

SOLANGE APARECIDA DE PAULA

**COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA E FATORES  
ANTINUTRICIONAIS DE GENÓTIPOS DE  
SOJA.**

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  
2007

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

P324c  
2007

Paula, Solange Aparecida de, 1982-

Composição bioquímica e fatores antinutricionais de  
genótipos de soja / Solange Aparecida de Paula. – Viçosa,  
MG , 2007.

xii, 74f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Valéria Monteze Guimarães.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 58-73.

1. Bioquímica. 2. Rafinose. 3. Ácido fítico. 4. Soja -  
Composição. 5. Soja - Seleção. Universidade Federal de  
Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 572

SOLANGE APARECIDA DE PAULA

**COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA E FATORES  
ANTINUTRICIONAIS DE GENÓTIPOS DE SOJA**

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: 12 de julho de 2007

---

**Prof. Everaldo Gonçalves de  
Barros**  
(Co-orientador)

---

**Prof. George Henrique Kling de  
Moraes**

---

**Prof. Luiz Orlando de Oliveira**

---

**Prof. Valterley Soares Rocha**

---

**Prof<sup>a</sup>. Valéria Monteze Guimarães**  
(Orientadora)

*A Deus  
Aos meus pais Nilson e Aparecida,  
Aos meus irmãos Nízio, Vanderlúcia, Marinalva e Nivaldo,  
Ao meu noivo e amigo Aroldo,  
Aos meus sobrinhos, Gustavo, Vanessa, Caio, Renato e  
Sara.*

Por tudo que significam para mim

Dedico

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me proporcionado a oportunidade de realizar este mestrado, ter me abençoado todos os dias de minha vida e por estar sempre do meu lado nos momentos difíceis e alegres, me ajudando. Obrigada Senhor!

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de realizar o mestrado.

À CAPES, pelo apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

A minha orientadora, professora Valéria Monteze Guimarães, pelo apoio, amizade, dedicação, paciência, pela confiança depositada em mim e pela excelente orientação do meu trabalho.

Ao Newton, pelo apoio na condução dos experimentos, pela amizade e pela paciência.

Aos professores Maurílio Alves Moreira, Everaldo Gonçalves de Barros, Sebastião Tavares de Rezende, pelo apoio ao meu trabalho.

Ao secretário Eduardo pelo carinho, dedicação e boa vontade indispensáveis em todos os momentos.

A Tatiana, por estar sempre disponível na concessão dos materiais utilizados nos experimentos.

Ao laboratório de Análises Bioquímicas do BIOAGRO, onde o meu trabalho foi realizado, obrigada pelo carinho com que fui recebida.

Aos meus amigos dos laboratórios de Análises Bioquímicas e Enzimologia, Eleonice, Ana Paula, Sandra, Fabrícia, Lílian, Angélica, Camila, Maíra, Daniel.

Aos funcionários Naldo, Gláucia, Eduardo e Sandra Machado pela colaboração nas análises bioquímicas e pela amizade.

Aos meus pais, pelo amor, carinho, dedicação e apoio em todos os momentos de minha vida.

Aos meus irmãos, meus sobrinhos, cunhadas, pelo carinho e apoio depositados em mim.

Ao meu noivo Aroldo, pelo carinho, amizade, dedicação, ensinamentos e principalmente pelo seu amor.

Aos meus amigos de Viçosa e a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

SOLANGE APARECIDA DE PAULA, filha de Nilson Lopes de Paula e Aparecida de Jesus Fonseca de Paula, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 14 de maio de 1982.

Em março de 2001, ingressou no curso de Ciência e Tecnologia de Laticínios da Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se com o título de Bacharelado em janeiro de 2005.

Em agosto de 2005, iniciou o curso de pós-graduação em Bioquímica Agrícola, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em julho de 2007.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1.INTRODUÇÃO	1
2.OBJETIVOS	5
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Soja como Fonte de Alimento	6
3.2. Fatores Antinutricionais da Soja.	8
3.3. Oligossacarídeos de Rafinose	9
3.3.1. Biossíntese e papel fisiológico dos oligossacarídeos de Rafinose.	9
3.3.2. Ocorrência e Distribuição dos Oligossacarídeos de Rafinose em Plantas	12
3.3.3. Implicações Nutricionais dos Oligossacarídeos de Rafinose	13
3.4. Ácido Fítico	14
3.4.1. Via de Biossíntese do Ácido Fítico	14
3.4.2. Ocorrência e Distribuição do Ácido Fítico em Plantas	16

3.4.3. Implicações Nutricionais do ácido Fóico	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1. Reagentes Utilizados	19
4.2. Genótipos de Soja	19
4.3. Determinação do Conteúdo de Proteínas	20
4.4. Determinação do Conteúdo de Lipídios	21
4.5. Determinação do Conteúdo de Cinzas	21
4.6. Determinação do Conteúdo de Ácido Fóico	22
4.7. Determinação do Conteúdo Oligossacarídeos	22
4.8. Determinação do Conteúdo de Carboidratos	23
4.9. Determinação do Conteúdo de Umidade	24
4.10. Análise Estatística	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1.1. Conteúdo de Proteína	25
5.1.2. Conteúdo de Lipídio	28
5.1.3 Conteúdo de Cinzas	30
5.1.4 Conteúdo de Carboidratos Totais	32
5.1.5 Conteúdo de Açúcares Solúveis	34
5.1.6 Conteúdo de Sacarose	36

5.2 Fatores Antinutricionais	38
5.2.1 Conteúdo de Ácido Fítico	38
5.2.2 Conteúdo de Rafinose	40
5.2.3 Conteúdo de Estaquiose	42
5.2.3 Conteúdo de Ros	44
5.3 Correlação entre os Componentes Bioquímicos e Fatores Antinutricionais	47
6. CONCLUSÕES	56
7. PESPECTIVAS	57
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
9. APÊNDICE	74

## RESUMO

PAULA, Solange Aparecida de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2007. **Composição bioquímica e fatores antinutricionais de genótipos de soja.** Orientador: Valéria Monteze Guimarães. Co-orientadores: Sebastião Tavares Rezende, Maurílio Alves Moreira e Everaldo Gonçalves de Barros

