedades funcionais das proteínas da soja

Além das funções nutricionais, as proteínas têm um papel importante nos atributos sensoriais dos alimentos. A preferência dos consumidores por certos alimentos é baseada predominantemente nas propriedades sensoriais como cor, sabor e textura dos alimentos (HOOGENKAMP, 1991).

O termo propriedade funcional tem sido definido como qualquer propriedade de um alimento ou componente de um alimento, excetuando-se as nutricionais, que afeta sua utilização como ingrediente em um alimento, principalmente sobre o caráter sensorial (HALL, 1996).

As propriedades funcionais de uma proteína como solubilidade, emulsificação, viscosidade, formação de espuma e gelificação refletem efeitos específicos no processamento e vida útil dos alimentos (LI, 2002).

As propriedades funcionais das proteínas podem ser modificadas por meio da utilização de agentes físicos, químicos e biológicos, nos processos de obtenção ou isolamento de proteínas. O tipo de extração empregado, a temperatura, o pH, a força iônica e as condições de secagem e estocagem da proteína isolada são fatores que podem afetar as suas propriedades funcionais (DAMODARAN,1996).

2.3.1. Solubilidade

A solubilidade de uma proteína é definida como a porcentagem de proteína que se mantém em solução ou dispersão coloidal sob condições específicas e que não sedimenta com forças centrífugas moderadas (ORDÓÑEZ et al., 2005).

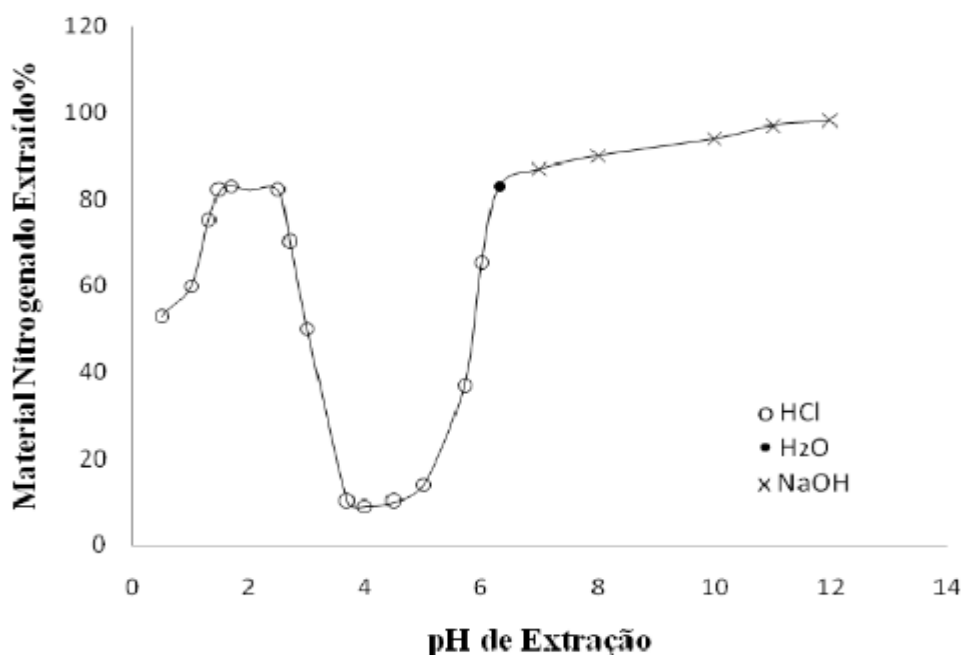
A solubilidade é uma das propriedades mais importantes das proteínas de soja, sendo necessário conhecer o comportamento dela em diferentes meios para uma aplicação adequada. As propriedades funcionais como a formação de espuma, emulsificação e formação de gel são afetadas pela solubilidade da proteína (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A solubilidade de uma proteína é uma manifestação termodinâmica do equilíbrio entre interações proteína-proteína e proteína-água. As maiores interações que influenciam as características de solubilidade das proteínas são a natureza hidrofóbica e iônica. As interações hidrofóbicas favorecem as interações proteína-proteína, que resulta em um decréscimo na solubilidade, enquanto interações iônicas favorecem as interações proteína-água e resultam em aumento de solubilidade. A mudança de pH, portanto, altera a distribuição de sítios polares catiônicos, aniônicos e não-iônicos na molécula de proteína, que afetam as interações água-proteína e proteína-proteína (FENNEMA, 1996).

Segundo Damodaran (1997), a solubilidade das proteínas em soluções aquosas dependem do pH. Para a maioria das proteínas a menor solubilidade se consegue no ponto isoelétrico (PI), onde elas possuem carga líquida igual a zero, sendo a interação hidrofóbica máxima com a água. Neste ponto, observa-se também que a repulsão eletrostática e hidratação iônica são mínimas.

Quando os valores de pH são superiores ou inferiores ao ponto isoelétrico as proteínas têm carga e a repulsão eletrostática e hidratação iônica promovem a solubilização.

Na Figura 3 aparece uma curva de solubilidade em função do pH típica das proteínas da soja.



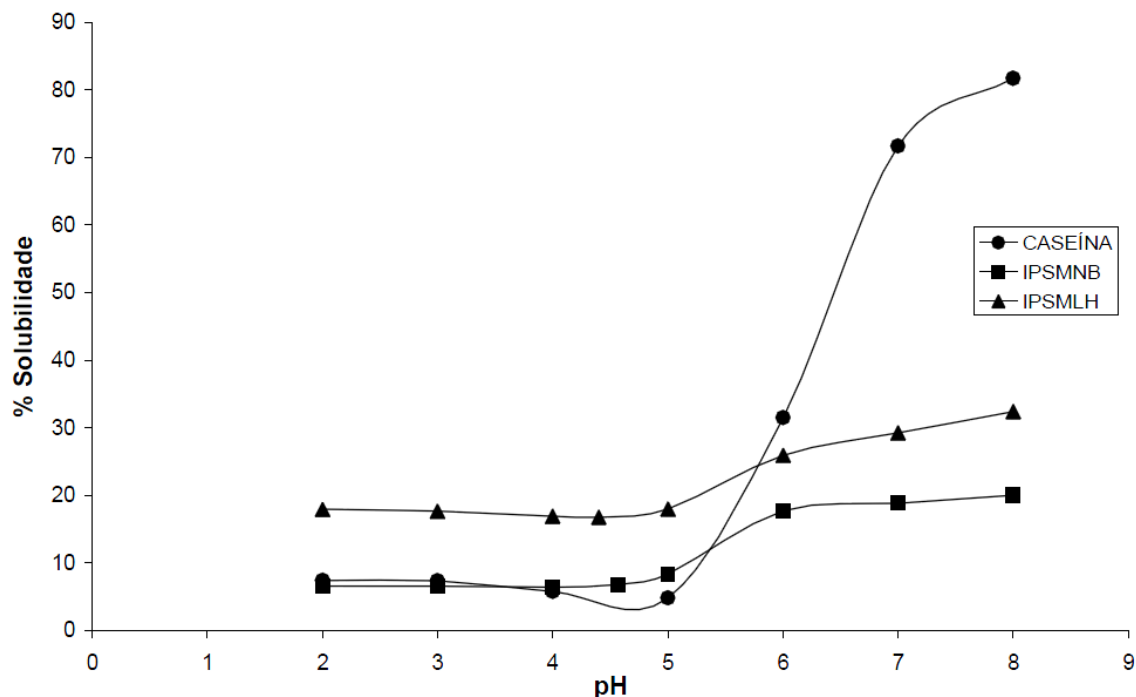
Fonte: Wolf (1997)

Figura 3 – Perfil de solubilidade em função do pH das proteínas da soja

Além do efeito da força iônica, certos tipos específicos de íons de sais exercem efeitos sobre as características de solubilidade das proteínas. Enquanto o efeito da força iônica de sais atua sobre as forças eletrostáticas da proteína, os efeitos iônicos específicos de sais estão relacionados com seus efeitos sobre as forças hidrofóbicas (DAMODARAN, 1997).