A soja é um grão de alto valor nutricional, é utilizada como base para vários produtos, portanto existe uma demanda crescente por genótipos de soja com características de qualidade específicas. Assim, torna-se importante a caracterização de genótipos de soja quanto aos componentes bioquímicos relativos à qualidade e também quanto aos fatores antinutricionais, os quais limitam o uso da soja na alimentação. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a composição bioquímica e fatores antinutricionais, como fitatos e oligossacarídeos de rafinose, em soja, visando à seleção de genótipos com perfil nutricional mais adequada para uso na alimentação humana e de animais. Além disso, foram estimadas as correlações entre as características dos genótipos analisados. Para isto, foram avaliados 34 genótipos de soja, cultivados na estação experimental da COOPADAP situada no município de São Gotardo-MG. Os experimentos foram executados em blocos casualizados, com três repetições. Foram determinados os conteúdos: de proteína pelo método de Kjeldahl; lipídios usando um extrator Soxhlet; cinzas por incineração, sacarose, rafinose e estaquiose por HPLC e carboidratos totais por diferença. O conteúdo de fitatos foi determinado pelo método colorimétrico. Análises estatísticas e os coeficientes de correlação foram determinados pelo programa GENES. Foi verificada diferença no conteúdo dos componentes analisados nos diversos genótipos de soja. Os genótipos que mais se destacaram quanto ao conteúdo de proteínas foram Monarca, Elite, Balisa, MSOY 8585, CS 02 302 e CS 144 RR. Maior conteúdo de lipídeos foi determinada no genótipo CS 801. Para o caráter

carboidratos totais os genótipos que mais se destacaram foram CS 01 736, CS 186 RR, CS 206 RR, CS 02 731, CS 02 1026, MSOY 8001, CS 821, CS 73 RR, CS 106 RR, CS 02 449, CS 95 RR, Valiosa, MSOY 8787, Vencedora, MSOY 8008, CS 02 521, MSOY 8585. Os genótipos que apresentaram maior conteúdo do açúcar solúvel sacarose foram Silvania, Monarca, CS 186 RR, Vencedora, MSOY 8001, CS 02 521, MSOY 7878, CS 02 449, CS 821, Valiosa, CS 01 736, Elite e CS 02 731. Quanto aos fatores antinutricionais, os genótipos que mais se destacaram, ou seja, que apresentaram menores conteúdos de fitatos foram CS 206 RR, CS 95 RR, MSOY 8001, CS 02 564, CS 02 731, CS 33 RR, CS 33 RR, Valiosa, MSOY 8008, CS 821, Garantia, CS 132 RR, MSOY 8787, CS 01 736, Vencedora, CS 01 873, CS 73 RR, CS 02 988, CS 02 1026 e Balisa. Os genótipos com menores conteúdos de rafinose foram Luziania, CS 02 521, MSOY 7878, CS 801, CS 02 302, Monarca, CS 02 564 e Vencedora; e com menores conteúdos de estaquiase foram CS 132 RR, CS 02 988, CS 73 RR, CS 179 RR, Elite, CS 02 449, Garantia e CS 02 731. Foi observada correlação significativa entre os caracteres proteína e: óleo, sacarose, açúcares solúveis, carboidratos totais; óleo e cinzas; cinzas e: fitato, estaquiase, RO, açúcares solúveis; fitato e: sacarose, rafinose, carboidratos totais e RO; sacarose e: rafinose, carboidratos totais e açúcares solúveis; rafinose e: estaquiase, açúcares solúveis; estaquiase e: açúcares solúveis, RO, carboidratos totais e RO; e finalmente carboidratos totais e açúcares solúveis. O genótipo que esteve mais freqüente entre as maiores médias para as características bioquímicas e menores médias para fatores antinutricionais foi CS 02 564. Portanto, esse genótipo poderá ser selecionado para o programa de melhoramento da soja destinada ao consumo humano.

## ABSTRACT

PAULA, Solange Aparecida de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2007. **Biochemical composition and antinutritional factors in genotypes of soy.** Adviser: Valéria Monteze Guimarães. Co-advisers: Sebastião Tavares Rezende, Maurilio Alves Moreira and Everaldo Gonçalves de Barros

Soy is a highly nutritious grain which is used as a basis for many products. Therefore, there is an increasing demand for soy genotypes with specific quality characteristics. It is important, thus, to characterize soy genotypes as to the biochemical components related to quality and to the anti-nutritional factors which limit soy use for feeding. The goal of the present work is to evaluate the biochemical composition and anti-nutritional factors present in soy, such as phytates and oligosaccharides of raffinose, in order to select genotypes with more adequate nutritional characteristics to be used in human and animal food. Besides, it was estimated the correlation between the characteristics of the genotypes analyzed. In order to achieve this, 34 soy genotypes cultivated in the experimental station of the COOPADAP, located in São Gotardo-MG, were evaluated. The experiments were carried out in randomized blocks, with three repetitions. The following contents were determined: of protein by the Kjeldahl method; of lipids, with the use of the Soxhlet extractor; of ashes through burning, of sucrose, raffinose and stachiose by HPLC and total carbohydrates by difference. The phytate content was determined by the method. The statistical analyses and the correlation coefficients were determined by the program GENES. It was verified the difference in the content of the components analyzed in many soy cultivars. The cultivars which were distinguished as to their protein content were Monarca, Elite, Balisa, MSOY 8585, CS 02 302 and CS 144 RR. A higher lipid contents was determined in the genotype CS 801. For the total carbohydrate feature, the distinguished genotypes were CS 01 736, CS 186 RR, CS 206 RR, CS 02 731, CS 02 1026, MSOY 8001, CS 821, CS 73 RR, CS 106 RR, CS 02 449, CS 95 RR, Valiosa, MSOY 8787, Vencedora, MSOY

8008, CS 02 521 and MSOY 8585. The genotypes which presented higher contents of the soluble sugar sucrose were Sylvania, Monarca, CS 186 RR, Vencedora, MSOY 8001, CS 02 521, MSOY 7878, CS 02 449, CS 821, Valiosa, CS 01 736, Elite and CS 02 731. As to the antinutritional factors, the genotypes which were distinguished, namely, which presented the lowest contents of phytates were CS 206 RR, CS 95 RR, MSOY 8001, CS 02 564, CS 02 731, CS 33 RR, CS 33 RR, Valiosa, MSOY 8008, CS 821, Garantia, CS 132 RR, MSOY 8787, CS 01 736, Vencedora, CS 01 873, CS 73 RR, CS 02 988, CS 02 1026 and Balisa. The genotypes with the lowest contents of raffinose were Luziania, CS 02 521, MSOY 7878, CS 801, CS 02 302, Monarca, CS 02 564 and Vencedora; and the ones with the lowest contents of stachyose were CS 132 RR, CS 02 988, CS 73 RR, CS 179 RR, Elite, CS 02 449, Garantia and CS 02 731. It was observed a significant correlation between the following characters: protein and: oil, sucrose, soluble sugars and total carbohydrates; oil and ashes; ashes and: phytate, stachyose, RO and soluble sugars; phytate and: sucrose, raffinose, total carbohydrates and RO; sucrose and: raffinose, total carbohydrates and soluble sugars; raffinose and: stachyose and soluble sugars; stachyose and: soluble sugars and RO, total carbohydrates and RO and, finally, total carbohydrates and soluble sugars. The genotype which appeared more frequently among the highest averages for the biochemical characteristics and the lowest averages for the antinutritious factors was CS 02 564. Therefore, that genotype may be selected for the improvement program of the soy used for human consumption.

## 1- INTRODUÇÃO

Os grãos da soja (*Glycine max.* L), uma espécie da família das leguminosas, são utilizados em todo mundo como fonte de alimento, devido ao seu padrão bem balanceado de aminoácidos (SMITH e CIRCLE 1972). É considerada uma excelente fonte de proteína para uso animal e humano (GITZELMANN e AURICCHIO, 1965). Originária das regiões norte e central da China, a soja foi domesticada há cerca de cinco mil anos, o que faz dela uma das plantas cultivadas mais antigas. Reputavam-na, juntamente com arroz, trigo, cevada e painço, um dos cinco 'grãos sagrados'. Nos Estados Unidos passou a ser cultivada no século XX. Já no Brasil apesar de ter chegado em 1908, a ampliação do cultivo ocorreu apenas nos anos 70, com o aumento da produção e demanda internacional de óleo (SOUZA et al., 2000).

Dentre os grandes produtores mundiais de soja, o Brasil figura como o que apresenta as melhores condições de expandir a produção e promover o esperado aumento da demanda mundial. O crescimento e aumento da capacidade competitiva da soja brasileira sempre estiveram associados aos avanços científicos e à disponibilidade de tecnologias ao setor produtivo (EMBRAPA, 2007). O Complexo Soja, que reúne a cadeia produtiva de soja em grão, farelo e óleo, é um dos principais itens da Balança Comercial Brasileira e exportou cerca de US\$9 bilhões em 2005 (CONAB,2007). Os estoques de soja em grão, segundo o relatório de oferta e demanda do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), publicado em fevereiro de 2007, foram projetados em 57,4 milhões de toneladas para 2006/2007 em relação a 52,2 milhões de toneladas na safra anterior. Para o Brasil, a Conab divulgou em fevereiro de 2007 o seu quinto levantamento para a safra de grãos. A estimativa é de queda de 7,4 % na área plantada de soja e incremento de 5,4 % na produção, devido a uma condição climática e sanitária melhor que a da última safra. Segundo dados fornecidos pelo CISOJA (2007), a produção

nacional de soja em 2007 deverá ser em torno de 59,81 milhões de toneladas e a produção mundial de cerca de 234 milhões de toneladas.

Em conseqüência do desenvolvimento que tomou a aplicação da soja, sua procura tem crescido de maneira vertiginosa e a área destinada ao seu cultivo, em tudo mundo, aumenta a cada dia. A produção mundial de soja, na safra 2005/06, situou-se em 219,93 milhões de toneladas (USDA, 2006).

Segundo a Embrapa, existem vários tipos de soja transgênicas sendo desenvolvidas atualmente. Entretanto, a mais conhecida e plantada comercialmente é a soja tolerante ao herbicida glifosato. Essa soja chegou ao campo nos Estados Unidos, na safra de 1996, e no ano seguinte, na Argentina.

O grão da soja apresenta características similares as dos produtos protéicos de alto valor nutritivo, pelo fato de conter quantidade suficiente de quase todos os aminoácidos essenciais em suas proteínas (COSTA e MIYA, 1972). A maioria dos cultivares de soja apresenta de 30 a 45% de proteínas, de 15 a 25% de óleo, de 20 a 35% de carboidratos e cerca de 5% de cinzas (MOREIRA, 1999). Componentes como antioxidantes, isoflavonas, fosfolipídios, aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais fazem com que a utilização de produtos a base de soja na dieta alimentar contribua para uma melhor qualidade de vida (MANDARINO, 2002; SOUZA, 2000).

Muitos alimentos têm sido produzidos a partir da soja, tais como farinha, extrato hidrossolúvel e alguns produtos fermentados (SANNI et al., 1992,). O extrato hidrossolúvel de soja é visto como substituto de baixo custo para o leite de vaca em países em desenvolvimento e como um suplemento nutritivo para populações com intolerância à lactose (THYPPESWANY e MULIMANI, 2002).

A importância comercial e nutricional da soja para alimentação humana e animal é bem conhecida. Porém, junto com proteína e óleo alguns componentes indesejáveis também são encontrados nos grãos. Fatores antinutricionais como inibidores de tripsina, ácido fítico e oligossacarídeos de rafinose estão presentes em leguminosas, inclusive na soja. Por isso é importante determinar a composição de diferentes

cultivares de soja para selecionar aqueles com níveis altos de proteína e óleo e baixo nível de fatores indesejáveis (TRUGO et al., 1994).

A ingestão de soja e de alguns derivados resulta principalmente em flatulência, náuseas, desconforto e diarreia. Os principais causadores desses sintomas são os açúcares rafinose e estaquiose (WAGNER et al., 1976). Pelo fato da capacidade da soja e de outras leguminosas causarem flatulência em humanos, os produtos derivados de soja têm sido descritos como indutores de problemas digestivos em animais (COON et al., 1990). Em sementes de soja madura, os açúcares solúveis constituem aproximadamente 10% do peso seco. Sacarose, estaquiose e rafinose constituem mais que 99% dos açúcares solúveis presentes.

Flatulência é resultante do metabolismo anaeróbico de  $\alpha$ - 1,6-galactosídeos de rafinose (RO) presentes nos grãos das leguminosas (PRINCE *et al.*, 1988). A mucosa do intestino delgado de humanos e também de outros animais monogástricos, como aves e suínos, são desprovidos das  $\alpha$ - 1,6-galactosidases, enzimas necessárias à conversão dos RO em açúcares mais simples. Conseqüentemente, 100% dos RO não são degradados e são então conduzidos ao intestino grosso onde bactérias anaeróbicas possuem os sistemas enzimáticos necessários para fermentação desses açúcares, o que resulta em liberação de grandes quantidades de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> (STEGGERDA e DIMMICK, 1966; SUAREZ *et al.* 1999). Esta produção de gases é conhecida como flatulência intestinal e está associada com cólicas, diarreia, dispepsia e constipação. Desta forma, os RO presentes na soja e outras leguminosas assumem papel restritivo quanto ao consumo destes grãos como fonte protéica.

O ácido fítico ou inositol 1,2,3,4,5,6 hexafosfato (C<sub>6</sub>H<sub>18</sub>O<sub>24</sub>P<sub>6</sub>) encontra-se amplamente distribuído nos vegetais. Em cereais e leguminosas o teor de ácido fítico pode variar de 1 a 3 %, e constitui a principal forma de armazenamento de P, correspondendo de 60 a 90 % do P total (GRAF, 1983, REDDY et al., 1989). A soja e seus derivados contêm de 1 a 1,5% de ácido fítico que podem ser quelados com metais di e trivalentes, tais como Ca, Cu, Zn, Fe, Mg, Mn e Mo (RACKIS, 1974; FINNEY, 1978; BAU & DEBRY, 1879), e interagir com proteínas e

vitaminas (CHANG,1977). Na forma aniônica pode ligar-se a minerais, proteínas e amido no trato digestivo, diminuindo a biodisponibilidade destes em legumes e cereais. Assim, o fitato é considerado um fator antinutricional. Por outro lado, pode agir como antioxidante reduzindo a peroxidação de membranas e a formação de radicais livres e podendo atuar como anticarcinogênico, fornecendo proteção contra câncer do colo (GRAF et al., 1987; THOMPSON e ZHANG, 1991). Devido a estes aspectos, o interesse em manipular o teor de fitato em grãos tem crescido em todo mundo.