Silva (2007) estudou o perfil de solubilidade da caseína humana e a comparou com a curva de solubilidade dos isolados protéicos comerciais (Samprosoy 90NB e Samprosoy 90LH) que foram modificados. Nesta modificação química, foram preparadas suspensões de isolados protéicos de soja comerciais em concentrações de 10% m/v. O meio foi acidificado até pH 3,0 com HCl 0,1 mol/l, por 1 hora. Após a acidificação, foi adicionado 0,5% de

polifosfato, seguidamente atingiu-se pH 7 com NaOH 0,1 mol/l e posteriormente as proteínas foram desidratadas em spray dryer; obtendo-se os isolados protéicos de soja modificados. A Figura 4 mostra os perfis de solubilidade encontrados.



Fonte: adaptado de Silva (2007)

Figura 4 – Perfil de solubilidade dos IPS modificados e da caseína humana

2.3.2. Emulsificação

Segundo Hill (1996), uma emulsão pode ser definida como a mistura de dois líquidos imiscíveis, um dos quais é disperso na forma de glóbulos (fase dispersa) no outro líquido (fase contínua). A principal característica de um agente emulsificante é a de possuir, na mesma molécula, partes hidrofílicas e hidrofóbicas, ou seja, apresenta característica anfifílica.

A capacidade de emulsificação dos produtos protéicos de soja aumenta com o aumento da solubilidade da proteína, enquanto o isolado protéico de soja comercial, que é geralmente seco pelo processamento térmico, tem uma fraca propriedade emulsificante, visto que apresenta baixa solubilidade (MITIDIERI e WAGNER, 2002).

2.3.3. Espumabilidade

A capacidade de uma proteína formar espuma refere-se à expansão de volume da dispersão protéica. A incorporação de ar por batimento, agitação ou aeração é útil em diversos sistemas alimentícios, como produtos de padaria e confeitaria, cujo ganho de volume é de grande interesse, em razão da necessidade de incorporação de ar ou CO₂. É uma propriedade funcional de interface que depende da natureza da proteína, do pH, da solubilidade, da temperatura (desnaturação), da presença de sais, da presença de outros constituintes nos alimentos (lipídios e açúcares) e da concentração de proteína (WILDE e CLARK, 1996).

Para a formação de espuma a proteína deve ser solúvel em água e flexível para formar uma película coesiva de água-ar. Para que a película seja estável, deve possuir força mecânica e viscosidade para prever rotura e coalescência. A formação de espuma das proteínas de soja está correlacionada com a sua solubilidade. Alguns estudos mostram que as propriedades de formação de espuma são superiores para proteínas isoladas em comparação com outros produtos de soja como proteínas concentradas ou farelos. A presença de gordura é a principal causa de desestabilização de espuma (LIU, 1997).

2.3.4. Gelificação

Géis de proteína consistem de uma rede tridimensional em que a água é encapsulada e, freqüentemente, são considerados por ter uma fase intermediária entre um sólido e um líquido (YATSUMATSU et al. 1972).

A gelificação ocorre quando as moléculas desnaturadas pelo calor se agregam para formar uma rede protéica orientada (MATSUMURA e MORI, 1996).

Os principais fatores que afetam a gelificação da proteína de soja incluem a concentração de proteína, o tempo e a temperatura de aquecimento, a concentração salina e as condições de resfriamento, visto que todos eles

afetam as interações proteína-água ou proteína-proteína. Enquanto a farinha e o concentrado protéico de soja formam géis macios e fracos, os isolados protéicos formam géis firmes, duros e resistentes (LIU, 1997).

2.3.5. Capacidade de absorção e retenção de água

Os termos absorção e retenção de água envolvem a interação entre a proteína e a água, e expressam a quantidade máxima de água que o material protéico pode captar e reter durante a formulação do alimento (FENNEMA, 1996).

Segundo Hutton e Campbell (1981), a concentração de proteínas está diretamente relacionada com a quantidade total de água que elas podem absorver. O isolado protéico de soja apresenta uma maior capacidade de absorção de água, aproximadamente 35 g/100g, em razão do seu maior conteúdo protéico dentre os produtos protéicos de soja. As proteínas são consideradas como as primeiras responsáveis na absorção de água, embora outros constituintes e aditivos tenham essa capacidade.

Os principais fatores que afetam a capacidade de absorção de água de uma proteína incluem a composição aminoacídica, a estrutura e conformação da proteína, a polaridade e carga na superfície, a força iônica, o pH e a temperatura (DAMODARAN, 1996).

2.4. Fatores que influenciam na qualidade nutricional das proteínas

Segundo Sgarbiere (1996), os principais agentes responsáveis pela alteração das propriedades das proteínas em alimentos são: tratamentos térmicos, formação de complexos com carboidratos, lipídios e compostos fenólicos, acidez ou alcalinidade elevadas, além da presença de fatores antinutricionais.

Os inibidores de proteases são considerados os principais fatores responsáveis pela diminuição da digestibilidade de proteínas, pois estes inibem a ação das enzimas tripsina e quimotripsina que agem sobre a hidrólise das

proteínas da dieta. Tal efeito é evidenciado pela relação entre o aumento da qualidade protéica, medida pelo PER, em ratos alimentados com soja tratada termicamente, cujos inibidores de proteases foram inativados (LIU, 1997).

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 elas (TORRE, 1991).

O valor nutricional das proteínas é aumentado pelo processamento térmico, especialmente pelo calor úmido. Isso decorre, provavelmente, da desnaturação das proteínas e dos fatores antinutricionais de natureza protéica, já que para exercer os seus efeitos biológicos in vivo esses fatores precisam manter a sua integridade estrutural. 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 ao mesmo tempo, prevenir a degradação de aminoácidos essenciais (POEL et al. 1990).

De acordo com Cheftel (1979), o processamento dos alimentos pode envolver o uso de calor, agentes oxidantes (como peróxido de hidrogênio), solventes orgânicos, álcalis e ácidos, com o objetivo de melhorar sabor, textura, propriedades funcionais e sensoriais, além de inativar fatores antinutricionais. Esses tratamentos, entretanto, podem levar à formação da reação de Maillard, oxidação de aminoácidos sulfurados e ligações cruzadas entre peptídeos, diminuindo, assim, a qualidade e biodisponibilidade de aminoácidos essenciais.

Outro fator que compromete a qualidade das proteínas, especialmente as de leguminosas, é a limitação dos aminoácidos sulfurados, metionina e cisteína. A metionina é considerada um aminoácido limitante do valor biológico das proteínas de leguminosas, por ser nutricionalmente essencial para o organismo humano. A cisteína, apesar de não constituir um aminoácido

essencial, tem a metionina como intermediário na biossíntese, tornando, assim, esse aminoácido ainda mais limitante (SGARBIERI, 1996).

2.5. Digestão e absorção em mamíferos monogástricos

O sistema digestivo de todo mamífero recém nascido é naturalmente adaptado ao leite materno. No caso do porco, a troca do leite de porca por outro tipo de leite e outro sistema de alimentação no caso de desmame precoce, pode associar-se a distúrbios gastrointestinais e depressão de crescimento (FERREIRA et al, 1988).

Por causa de suas características nutricionais, a soja é usada como ingrediente em diversas formulações alimentícias. Há alguns problemas relacionados com a absorção e digestão dessa proteína no trato gastrointestinal de leitões em fase de aleitamento, fato que decorre da inadequação do sistema enzimático digestivo do suíno, nessa idade, à proteína de soja (MURAD, 1993).

Segundo Decuypere et. al. (1981), o tipo de coágulo formado no estômago pode estimular, de maneira diferente, a atividade das enzimas proteolíticas, gástricas e pancreáticas, por esse motivo é essencial a formação adequada do coágulo para que a passagem do leite pelo estômago permita uma ação mais eficiente das enzimas. O coágulo parece ter função de armazenamento, em que a proteína e a gordura seriam lentamente digeridas no intestino delgado, prevenindo sobrecarga intestinal e aumento da carga bacteriana.