O fitato pode alterar significativamente as propriedades funcionais e nutricionais dos alimentos (CHERYAN, 1980). A fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) é capaz de promover a hidrólise total do fitato, porém, não está presente em humanos e animais monogástricos. Assim, o fitato desempenha um papel antinutricional na alimentação de humanos e monogástricos e a maior parte do P contido neste composto é indisponível e excretado sem ser absorvido (RABOY et al., 1991; REDDY et al., 1989).

Portanto, a identificação de genótipos de soja que tenham maiores teores de proteína e óleo e um teor de fatores indesejáveis mais baixo é de grande importância, visando seu uso em programas de melhoramento e para uso na alimentação humana e de animais. Também genótipos de soja com alto conteúdo de sacarose e com baixo conteúdo de rafinose e estaquiase são mais competitivos para utilização em alimentação humana.

Neste trabalho foram estudados diferentes genótipos de soja em relação à composição bioquímica dos grãos, incluindo teores de lipídeos, proteínas, carboidratos totais, sacarose, cinzas e umidade. Também foram determinadas as concentrações de fatores antinutricionais como os oligossacarídeos rafinose e estaquiase e de fitatos. Com este trabalho visou-se selecionar genótipos com maiores teores de proteína e sacarose e baixos conteúdos de rafinose, estaquiase e fitatos. Os genótipos selecionados poderão ser recomendados para uso na alimentação, e poderão ser utilizados em programas que visam aumento da qualidade nutricional da soja.

## **2 - OBJETIVOS**

### **2.1 - OBJETIVOS GERAIS**

Identificar genótipos de soja que tenham maiores concentrações de proteína e óleo e menores concentrações de fatores indesejáveis como oligossacarídeos de rafinose e ácido fítico, visando seu uso em programas de melhoramento do valor nutricional da soja, para uso na alimentação humana e de animais.

### **2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar a composição bioquímica dos grãos de soja, incluindo os teores de proteínas; lipídios; carboidratos totais; umidade; cinzas e do açúcar solúvel sacarose;
- Determinar as concentrações dos fatores antinutricionais incluindo fitatos e os açúcares solúveis rafinose e estaquiase;
- Determinar a correlação entre os teores dos parâmetros analisados
- Produzir um perfil mais completo da composição da soja, sendo útil para a seleção entre linhagens;
- Identificar genótipos de soja que sejam mais adequados ao programa de melhoramento, visando o uso na alimentação;

### **3 – REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 – A SOJA COMO FONTE DE ALIMENTO**

A soja, pelas suas qualidades nutricionais, facilidade de adaptação a quase todas as regiões do globo e facilidade de cultivo, pode ser considerada como um dos alimentos para as populações do futuro (BELLAVAR e SNIZEK, 1999).

A soja é considerada um alimento funcional porque além de funções nutricionais básicas, produz efeitos benéficos à saúde, reduzindo riscos de algumas doenças crônicas e degenerativas. É rica em proteínas de boa qualidade, possui ácidos graxos poliinsaturados e compostos fitoquímicos como: isoflavonas, saponinas, fitatos, dentre outros. Também é uma excelente fonte de minerais como cobre, ferro, fósforo, potássio, manganês, magnésio e vitamina do complexo B (EMBRAPA, 2007).

Devido ao seu alto valor nutricional a soja é mundialmente cultivada. Principalmente as indústrias alimentícias têm explorado comercialmente o potencial energético-protéico da soja, estimulando assim sua produção em larga escala. A soja possui uma fração protéica altamente significativa que é utilizada na fabricação de ração para a alimentação animal. A forma pela qual a soja é mais utilizada na produção animal é como farelo, que é resultante da extração de óleo, o qual também é largamente empregado pelas indústrias de ração. A fração óleo é destinada principalmente ao consumo humano (LIMA, 1999), sendo utilizada na indústria de alimentos para a produção de margarina, óleo de cozinha, agentes emulsificantes e vários outros produtos. Subprodutos de ambas as frações apresentam ainda diversas utilidades na indústria química e farmacêutica. Apesar da diversidade de utilização da soja, aproximadamente 83 % da produção mundial é utilizada para a extração de óleo, destinado principalmente ao consumo humano, e o farelo resultante é destinado à fabricação de ração animal (LIMA; ANGNES, 1999).

Mais recentemente, a fração protéica tem sido utilizada também para a alimentação humana, tanto como extrato hidrossolúvel de soja,

quanto na composição de outros alimentos. Os derivados protéicos da soja se enquadram em três produtos alimentícios básicos: farinhas, com cerca de 50% de proteínas; concentrados protéicos, com 70% de proteína e isolados protéicos de soja com 90-97% de proteína. Estes produtos básicos podem ser processados em produtos texturizados de soja, sendo utilizados em panificadoras como clarificadores de farinhas e agentes de melhoria das características de panificação e conservação (MOREIRA, 1999). O extrato hidrossolúvel de soja, mais conhecido como leite de soja, é utilizado na alimentação humana, particularmente como substituto ao leite de vaca. Tal uso é indicado para pessoas portadoras de certas intolerâncias ao leite de origem animal, e a algumas deficiências genéticas, como a ineficiência em metabolizar a lactose (DE LÚMEN, 1992).

Entretanto, o grão de soja apresenta em sua estrutura constituintes que interferem na utilização destas proteínas e de outras substâncias. Estes constituintes são denominados de antinutricionais e podem interferir na disponibilidade de nutrientes, resultando em inibição de crescimento, hipoglicemia, flatulência ou danos a tecidos como pâncreas ou fígado (LIENER, 1981).

Para melhorar a qualidade nutricional da soja e utilizá-la como alimento, há necessidade de remover ou inativar esses constituintes indesejáveis. Uma alternativa seria a criação de cultivares, através de manipulação genética, que contenham pequena ou nenhuma quantidade desses constituintes indesejáveis, porém, essa estratégia requer estudos prolongados sobre a natureza química e bioquímica destes compostos (SATHE & SALUNKHE, 1984). Por isso, é importante determinar a composição de genótipos diferentes, para selecionar aqueles com níveis altos de proteína e óleo e baixo conteúdo de fatores indesejáveis.

### 3.2-FATORES ANTI-NUTRICIONAIS DA SOJA

O uso da soja integral na alimentação de suínos e aves e na alimentação humana tem sido limitado pela necessidade de tratamentos para inativação de vários componentes antinutricionais presentes. Destacam-se os inibidores de proteases, lectinas, taninos, proteínas alergênicas e pouco digeríveis, as lipoxigenases, os oligossacarídeos de rafinose (ROs), ácido fítico e outros (BELLAVAR E SNIZEK, 1999).

Alguns fatores antinutricionais:

**Ácido fítico:** na classe dos fitatos, o ácido fítico é o componente mais conhecido, sendo encontrado na forma de mio-inositol 1,2,3,4,5,6, hexadiidrogênio-fosfato. Nas leguminosas, os fitatos estão associados às proteínas exercendo influência sobre a biodisponibilidade do ferro, evitando a complexação deste íon com a gástrica no estômago. Os fitatos também exercem influência na absorção de manganês, cobre (BRAZACA, 1997) e cálcio (O'TOOLE, 1999);

**Inibidores de proteases:** são proteínas amplamente distribuídas no reino vegetal que tem a capacidade de inibir a atividade de enzimas como a tripsina, a quimiotripsina e a carboxipeptidase (BENDER et al., 1981; CAMPOS, 1989 in SILVA E SILVA, 2000).

**As lectinas:** são moléculas protéicas que apresentam a propriedade de formar complexos com compostos glicídicos. Existe uma interação entre as lectinas e as glicoproteínas da superfície das hemácias, gerando aglutinação entre tais estruturas (CHEFTEL et al., 1989);

**Fatores alergênicos:** representados pelas proteínas glicinina e  $\beta$ -conglucina, que provocam reação de hipersensibilidade, o que compromete a integridade da mucosa intestinal (GRANT, 1989). ;

**Oligossacarídeos de Rafinose (RO):** são capazes de produzir flatulência, resultante do metabolismo anaeróbio desses açúcares (DE LÚMEN, 1992; PRINCE et al., 1988). Os açúcares não digeríveis são

fermentados no intestino grosso por bactérias anaeróbias, com produção de gases, tais como, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> (CALLOWAY et al., 1966).

### **3.3 - OLIGOSSACARÍDEOS DE RAFINOSE**

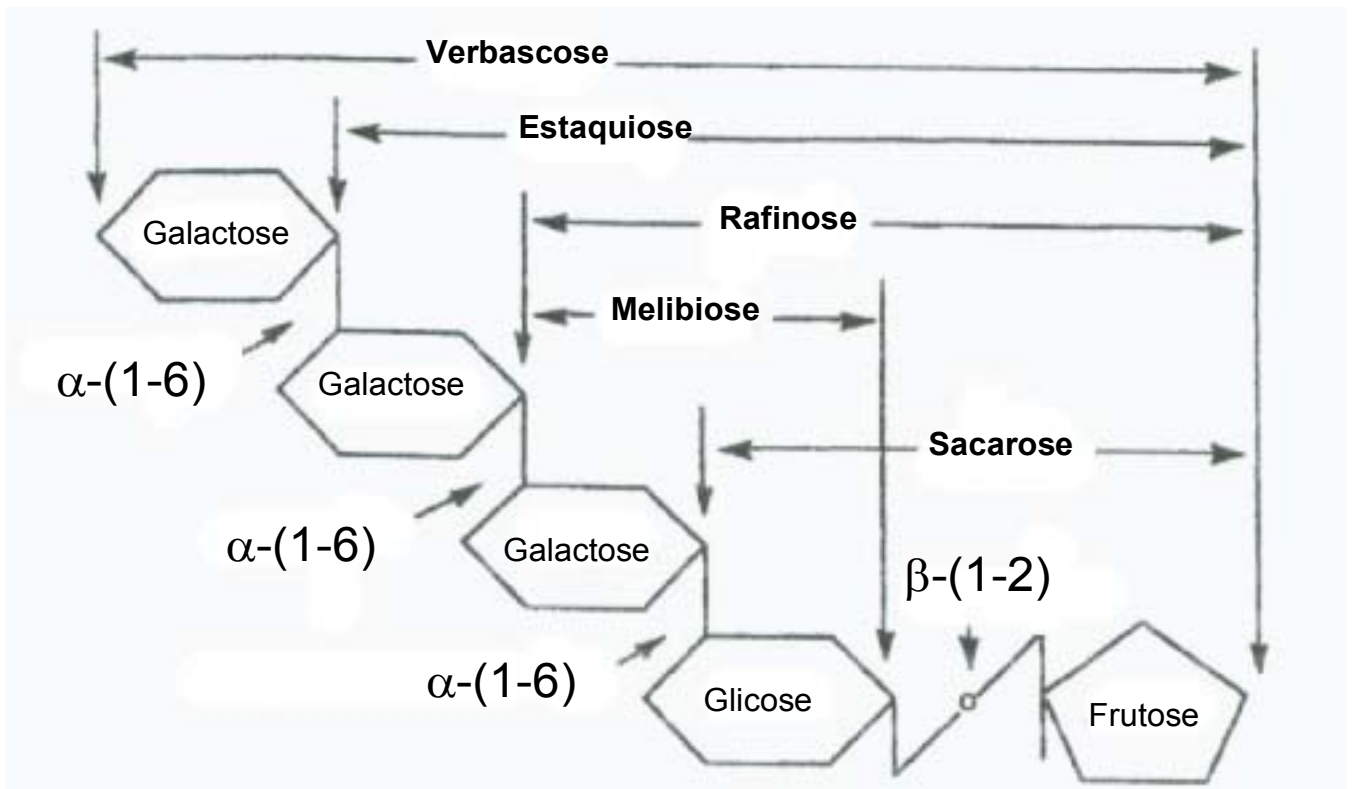
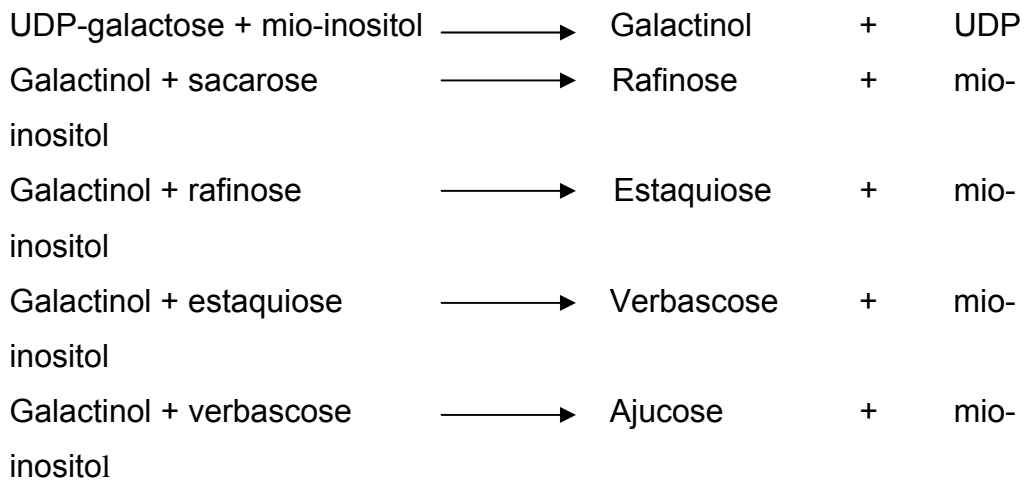
#### **3.3.1 - BIODÍNTESE E PAPEL FISIOLÓGICO DOS OLIGOSSACARÍDEOS DE RAFINOSE**

Os oligossacarídeos de rafinose são a fonte primária de energia e substratos para a síntese de vários compostos, durante a germinação das plantas que armazenam tais açúcares (JIMÉNEZ *et al.*, 1985).