2.6. Alergia e intolerância a proteínas

A alergia alimentar é uma reação de imunidade, segundo a *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*. A substância agressora ou antígeno, geralmente proteína, atravessa a mucosa intestinal, entra na circulação e é percebida pelo sistema imunológico, que estimula a produção de anticorpos específicos, pertencentes a uma ou mais classes de

imunoglobulinas, com propriedades físicas e químicas características (SPRIKKELMAN, 2000).

Quando um antígeno e um anticorpo específico se combinam formam um complexo, o que produz no organismo efeitos biológicos de uma reação alérgica, como vômito, diarreia, rinite alérgica, dermatite atópica ou eczema atópico e outros sintomas (HEINE et. al., 2002).

Segundo a *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*, a intolerância alimentar é definida como uma resposta fisiológica alterada a certos alimentos ou aditivos alimentares por diversos mecanismos, que, geralmente, é decorrente de uma deficiência ou anomalia enzimática, de um problema digestivo ou até mesmo de uma reação psicológica (SPRIKKELMAN, 2000).

Rozenfeld et al. (2002) apontaram a caseína, a β -lactoglobulina e a α -lactalbumina do leite de vaca como os agentes mais freqüentemente envolvidos nas reações alérgicas.

Segundo Brandão et. al. (2008), o uso exclusivo do leite humano até aos seis meses de vida, reduz significativamente a incidência cumulativa de alergia ao leite de vaca, durante os primeiros 18 meses de vida. A alergia ao leite de vaca é uma das alergias mais comuns em crianças, talvez porque o leite de vaca usualmente é o veículo para a primeira proteína estranha a ser introduzida no estômago das crianças.

Embora o leite de vaca esteja envolvido com problemas de alergia, cerca de 50% das crianças apresentam alergia simultânea às proteínas de outros alimentos, incluindo ovos, soja, amendoim, achocolatados, peixes e trigo. Cerca de 50 a 80 % das crianças que apresentam alergia ao leite também podem apresentar alergia a inalantes alérgicos, como pólen, pêlos (de gato, por exemplo), mofo, poeira de carpetes etc. (CORDLE, 2004).

2.7. Alergenicidade relacionada aos produtos de soja

De acordo com Liu (1997), a alergenidade relacionada à soja está ligada à sua fração protéica. Produtos de soja, como o óleo e a lecitina de soja, normalmente não contêm alérgenos, a menos que uma contaminação protéica tenha ocorrido. Em estudos com animais, principalmente bezerros, a maior parte das proteínas de soja, incluindo as globulinas de armazenamento, inibidores de proteases e lectinas, tem mostrado uma participação direta na ocorrência das reações imunológicas. Entretanto, dentre as proteínas da soja, a β -conglucina é um forte alérgeno, por provocar hipersensibilidade em bezerros. Além disso, proteínas de soja com baixa massa molar, denominadas P22-25, demonstraram forte indução na produção de anticorpos em bezerros. Entretanto, sabe-se que um tratamento térmico eficiente nesses produtos é suficiente para eliminação desta alergenidade, visto que geralmente os produtos de soja são considerados por serem hipoalergênicos.

Segundo Cordle (2004), a soja tem uma atividade imunológica menor em comparação com as outras fontes protéicas estudadas (leite de vaca, ovo, trigo e amendoim), indicando-a como uma boa alternativa ao leite de vaca, mas crianças que têm alergia ao leite de vaca desenvolvem também, com o tempo, alergia à soja.

Embora o tratamento térmico possa eliminar a maioria dos componentes responsáveis por induzir uma reação imunológica, alguns componentes da proteína de soja, com forte atividade alérgica, podem ser resistentes ao aquecimento e outros processamentos. Portanto, esses componentes também podem ser resistentes à digestão e, conseqüentemente, permanecer intactos ao longo do estômago e intestino e induzir reações adversas em alguns humanos e animais (LIU, 1997).

O fato de a proteína da soja ser antigênica, não significa que seja obrigatoriamente alérgica. Pode existir hipersensibilidade à soja, sem que obrigatoriamente aconteça um fenômeno alérgico, isto é, formação de anticorpos específicos (SILVA, 2007).

Segundo Zeiger et al. (1999), as formulações de isolado protéico de soja devem ser consideradas como alternativa segura e capaz de promover um bom desenvolvimento para a maioria das crianças com alergia ao leite de vaca.

2.8. Métodos para avaliar a qualidade protéica

Os métodos para avaliação das propriedades nutricionais das proteínas podem ser divididos em três categorias principais: químicos e, ou, bioquímicos, biológicos e microbiológicos. Alguns são consagrados no que diz respeito à qualidade nutricional da proteína de soja (HERNÁNDEZ et al., 1996).

2.8.1. Coeficiente de eficiência protéica (PER)

O PER determina a capacidade de uma proteína promover o crescimento de ratos recém-desmamados. Representa a relação de ganho de peso relacionado à quantidade de proteína consumida. A relação de eficiência protéica (PER) é ainda utilizada freqüentemente como medida biológica para determinar a qualidade de proteínas. Os valores de PER são determinados em testes com ratos, em que os animais são alimentados com uma dieta contendo uma ração de cerca de 10% de proteínas. O PER é o valor do crescimento de ratos em gramas por grama de proteína ingerida. Esse valor encontrado é comparado ao de uma proteína de referência, normalmente a caseína bovina. $PER > 2,0$ indica proteína de alta qualidade; entre 1,5 e 2,0, qualidade intermediária; e $PER < 1,5$, baixo valor nutricional (FRIEDMAN, 1996).

2.8.2. Razão protéica líquida (NPR)

O NPR constitui uma modificação do PER e acrescenta ao ganho de peso do grupo com dieta protéica a perda de peso de um grupo com dieta aprotéica. O NPR é determinado no 14º dia do experimento, tomando-se o ganho de peso do grupo-teste mais a perda de peso do grupo de dieta aprotéica, em relação ao consumo de proteína do grupo-teste. Essa soma de perda de peso elimina possíveis erros ocorridos nos valores de PER decorrentes de variações nos teores de proteína na dieta (BENDER e DOELL, 1957).

2.8.3. Escore químico de aminoácidos (EQ)

O EQ é uma técnica química considerada rápida, consistente e barata. Esse índice determina o conteúdo de aminoácidos presentes em uma fonte de proteínas e compara os valores obtidos com os de uma proteína ideal tendo como referência as necessidades de crianças ente 2 e 5 anos de idade (FAO/WHO, 2007).

2.8.4. Escore químico corrigido pela digestibilidade protéica (PDCAAS)

O PDCAAS (*Protein Digestibility using Corrected Amino Acid Score*) é um método baseado no requerimento de aminoácidos para humanos e na digestibilidade da proteína, sendo considerado o método mais apropriado para avaliar a qualidade protéica de alimentos e fórmulas infantis. Entretanto, o método tem apresentado algumas limitações, como a falta de padronização e reprodutibilidade nas análises da composição em aminoácidos sulfurados e triptofano e a incapacidade de se distinguir as formas D e L (SCHAAFSMA, 2005).

Esse método consiste em adicionar ao escore químico mais um componente, que é a digestibilidade protéica. O escore químico de aminoácido corrigido pela digestibilidade protéica (PDCAAS) é definido como a relação entre o conteúdo do primeiro aminoácido limitante na proteína (em mg/g), e o conteúdo daquele aminoácido em uma proteína de referência (mg/g), multiplicado pela digestibilidade verdadeira. São recomendadas como padrão as necessidades de aminoácidos essenciais para crianças ente 2 e 5 anos de idade. Valores de PDCAAS maiores que 1,0 são considerados de fonte protéica de boa qualidade, contendo os aminoácidos essenciais capazes de suprir as necessidades da dieta de humanos (FAO/WHO, 2007).

2.8.5. Digestibilidade protéica (D)

Digestibilidade protéica é definida como a porcentagem da proteína ingerida que vai ser absorvida pelo organismo. Digestibilidade da proteína é condicionante da qualidade protéica, pois 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 por este. Vários fatores interferem na digestibilidade, dentre estes se 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, 1997).