Acredita-se que o papel primário dos ROs seja a de reserva (CHATTERTON *et al.*, 1990; DINNI *et al.*, 1989). Segundo DEY (1981), a rafinose é armazenada nos órgãos de reserva, sendo utilizada como precursora para a síntese de outros oligossacarídeos ou podendo ser hidrolisada por alfa-galactosidases.

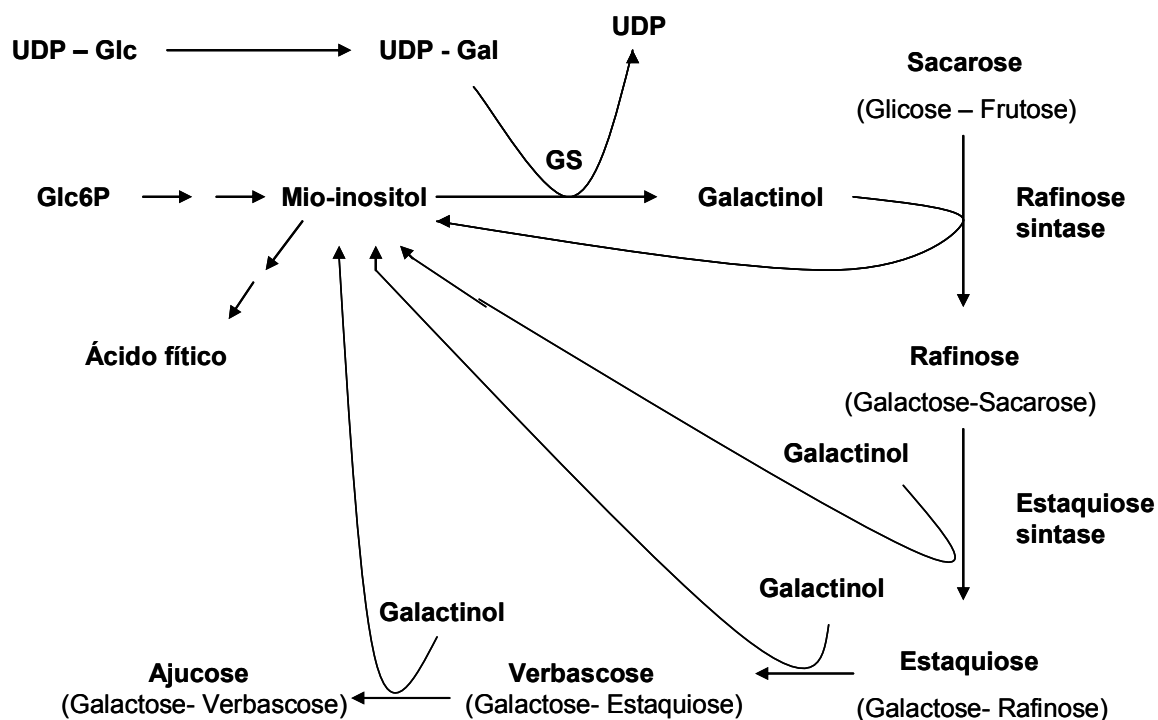
Além disso, os ROs têm outras funções nas plantas, eles servem como metabólitos de transporte de esqueletos carbônicos em muitas leguminosas e existem evidências de seu papel na adaptação das plantas ao frio e em conferir tolerância à dessecação durante o processo de maturação das sementes. Na ausência dos ROs, a tolerância das sementes à dessecação é perdida, mesmo que a sacarose esteja presente. Acredita-se que a sacarose seja o principal agente da tolerância à dessecação (KORTER e LEOPOLD, 1988), e que os ROs impeçam a cristalização da sacarose (LEOPOLD e VERTUCCI, 1986).

Segundo DEY (1985), a via metabólica de síntese dos ROs pode ser representada como se segue:



**Figura 1** – Estruturas dos açúcares envolvidos na síntese dos RO

Na Figura 2 está representado o esquema da via de síntese dos oligossacarídeos e suas enzimas:



**Figura 2-** Esquema da via metabólica de síntese dos RO (SUAREZ *et al.*, 1999).

A primeira reação é catalisada pela galactinol sintase (UDP-galactose: mio-inositol galactosil transferase; GS), que requer  $Mg^{+2}$  para sua atividade, produzindo galactinol a partir de UDP-galactose e mio-inositol (LIU *et al.*, 1995). Subsequentemente à primeira reação, sintases específicas catalisam a síntese de cada oligossacarídeo da série, através da transferência do galactinol para a sacarose, a rafinose, a estaquiose e a verbascose, com a produção de  $\alpha$ -1,6-galactosídios, tri, tetra, penta e hexassacarídeos de rafinose (RIBEIRO, 2001). A rafinose ocorre em plantas superiores nas folhas, caules e órgãos de reserva. Ocorre um acúmulo na concentração de rafinose com a perda de água nas sementes maduras (DEY,1985). A estaquiose é um dos mais abundantes tetrassacarídeos em plantas, reconhecida como o maior açúcar de reserva e transporte das leguminosas. Estaquiose é sintetizada a partir de rafinose em uma reação catalisada pela estaquiose sintase (galactinol: rafinose 6- $\alpha$ -D-galactosil transferase), onde o galactinol serve como doador de galactose. Verbascose e ajucose são penta e

hexassacarídeos, respectivamente. Estes oligossacarídeos coexistem com rafinose e estaquiose na maioria das leguminosas, estando presentes em órgãos de reserva (DEY, 1985, 1990).

### **3.3.2 - OCORRENCIA E DISTRIBUIÇÃO DOS OLIGOSSACARÍDEOS DE RAFINOSE EM PLANTAS**

Os ROs ocorrem no embrião de sementes de leguminosas e são quebrados durante a germinação, resultando no acúmulo temporário de galactose e sacarose nesses tecidos (DEY, 1980; SARAVITZ et al., 1987). Os ROs são o segundo tipo de carboidrato solúvel mais abundante nas plantas, após a sacarose.

Eles são sintetizados e depositados nos órgãos de armazenamento, como as sementes, durante o processo de maturação e são mobilizados durante os primeiros estádios da germinação (DEY, 1990).

Uma vez que existe variação entre cultivares de soja quanto ao conteúdo de RO, para sua redução em sementes de soja seria necessária a identificação de variedades que apresentassem sementes com baixos teores de oligossacarídeos e retrocruzamento entre os tipos parentais. Entretanto HYMOTWITZ et al. (1972) concluíram que devido à existência de uma correlação positiva entre concentração de proteína e de estaquiose na semente, torna-se difícil desenvolver uma linha de germoplasma de alta concentração de proteína e que tenha baixo teor de estaquiose.

Com o objetivo de obter sementes de soja com baixo teor de oligossacarídeos para uso na alimentação humana, SUAREZ *et al.* (1999) analisaram um grande número de sementes quanto à atividade das enzimas rafinose sintase e estaquiose sintase, que catalisam as etapas finais da síntese de rafinose e estaquiose, respectivamente. Esses estudos resultaram na identificação de sementes com atividade muito baixa para essas enzimas, as quais apresentam também baixa concentração de rafinose e estaquiose quando comparadas com sementes convencionais.

### **3.3.3 - IMPLICAÇÕES NUTRICIONAIS DOS OLIGOSSACARÍDEOS DE RAFINOSE**

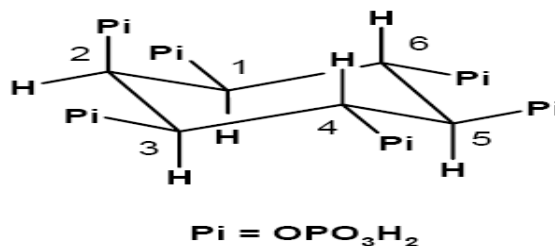
Os ROs são indigeríveis pelos mamíferos e podem causar flatulência em humanos. A hidrólise destes oligossacarídeos requer a ação da enzima  $\alpha$ -galactosidase, que hidrolisa um  $\alpha$ -galactosídeo e esta enzima não está presente no trato intestinal humano (GITZELMANN e AURICCHIO, 1965).

A ingestão de soja e derivados resulta no aparecimento de sintomas desagradáveis, o que limita o seu consumo. Dentre os sintomas desagradáveis, destaca-se a flatulência (de LUMEN, 1992), que é resultante do metabolismo anaeróbico de  $\alpha$ -1,6-galactosídeos de rafinose (ROs: oligossacarídeos de rafinose) presentes nos grãos das leguminosas em geral (PRICE et al., 1988). A mucosa do intestino humano e de outros animais monogástricos, como aves e suínos, é desprovida das enzimas  $\alpha$ -1,6-galactosidases (EC. 3.2.1.22  $\alpha$ -D-galactosil galactohidrolase), que são necessárias à conversão dos ROs em açúcares mais simples. Conseqüentemente, os ROs não hidrolisados são conduzidos à parte posterior do intestino, onde são fermentados anaerobicamente a  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  e  $\text{CH}_4$  pela microflora (PRICE et al., 1988). Desta forma, os RO presentes na soja e outras leguminosas assumem papel restritivo quanto ao consumo destes grãos como fonte protéica.

## 3.4 - ÁCIDO FÍTICO

### 3.4.1 - VIA DE BIOSÍNTESE DE ÁCIDO FÍTICO

A síntese de ácido fítico se dá por um processo de fosforilação da molécula de mio-inositol. A princípio, este pode ser suprido pela síntese *de novo* ou pode ser reciclado a partir de uma forma armazenada ou ainda ser translocado. No entanto, a síntese *de novo* é reconhecida como sendo a principal fonte de inositol em grãos, o qual envolve a conversão de glicose-6P em mio-inositol-1P pela ação da enzima mio-inositol-1-P-sintase (MIPS) (LOEWUS e MURTHY, 2000).



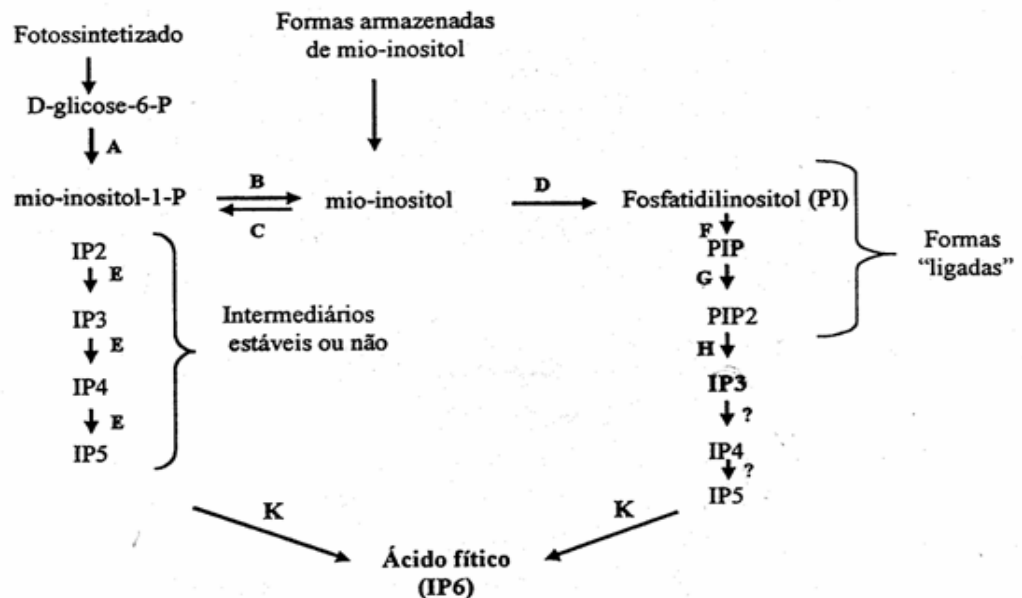
**Figura 3** – Estrutura do ácido fítico

A partir do mio-inositol-monofosfato o processo de fosforilação é continuado sucessivamente até a formação do mio-hexaquisfosfato (IP6) ou ácido fítico. Para explicar a via biossintética do IP6 existem muitas propostas na literatura. Dentre estas, há uma fosforilação sucessiva da molécula de mio-inositol com ausência de intermediários parcialmente fosforilados estáveis (BISWAS et al., 1978), ou envolve fosforilação sucessiva, porém com a presença dos intermediários (BREARLEY e HANKE, 1996). Em ambas, a fosforilação ocorre pela ação de quinases.

No caso da via que se refere à presença dos polifosfoinositídeos como intermediários, a formação de IP3 ocorre pela ação da fosfolipase C e os demais intermediários também são formados por quinases, em que duas fosforilações sucessivas que levam o IP3 ao IP5, e finalmente o IP5 para o IP6 através da pentaquisfosfato quinase (MAJERUS et al., 1988).

Esta última conversão é comum em todas as vias, o que varia é a posição do fósforo na molécula de mio-inositol (Figura 4).