Segundo Sgarbieri (1987), 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; é um determinante da qualidade protéica da dieta. Quando certas ligações peptídicas não são hidrolisadas no processo digestivo, parte da proteína é excretada nas fezes ou transformada em produtos do metabolismo pelos microrganismos do intestino grosso.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) onde foi elaborado o isolado protéico de soja modificado (IPSM), e no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal Viçosa (UFV) onde foi avaliada a qualidade nutricional do produto.

3.1. Obtenção do isolado protéico modificado

A extração das proteínas foi realizada tomando como referência algumas publicações como Cooper (1942), Daniels et al. (1977) e Gomes et al. (1987), para classificação de proteínas de acordo com sua solubilidade, conhecidas como frações de Osborne.

Inicialmente, o grão de soja foi adquirido no Supermercado Escola (Viçosa – MG), foi moído até que as partículas passassem por peneira 14 *Mesh*, seu óleo foi extraído com soxleht durante 8 horas utilizando-se éter de petróleo como solvente e foi moído mais uma vez, mas até que as partículas passassem por peneira 30 *Mesh*. Este produto foi chamado de farinha desengordurada.

Foram preparadas suspensões de farelo desengordurado de soja em água na proporção 1:20 adicionando-se hidróxido de sódio 0,5 mol/l até atingir pH 9 em que as proteínas de soja alcançam grande solubilidade permitindo maior extração. A suspensão foi mantida nesse meio por 24 horas.

Após a extração, as proteínas solúveis em meio básico foram separadas, por centrifugação, de outros compostos insolúveis como carboidratos complexos, fibras e outros. Foi utilizada uma centrífuga da marca Beckman, modelo J2-MC a 8.000 x g por 20 minutos, em temperatura ambiente. O sobrenadante teve seu pH ajustado para 4,5 utilizando-se HCl 0,5 mol/l para que as proteínas precipitassem.

A suspensão resultante foi centrifugada nas mesmas condições da centrifugação anterior. O material precipitado é o isolado protéico de soja umedecido.

Este precipitado foi submetido à ressuspensão em água na proporção de 1:10, correção do pH para 7 com hidróxido de sódio 0,1 M e adição de hexametáfosfato de sódio nas proporções de 3% m/m, 5% m/m e 10% m/m em relação ao peso de precipitado.

O tratamento térmico foi realizado em banho maria Frigomix® B. Braun Biotech International a 70°C por 4 minutos.

Em seguida foi realizada a secagem em Spray Dryer, marca Niro, modelo Miror Atomizer, a temperatura de ar de entrada a 180°C e temperatura de saída do produto entre 80°C e 90°C. O fluxograma de obtenção do isolado protéico modificado é mostrado na Figura 5.

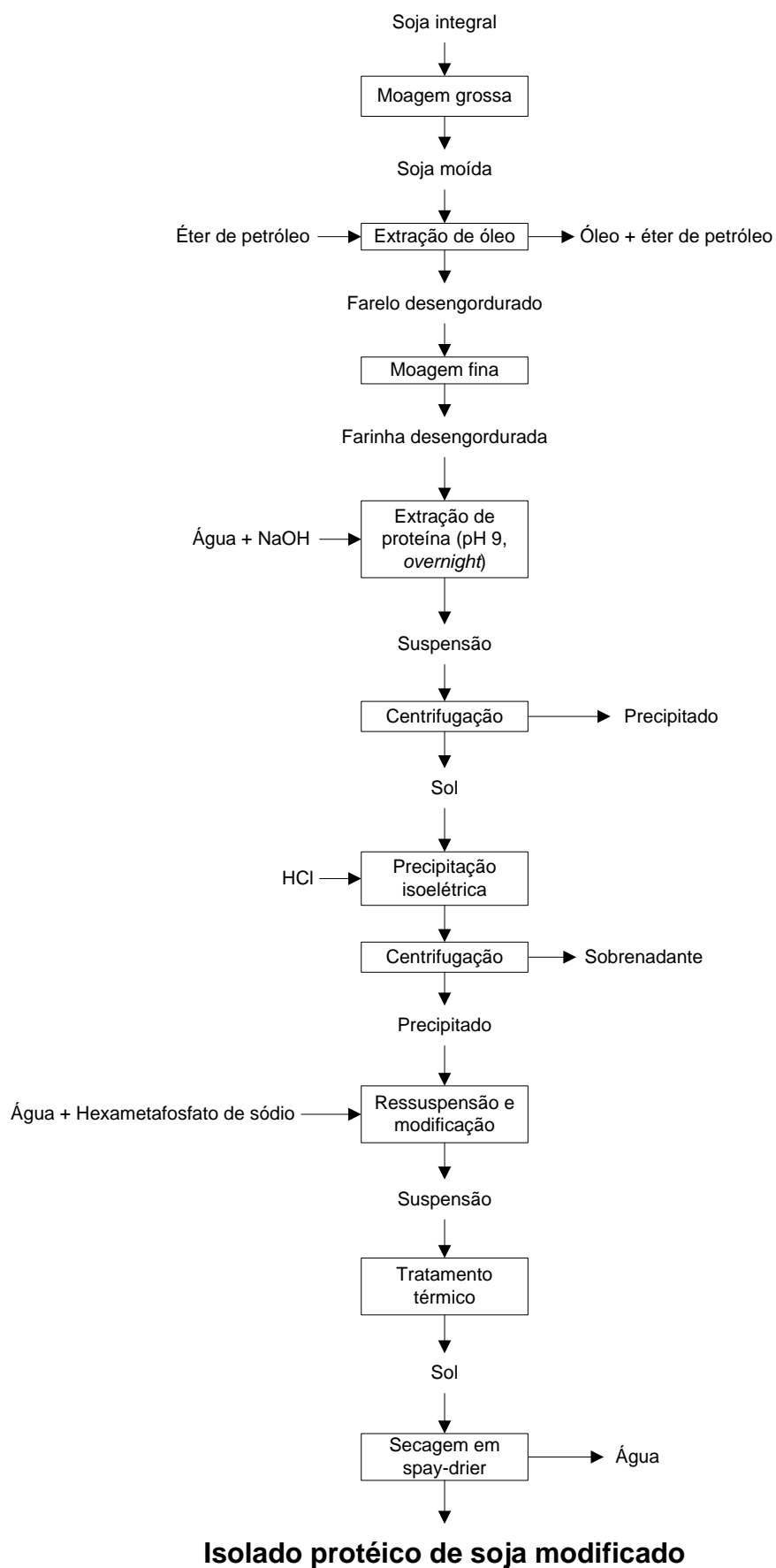


Figura 5 – Fluxograma para obtenção do IPS modificado

3.2. Caracterização do isolado protéico modificado

3.2.1. Análises físico-químicas

3.2.1.1. Proteína

O teor protéico foi determinado pelo método Kjeldahl ($N \times 6,25$). Para a quantificação de nitrogênio total, foi utilizado o método descrito pela AOAC (1984). As análises foram realizadas em duplicatas.

3.2.1.2. Umidade

A umidade foi determinada pelo método de secagem em estufa a 105°C, até que o produto atinja massa constante, conforme descrito pelas Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (PREGNOLATO e PREGNOLATO, 1985).

3.2.1.3. Cinzas

A análise de cinzas foi realizada por incineração em mufla a 550°C, conforme a metodologia descrita pelas Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (PREGNOLATTO e PREGNOLATTO, 1985).

3.2.1.4. Lipídios

A determinação de lipídios foi conduzida pelo método de extração em aparelho extrator de Soxhlet, empregando-se como solvente éter de petróleo por 8 horas, sob refluxo, conforme descrito pelas Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (PREGNOLATO e PREGNOLATO, 1985).

3.2.1.5. Carboidratos

A quantidade de carboidratos foi determinada por diferença, subtraindo de 100 a soma de proteínas, lipídios, cinzas e umidade (AOAC, 1984).

3.2.1.6. Atividade ureásica

A urease foi escolhida para servir de índice de inativação dos fatores antinutricionais da soja, devido a sua resistência térmica ser maior em relação às fitohemaglutininas e inibidores de tripsina. Deste modo, uma vez inativada parte expressiva da urease, os outros fatores estarão inativados. Valores inferiores a ΔpH 0,05 indicam tratamento térmico excessivo e valores superiores a ΔpH 0,25 indicam tratamento insuficiente (SMITH & CIRCLE, 1980).

A atividade ureásica foi determinada pela metodologia AACC (1962), a qual se baseia no princípio de que a atuação da enzima sobre a uréia provoca a liberação de amônia, formando hidróxido de amônio. O aumento de pH é proporcional à atividade ureásica presente na amostra.

Foi pesado 0,200 g da amostra dentro de um tubo de ensaio e adicionados 10 mL de uma solução tampão de uréia. Os tubos foram homogenizados e transferidos para um banho-maria a 30°C.

Foi preparada uma prova em branco com 0,200 g da amostra e 10 mL de solução tampão fosfato 0,05 M. Foi marcado tempo de 30 minutos. Ao final deste tempo, mediu-se o pH . A diferença entre o pH do tubo com uréia e o pH do branco é o índice de atividade de urease.

Entre as medidas de pH , o eletrodo foi lavado com solução de HCl 0,1 mol/l, para remover uma possível camada de proteína aderida à superfície de vidro.

3.2.1.7. pH

Foi determinado conforme o método descrito pela AOAC (1984).

3.2.2. Determinação da solubilidade protéica

Para determinação da solubilidade protéica foi utilizada uma variação da metodologia proposta por Morr et al. (1985). Porções de 500 mg do isolado protéico de soja modificada, comercial e caseína bovina foram dissolvidas com 25 mL de água em béquer de 100 mL. O pH da amostra foi ajustado para 2,0; 3,0; 4,0; 4,5; 5,0; 6,0; 7,0 e 8,0, 9,0, 10,0, sendo mantido pela adição de soluções de NaOH 0,1 mol/l ou HCl 0,1 mol/l. Depois de manter as suspensões nos seus respectivos pH por 1 h sob agitação, as amostras foram levadas à centrifugação a 8000 x g por 30 minutos a 4 °C. Tomaram-se alíquotas do sobrenadante e determinou-se a concentração de proteínas pelo método micro-Kjeldahl, segundo método 38012 da AOAC (1984).

3.3. Avaliação da qualidade protéica do isolado modificado

Para avaliar a qualidade nutricional dos isolados protéicos de soja, foram utilizados os seguintes métodos biológicos: Digestibilidade verdadeira (DV), Coeficiente de Eficácia Protéica (PER) e Coeficiente de Eficiência Líquida da Proteína (NPR).

3.3.1. Ensaio biológico

Foram utilizados 18 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe *Rodentia*), linhagem *Wistar*, recém desmamados, com média de 31 dias de idade, peso variando de 72 a 107 g; provenientes do biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

Os ratos foram alocados em gaiolas individuais, de aço inoxidável, mantidos em condições de temperatura de 22 ± 3°C, com fotoperíodo de 12 horas.

Os animais foram divididos em três grupos com seis animais, de modo que a média dos pesos fosse semelhante entre os grupos. A divisão foi realizada de acordo com as dietas recebidas pelos animais: aprotéica (L), caseína (C) e isolado protéico de soja modificado. A composição das dietas foi

baseada na AIN-93G, segundo REEVES et al. (1993), com teor de proteínas entre 9 e 10% (Tabela 5).

Durante o período de 14 dias os animais receberam, de forma controlada, as dietas experimentais e água deionizada *ad libitum*.

No período experimental os animais foram pesados no 7^o e 14^o dias e determinaram-se o coeficiente de eficácia alimentar, digestibilidade verdadeira, PER (coeficiente de Eficiência Protéica) e NPR (Razão Protéica Líquida).

Tabela 5 - Composição base das dietas experimentais (g/100g)

Ingredientes	Dietas		
	L	C	D
Caseína	-	11,47	-
Isolado protéico de soja modificado	-	-	12,03
Amido dextrinizado	13,2	13,2	13,2
Sacarose	10,0	10,0	10,0
Óleo de soja	7,0	7,0	7,0
Celulose microfina	5,0	5,0	5,0
Mistura mineral	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica	1,0	1,0	1,0
L-cistina	0,3	0,3	0,3
Bitartarato de colina	0,25	0,25	0,25
Amido de milho (q. s. p.)	59,75	59,75	59,75
Proteína	-	10,00	9,42
Calorias (kcal/100g)	394,8	394,8	394,8

Fonte: Adaptado de REEVES et al. (1993)

3.3.1.1. Coeficiente de eficácia alimentar (CEA)

O CEA foi calculado dividindo-se o ganho de peso pelo consumo de dieta no período de 14 dias.

3.3.1.2. Digestibilidade verdadeira (DV) do IPSM

Para a determinação da digestibilidade verdadeira, as dietas foram marcadas com carmim na proporção de 200 mg/100 g e oferecidas aos animais no 7^o e 13^o dias. As fezes foram coletadas do 8^o ao 14^o dia, correspondendo às

fezes marcadas com carmim oferecidas no 7º dia e às fezes não-marcadas dos dias subseqüentes. As fezes foram acondicionadas em recipientes individuais para cada rato e mantidas sob condições de refrigeração a 4 °C. Posteriormente ao período de coleta, as fezes foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 105 °C, por 24 horas, depois resfriadas em dessecador, pesadas e moídas em moinho de navalha, para posterior determinação do teor de nitrogênio. Para tal, foi utilizado o método semi-micro Kjeldahl (AOAC, 1984).

A digestibilidade verdadeira foi calculada medindo-se a quantidade de nitrogênio ingerido na dieta, a quantidade excretada nas fezes e a perda metabólica nas fezes que corresponde ao nitrogênio fecal do grupo com dieta aprotéica. O valor da digestibilidade foi expresso em porcentagem, conforme recomendação da National Academy of Sciences (1963).

O cálculo da digestibilidade verdadeira (DV) foi efetuado de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Digestibilidade verdadeira (DV)} = \frac{I - (F - F_k) \times 100}{I} \%$$

Onde:

I = nitrogênio ingerido pelo grupo-teste;

F = nitrogênio fecal do grupo-teste;

F_k = nitrogênio fecal do grupo com dieta aprotéica.

3.3.1.3. Coeficiente de eficácia protéica (PER) do IPSM

O PER foi determinado no 14º dia, relacionando o ganho de peso dos animais com o consumo de proteína. O PER foi calculado com a seguinte equação:

$$PER = \frac{\text{ganho de peso do grupo teste (g)}}{\text{proteína ingerida pelo grupo teste (g)}}$$

3.3.1.4. Coeficiente de eficiência líquida da proteína (NPR) do IPSM

O NPR foi determinado no 14º dia do experimento, tomando-se o ganho de peso do grupo-teste mais a perda de peso do grupo de dieta aprotéica, em relação ao consumo de proteína do grupo-teste, segundo o método de BENDER & DOELL (1957). Foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$NPR = \frac{\text{ganho de peso do grupo teste (g)} + \text{perda de peso do grupo aprotéico (g)}}{\text{proteína ingerida pelo grupo teste (g)}}$$

3.3.2. Análise estatística

Foi feita uma análise descritiva para as características físico-químicas do isolado proteico de soja. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

Para os dados dos índices de qualidade protéica procedeu-se a análise estatística (ANOVA), para determinação do valor de “F” a 5% de probabilidade, para comparação entre as médias. A dispersão da média foi expressa em desvio-padrão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Características físico-químicas

4.1.1. Composição centesimal

A composição centesimal do isolado protéico de soja modificado está apresentada na Tabela 6.

Tabela 6 – Composição centesimal (g/100g)

Componente	% (m/m)
Proteínas	83,47 ± 0,39 (86,18 ± 0,30)*
Cinzas	9,93 ± 0,20 (10,26 ± 0,22)*
Carboidratos	3,30 ± 0,09 (3,41 ± 0,09)*
Umidade	3,15 ± 0,12
Lipídios	0,12 ± 0,01 (0,12 ± 0,01)*

*valores em base seca.

O conteúdo de proteínas, de 86,18% (base seca), é inferior ao indicado pela legislação brasileira que estabelece um mínimo de 88% de proteína (Brasil, 2005). O *Codex Alimentarius* (2010) é ainda mais exigente e estabelece que um isolado protéico de soja deve conter no mínimo 90% de proteína. O teor de proteínas encontrado abaixo do especificado justifica-se por dois fatores. Primeiro, o processo de preparação do isolado que envolve: alcalinização até pH 9 com adição de hidróxido de sódio para extração das proteínas; acidificação com ácido clorídrico até pH 4,5 para precipitação protéica; neutralização (pH 7) com hidróxido de sódio. Esta seqüência de ações produziu o sal correspondente à reação do hidróxido de sódio com o ácido clorídrico, no caso, o cloreto de sódio (NaCl). Segundo, a etapa de modificação química envolve a adição de 1% de hexametáfosfato de sódio em relação ao peso do sobrenadante, antes da secagem em *spray-dryer*. Estes dois fatores

elevaram os teores de cinzas, provocando uma diluição do teor de proteínas e dos demais componentes (Tabela 6).

Silva (2007), trabalhando com modificação de dois isolados comerciais, também utilizou hexametáfosfato como agente químico, e encontrou concentrações de proteína de 82,60% e 83,61%.

Villalva (2008) isolou e modificou proteínas de soja com hexametáfosfato, adicionado em uma etapa diferente, e encontrou teor de proteína de 85,30%, muito próximo ao valor encontrado no presente trabalho (86,18%).

O teor de cinzas encontrado foi de 10,26% (base seca), acima do recomendado pelo *Codex Alimentarius* (2010) que é de no máximo 8%. Silva (2007) e Villalva (2008) reportaram conteúdos de cinzas de no mínimo 11,15% e 9,09%, respectivamente. A explicação para elevados teores de cinzas, tanto neste como nos trabalhos de Silva (2007) e Villalva (2008), é a mesma evidenciada anteriormente para o teor de proteínas.

Tendo-se em vista que o isolado protéico obtido com modificação química por hexametáfosfato poderá ser utilizado em formulações de alimentos infantis, principalmente bebidas para lactentes com alergia ao leite de vaca, o teor de cinzas não é um fator limitante, visto que seu conteúdo de fósforo é aumentado. Isto diminui a necessidade de complementação da fórmula com tal elemento.

A proporção de carboidratos encontrada foi de 3,41% (base seca), um pouco abaixo dos valores médios encontrados por Silva (2007) e Villalva (2008), 5,41% e 5,45%, respectivamente. Isto pode se dever à diferença na diluição utilizada na etapa de extração que foi de 1:20 no presente trabalho contra 1:10 utilizada usualmente em outros trabalhos. Uma diluição maior pode ter implicado em uma maior eliminação de carboidratos após a etapa de precipitação em pH 4,5.

A umidade média encontrada foi de 3,15%, adequando-se ao padrão do *Codex Alimentarius* (2010) que preconiza valores abaixo de 10%.

O conteúdo de lipídios de 0,12% do isolado modificado é próximo ao valor médio reportado por Villalva (2008) e por Silva (2007) que foi de 0,14% em média. Já os isolados comerciais utilizados por Silva (2007) apresentaram valores mais elevados de 0,34% e 0,38%. O baixo conteúdo de lipídeos dos isolados modificados em relação aos isolados comerciais pode ser devido a diferenças nas matérias-primas utilizadas, diferenças na etapa de extração do óleo e devido a centrifugações adicionais durante a obtenção do produto. Visto que a fração lipídica é mais leve que os demais componentes, esta sofreu maiores perdas após a última centrifugação.

4.1.2. Índice de atividade de urease

O índice de atividade de urease foi de 0,15, o que indica que o tratamento térmico foi corretamente aplicado. Este índice deve ficar entre 0,05 e 0,25.

4.1.3. Curva de solubilidade protéica

As curvas de solubilidade do isolado protéico de soja modificado (IPSM) e do isolado protéico de soja não modificado (IPS), em relação ao pH podem ser vistas na Figura 6.

Os isolados protéicos de soja modificados contendo 3% m/m e 5% m/m de hexametáfosfato não foram utilizados nas avaliações físico-químicas e nutricionais por apresentarem perfis de solubilidade em função do pH inadequado ao propósito do presente trabalho, isto é, uma fonte protéica com baixa solubilidade a valores de pH abaixo de 5 e solubilidades altas acima deste pH.

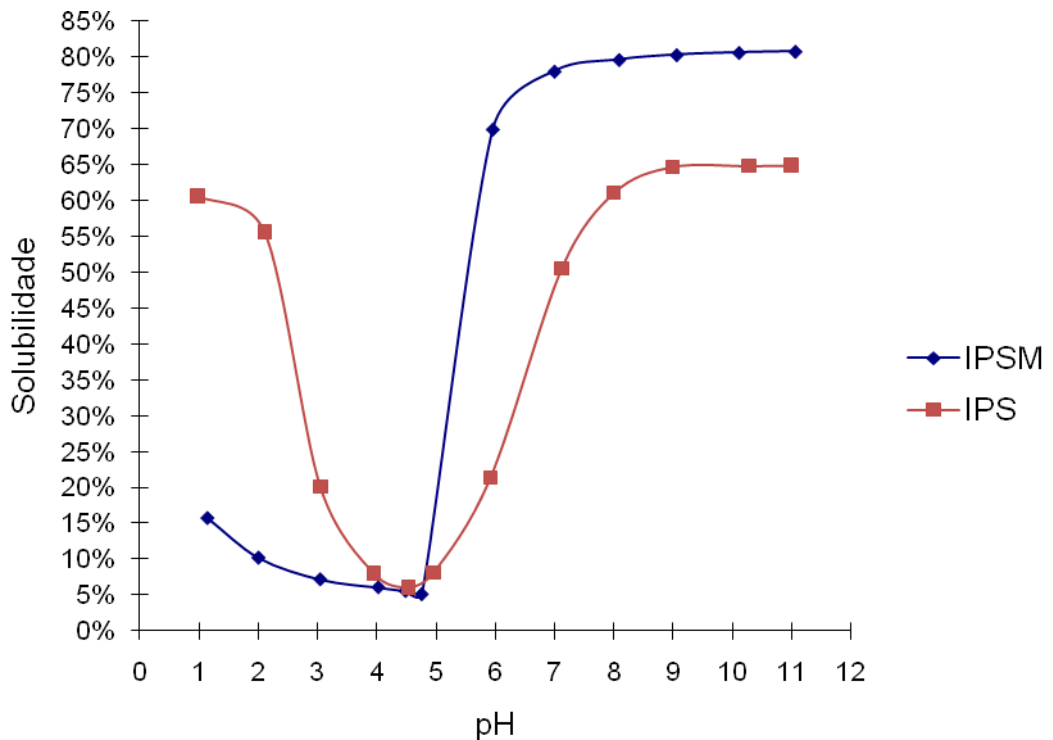


Figura 6 – Perfis de solubilidade dos isolados modificados (IPSM) e não modificados (IPS).

Observou-se que o tratamento com hexametáfosfato 10% m/m foi eficiente em reduzir a solubilidade das proteínas da soja em valores de pH inferiores ao ponto isoelétrico (Figura 6). Uma explicação para a menor solubilidade dessas proteínas modificadas em pH menor que o ponto isoelétrico é que a carga negativa na fração da proteína ligada ao hexametáfosfato é maior do que estas frações sem o ânion hexametáfosfato a ela ligado.

O isolado protéico de soja tem solubilidade mínima no seu ponto isoelétrico, que ocorre entre pH 4 e 5, como já foi constatado por diversos autores, entre eles, Gomes et al. (1987), Liu (1997) e Sorgentini e Wagner (2002). O mesmo ocorreu com os isolados comerciais estudados por Silva (2007) e por Villalva (2008).

Em um meio onde o pH é menor que o ponto isoelétrico, os grupos amino ficam carregados positivamente, devido aos pKa destes grupos serem maiores que o pH do meio; assim ocorre forte interação entre as cadeias polipeptídicas

e os grupos iônicos do hexametáfosfato, formando agregados que precipitam. É bem sabido que a carga líquida da proteína e a força iônica do meio afetam sua solubilidade (CHEFTEL, 1989; DAMODARAN, 1996).

A partir do ponto isoelétrico a solubilidade do isolado modificado aumenta sensivelmente, inclusive ficando superior à solubilidade do isolado não modificado. Provavelmente pela maior retenção de moléculas de água do meio (DAMODARAN, 1996).

O padrão de solubilidade alcançado através da modificação química aplicada no presente trabalho é análogo ao da caseína humana, conforme reportado por Silva (2007) (Figura 4).

O comportamento em relação à solubilidade do isolado protéico de soja modificado é de grande importância no processo digestivo de monogástricos, pois, a baixa solubilidade das proteínas em pH estomacal é importante para o processo de coagulação das proteínas no estômago destes. Devem-se formar coágulos firmes, mas suficientemente macios para uma apropriada digestão no intestino delgado. A formação inapropriada de coágulo pode causar crescimento descontrolado de bactérias e desordens intestinais. Além disso, os coágulos têm função de armazenamento de proteínas e lipídios que são lentamente liberados pela ação das enzimas pancreáticas (FERREIRA et al., 1988).

4.2. Avaliação da qualidade protéica do IPSM

4.2.1. Ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA)

Os dados relacionados ao GP, CA e CEA estão apresentados na Tabela 7.

O GP, o CA e o CEA foram menores ($p < 0,05$) nos animais do grupo teste em comparação à caseína. Como o CEA diferiu entre os grupos experimentais,

isto indica que as dietas não foram isocalóricas, portanto não foram capazes de promover ganho de peso semelhante por grama de dieta consumida.

Tabela 7 – ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos grupos Caseína e IPISM (n=6).

	Ganho de Peso	Consumo Alimentar	CEA
Caseína	65,83 ± 9,93 ^a	209,35 ± 3,89 ^a	0,31 ± 0,04 ^a
Isolado	29,67 ± 7,81 ^b	154,77 ± 21,39 ^b	0,19 ± 0,03 ^b

*Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de ANOVA, a 5% de probabilidade.

4.2.2. Razão de eficiência protéica (PER) e Razão protéica líquida (NPR)

Na Tabela 8 são apresentados os valores de PER, PER relativo (PER-R), NPR e NPR relativo (NPR-R).

Tabela 8 – Razão de eficiência protéica (PER) e Razão protéica líquida (NPR) dos grupos Caseína e Isolado (n=6).

	PER	PER-R	NPR	NPR-R
Caseína	3,14 ± 0,45 ^a	100,00	4,06 ± 0,45 ^a	100,00
Isolado	2,01 ± 0,33 ^b	63,93	3,34 ± 0,27 ^b	82,46

*Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de ANOVA, a 5% de probabilidade.

Segundo Friedman (1996), fontes de proteína com PER menor que 1,5 são de qualidade baixa ou pobre, entre 1,5 e 2,0 de qualidade intermediária e acima de 2,0 de boa ou alta qualidade.

Os animais tratados com o isolado protéico de soja modificado apresentaram PER diferente ($p < 0,05$) do grupo da caseína. Embora o PER do IPISM tenha sido inferior ($p < 0,05$) ao da caseína, o valor 2,01 indica proteína de boa qualidade. Houve também diferença ($p < 0,05$) nos valores de NPR entre os

grupos experimentais. Apesar de o NPR ter sido mais baixo ($p < 0,05$), o valor 3,34 indica a boa capacidade na manutenção do peso dos animais.

Villalva (2008) encontrou valores de 75,73 para o PER-R e 90,07 para o NPR-R de um isolado preparado em laboratório.

Silva (2007) reportou valores de 69,94 e 58,22 para PER-R e 80,31 e 70,61 para NPR-R de dois isolados comerciais submetidos à modificação.

Murad (1993) elaborou um IPS modificado com perfil de solubilidade aproximado ao da caseína bovina e encontrou valor de NPR-R igual a 72.

4.2.3. Digestibilidade verdadeira (DV)

A Tabela 9 apresenta os valores médios de digestibilidade verdadeira (DV) e digestibilidade verdadeira relativa (DV-R) à caseína.

Tabela 9 – Digestibilidade verdadeira e relativa dos grupos Caseína e Isolado (n=6).

	DV	DV-R
Caseína	95,38 ± 1,47 ^a	100,00
Isolado	92,18 ± 4,45 ^a	96,64

*Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de ANOVA, a 5% de probabilidade.

A digestibilidade do IPSM elaborado no presente trabalho (Tabela 9) não diferiu significativamente da digestibilidade da caseína ao nível de 5% de probabilidade.

Villalva (2008) relatou digestibilidade verdadeira de seu isolado modificado igual a 90,8, sendo este valor significativamente diferente, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade, da dieta padrão de caseína utilizada em seu experimento.

5. CONCLUSÃO

O método de obtenção do isolado protéico modificado desenvolvido no presente trabalho foi eficiente em alterar o padrão de solubilidade em função do pH de modo que este fosse similar ao da caseína humana.

O hexametáfosfato aplicado em pH neutro alterou o balanço de cargas superficiais das proteínas provocando a redução da solubilidade na faixa de pH de 1 a 5. Este resultado e estudos anteriores mostram que em meio ácido, como o estomacal, é possível a formação de coágulos adequados que permitem uma melhor digestão da proteína estudada.

Os resultados do ensaio biológico revelaram que os índices de qualidade protéica alcançaram valores considerados bons, principalmente quanto à digestibilidade que não apresentou diferença significativa em relação à caseína.

O isolado protéico de soja modificado obtido no presente trabalho, possivelmente, poderá ser utilizado em formulações infantis nas quais a característica de solubilidade discutida se fizer importante, sem prejuízo das características nutricionais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER-NISSEN, J. **Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins**. London, Elsevier, 1986. 426 p.

BENDER, A. E.; DOELL, B. H. **Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis**. British Journal Nutrition, v. 11, 1957. p. 138-143.

BRANDÃO, S., MATEDI, M., CARDOSO, M., **Alergia e intolerância ao leite de vaca**. Universidade Federal Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2008.

BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 268, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 set. 2005. Seção 1.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1989. 346 p.

CHEFTEL, J. C. Proteins and amino acids. In: TANNENBAUM, S. R. (Ed.). **Nutritional and safety aspects of food processing**. New York, NY: Marcel Dekkar, 1979. p. 153-215.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex general standard for soy protein products (CODEX STAN 175-1989)**. Disponível em:

<http://www.codexalimentarius.net/download/standards/325/CXS_175e.pdf>

Acesso em: 12/02/2010.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em: 17/01/2010.

CORDLE, C., Fifth International Symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. Soy protein allergy: Incidence and relative severity. **American Society for Nutritional Sciences**. 2004, vol. 134, p.1213-1219.

CRISTOFARO, E., MOTTU, F., and WUHRMANN, J., Involvement of the raffinose family of oligosaccharides in flatulence. Ch.20. In: **Sugar in Nutrition**, H.L. Sipple and K.W. Mc Nutt (Ed.). Academic Press, New York. 1974.

DAMODARAN, S., **Amino Acids, Peptides, and Protein**. In: Fennema's Food Chemistry. 4th Ed. Damodaran, S., Parkin, K.L, Fennema, O.R., Eds. CRC Press. Boca Raton. 2008. 1144p.

DAMODARAN, S. Functional properties. In: NAKAI, S., MODLER, H.W (Ed). **Food proteins: properties and characterization**. New York: VCH Publishers, Inc., 1996. p. 167-234.

DAMODARAN, S., PARAF, A.,. **Food Protein and their Applications**. In: NAKAI, S., MODLER, H.W (ed). New York: VCH Publishers, Inc., 1997.

DANIELS, N.W.R., FRAZIER P.J., Wheat proteins – Physical properties and baking function. In: **Plant proteins**. G. Norton. Department of applied Biochemistry and nutrition. University of Nottingham school of agriculture. Butterworths. 1977, n 18, p.352

ENDRES, J. G. **Soy proteins products: characteristics, nutritional aspects, and utilization**. Champaign: AOCS Press, 2001. 61 p.

FAO-WHO Technical report series. **Protein and amino acid requirements in human nutrition**. 2007. N° 935 p.265

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. 1.069 p.

FERREIRA, A., COSTA, P., GOMES, J.C., NEVES, M.T., **Desaparecimento de ingesta, pH estomacal e duodenal e formação de coágulos de leites de porca e de vaca e de extrato de soja no estômago e intestino delgado de leitões**. Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia. 1988. vol.17, n. 3, p. 308-315.

FRIEDMAN, M. **Nutritional value of proteins from different food sources.** A review. J. Agric. Food Chem., v. 44, p. 6-29, 1996.

GOMES, A. G. **Sistema agroindustrial da soja: em busca da competitividade perdida.** Agriannual, p. 26-28, 2001.

GOMES, J. C. **Análise de Alimentos.** Apostila do curso de Análise de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007. 200p.

GOMES, J. C., ARAUJO, M., MOREIRA, M., COELHO, D. Caracterização funcional de isolados e de um concentrado protéico de soja produzido no Brasil: Solubilidade e capacidade de absorção de água. **Revista Ceres** 34 (193). 1987. p.232-249.

HALL, G. M. **Methods of testing protein functionality.** 1. ed. London: Chapman e Hall, 1996. p. 1-10.

HEINE, R. G.; ELSAYED, S.; HOSKING, C. S.; HILL, D. J. **Cow's milk in infancy.** **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 2, p. 217-225, 2002.

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

HOOGENKAMP, H. Vegetable Protein. **Technology value in meat and poultry products.** Protein Technologies International, Inc. 1991, p.180.

HUTTON, C., CAMPBELL, A., **Protein Functionality in Foods.** Watter and Fat Absorption. American Chemical Society, 1981. Cap 9, p. 178-200.

LIENER, I.E., **Implications of antinutritional components in soybean foods.** CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1994. V. 34 (1): 31 – 67.

LI, L., **The process and applications of soybean**. Beijing. 2002

LIU, K. **Celular biological and physicochemical basics for hard-to-cook defect in legumes seeds**. CRC. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., v,35, p.263, 1995.

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

MATSUMURA, Y.; MORI, T. Gelation. In: HALL, G.M. **Methods of testing protein functionality**. 1. ed. London: Chapman e Hall, 1996. p. 76-109.

MCKLEM, L. K. **Investigation of molecular forces involved in gelation of commercially prepared soy protein isolates**. Raleigh: Faculty of North Carolina State University, 2002. 72 p. (Tese de Mestrado).

MESSINA, M.; MESSINA, V. The second golden age of nutrition: Phytochemicals and disease prevention. In: **Food Phytochemicals for cancer prevention I**, 1994. p.382- 387.

MITIDIERI, F. E.; WAGNER, J. R. **Coalescence of o/w emulsions stabilized by whey and isolate soybean proteins. Influence of thermal denaturation, salt addition and competitive interfacial adsorption**. Food Research International, v. 35, p. 547-557, 2002.

MORAIS, A.A.; SILVA, A.L. **A soja: suas aplicações**. Rio de Janeiro: Medsi, 1996. 259 p.

MULLER, L. Taxonomía e morfologia. In: **A soja no Brasil**. Miyasaka, S. e Medina, JC, Eds. Instituto de Tecnologia de alimentos. Campinas. SP, Cap. III, 1981. 1062p.

MURAD, A., **Desenvolvimento e caracterização química, funcional e biológica de um isolado protéico de soja modificado**. Dissertação Mestrado. Universidade Federal Viçosa. MG 1993, p.71.

MURARO, M. A.; GIAMPIETRO, P. G.; GALLI, E. **Soy formulas and nonbovine milk**. Ann Allergy Asthma Immunol., v. 89, p. 97-101, 2002.

MURKIES, A. **Phytoestrogens – what is the current knowledge?** Aus. Fam. Physician, v. 27, p. 47S -51S, 1998.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. S. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MIGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnología de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Tradução de Fátima Murad, v.1. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 294 p.

PEARSON, A.M. Soy proteins. In: HUDSON, B.J.F. **Developments in food proteins – 2**. London: Applied Science Publisher LTD, 1983. v.1, cap.2, p.339.

PEREIRA, C. A. S.; OLIVEIRA, F. B. **Soja, alimento e saúde: valor nutricional e preparo**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2004. 102 p.

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**. Journal Science Food Agriculture, v. 53, n. 2. 1990. p. 215-228.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. P. **Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz**. São Paulo: Instituto Adolf Lutz, 1985, 533p.

RADOVIC, R. S.; MAKSIMOVIC, R. V.; VARKONJI-GASIC, I. E.; SAVIC, P. A. **2S Albumin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds**. Journal of Agricultural and Food Chemical, v. 47, p. 1467-1470, 1999.

ROZENFELD, P.; DOCENA, G. H.; AÑÓN, M. C.; FOSSATI, C. A. **Detection and identification of a soy protein component that cross-reacts with caseins from cow's milk**. Clin. Exp. Immunol., v. 130, p. 49-58, 2002.

RUSSEL, T. A. **Comparison of sensory properties of whey and soy protein concentrates and isolates**. Raleigh: Faculty of North Carolina State University, 2004. 123 p. (Tese de Mestrado).

SAIDU, J. E. P. **Development, evaluation and characterization of proteinisoflavone enriched soymilk**. Louisiana: Faculty of the Louisiana State University, 2005. 216 p. (Tese de Doutorado).

SAMPSON H. A., Metcalfe DD. **Food Allergies**. JAMA 1992; 268:2840-4.

SAMPSON, H. A.; HO; D.J. **Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents**. J. Allergy Clin. Immunol., v.100, p.444-451, 1997.

SCHAAFSMA, G. **The protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS)-a concept for describing protein quality in foods and foods ingredients: a critical review**. Journal of AOAC International, v. 88, n. 3, p. 988-994, 2005.

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

SICHERER S. H., Sampson H. A., Burks A. W. **Peanut and soy allergy: a clinical and therapeutic dilemma**. Allergy 2000; 55:515-21.

SILVA, M. H. L. **Desenvolvimento e caracterização de um isolado protéico de soja modificado com perfil de solubilidade de caseína do leite humano**. Universidade Federal Viçosa. (Tese de Doutorado) 2007. 107p.

SMITH, A.; CIRCLE, S. **Soybeans: Chemistry and technology. Volume 1 Proteins**, AVI Publishing Company, INC. Westport, Connecticut. 1980, 470p.

SORGENTINI, D. A.; WAGNER, J. R. Comparative study of foaming properties of whey and isolate soybean proteins. **Food Research International**, v. 35, p. 721-729, 2002.

SPRIKKELMAN, A. B.; HEYMANS, H. S. A.; VAN AALDEREN, W. M. C. **Development of allergic disorders in children with cow's milk protein allergy or intolerance in infancy.** Clinical and Experimental Allergy, v. 30, p. 1358- 1363, 2000.

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. 1991. p. 1-22.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Disponível em: <<http://www.usda.gov/>> Acesso em: 17/01/2010.

VILLALVA, M. M. H. **Modificação química para obtenção de um isolado protéico de soja com solubilidade semelhante à da caseína humana.** Universidade Federal Viçosa. (Tese de Mestrado) 2008. 62p.

WILDE, P. J.; CLARK, D. C. **Foam formation and stability.** In: HALL, G. M. Methods of testing protein functionality. 1. ed. London: Chapman e Hall, 1996.

YATSUMATSU, K., TODA, T., WADA, T., MISAKI, M., ISHII, K., **Studies on the functional properties of food grade soy bean products. Part III. Properties of heat coagulated gels from soybean products.** Agric. Biol. Chem. 1972. 36: 537.

ZEIGER, R. S.; SAMPSON, H. A.; BOCK, A.; BURKS, W.; HARDEN, K.; NOONE, S.; MARTIN, D.; LEUNG, S.; WILSON, G. **Soy allergy in infants and children with IgE-associated cow's milk allergy.** J. Pediatrics, v. 134, n. 5, p. 614-622, 1999.