Independente do caminho de síntese do ácido fítico, o fósforo, mio-inositol ou glicose podem ser usados como primeiros substratos a serem incorporados na via de síntese de fitato. O fósforo é incorporado na forma de ATP, a glicose e mio-inositol são fontes de carbono (LOEWUS & LOEWUS, 1983). Tanto glicose como mio-inositol podem gerar mio-inositol-1P através de duas enzimas, mio-inositol-1-P-sintase e mio-inositol-quinase, respectivamente (LOEWUS & MURTHY, 2000). As vias de biossíntese do ácido fítico estão mostradas na Figura 4.



**Figura- 4-** Possíveis vias metabólicas envolvidas na síntese de ácido fítico. À esquerda, via proposta por Biswas et al., (1978) na ausência de intermediários estáveis, ou no caso dos intermediários estáveis refere-se à via proposta por Brealy e Hanke, (1996). À direita, via proposta por Majerus et al., (1988), A= 1 L-mio-inositol-1P-sintase; B= 1L-mio-inositol-1P fosfatase; C= mio-inositol-quinase; D= fosfatidil inositol sintase; E= quinases; F= Pi quinase; G= PIP quinase; H= fosfolipase C e K= pentaquifosfato quinase.

### **3.4.2 - OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO EM PLANTAS**

O ácido fítico é sintetizado a partir de um álcool cíclico, o mio-inositol, por esterificações dos grupos hidroxilas com grupos fosfatos. Existem nove estereoisômeros de inositol: cis, epi, alo, neo, mio, muco, 1L-chiro, 1D-chiro e scilo- inositol. Desses, sete ocorrem na natureza na forma livre ou combinada, porém apenas a forma mio tem sido observada em tecidos de plantas, incluindo grãos, raízes, tubérculos e tecidos vegetativos (RABOY, 1990). O fitato é tipicamente depositado como inclusões globulares juntamente com as proteínas de reserva (LOTT et al., 1995). Nos cereais, o ácido fítico concentra-se na camada do aleurona e no germe. As dicotiledôneas podem ter o fitato depositado no endosperma, cotilédones e eixo embrionário, sendo que a menor percentagem se encontra no eixo embrionário (LOTT et al., 1995).

O fitato no grão de soja representa em torno de 50 a 70 % do fósforo total (REDDY et al., 1989). Segundo SOUZA (2003), as variações nos valores de ácido fítico (no grão de soja), encontradas na literatura, são devidas, além do genótipo, a variações nas condições ambientais, na dose aplicada de fertilizantes, o armazenamento e nos métodos de determinação.

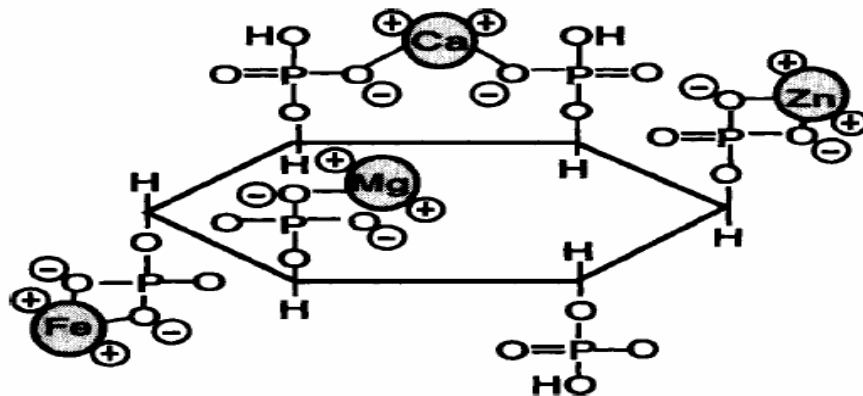
### **3.4.3 - IMPLICAÇÕES NUTRICIONAIS DO ÁCIDO FÍTICO**

O fitato pode alterar significativamente as propriedades funcionais e nutricionais dos alimentos (CHERYAN, 1980). A importância antinutricional destes sais deve-se à interação dos grupos fosfato com amido, minerais e proteínas, levando a alteração na solubilidade, funcionalidade, digestibilidade e absorção desses nutrientes (REDDY et al., 1989).

A fitase é a principal enzima responsável pela hidrólise do fitato durante a senescência e germinação, resultando em fósforo inorgânico e

inositol com vários graus de fosforilação. Esta enzima apresenta grande distribuição na natureza tanto em microrganismos como em sementes como, soja, feijão, trigo. Porém, não está presente em humanos e animais monogástricos. Dessa forma o ácido fítico desempenha um papel antinutricional na alimentação humana e dos animais monogástricos e a maior parte do P contido neste composto é indisponível e excretado sem ser absorvido (RABOY et al., 1991; REDDY et al., 1989).

O fitato diminui o aproveitamento principalmente de Fe, Zn, Ca e Mg. Como pode ser observado na figura 5.



**Figura 5** - Complexo formado entre o ácido fítico e elementos químicos Fe, Zn, Ca e Mg.

Embora o teor de fitato nas sementes dependa em grande parte das condições ambientais, como o fornecimento de fósforo à planta (BUERKERT et al., 2001; RABOY e DICKINSON, 1993), existe uma importante variabilidade genética no teor de fitato e isto parece ser controlado por muitos genes. Em um estudo de campo com vinte genótipos de soja, a concentração de ácido fítico nas sementes variou entre 18,8 a 27,7g kg<sup>-1</sup> (RABOY et al., 1984).

Devido a ação da fitase durante o armazenamento, os grãos geralmente apresentam grande parte do P na forma de mio-inositol hexaquisfosfato (IP6), uma pequena parte na forma de mio-inositol penta e tetraquisfosfato (IP5 e IP4) e muito pouco em outras formas como tri, di e

monofosfato de mio-inositol (IP3, IP2 e IP) (AYET et al., 1997). O grau de solubilidade e de interação com os minerais, proteínas e amido está diretamente relacionado com o grau de fosforilação do fosfato de inositol. Quanto maior for, maiores são as implicações sobre a biodisponibilidade destes nutrientes (GUSTAFSSON & SANDBERG, 1995; SANDBERG et al., 1999).

Estudos indicam que os complexos fitatoproteína são formados por interações eletrostáticas que envolvem os grupos  $\alpha$ -amino terminal,  $\epsilon$ -amino da lisina, imidazol da histidina, guanidil da arginina e carboxílico do ácido aspártico e ácido glutâmico (CHERYAN, 1980; ALLI & BAKER, 1981).

Sob certas concentrações de fitato, ao aumentar o pH, pode ocorrer tanto à interação de fitatos com minerais ou com proteínas (CHAMPAGNE & PHILLIPPY, 1989), como também a formação de complexos ternários proteína-metal-fitato (CHERYAN, 1980; GRAF, 1983).

GRYNSPAN & CHERYAN (1989) sugerem que a interação de cálcio, fitato e proteína de soja, parece ser afetada pelo pH do meio e pela concentração dos três componentes. Em pH menor que 4, o fitato associa-se com a proteína da soja para formar complexos insolúveis nos quais a participação do cálcio dependerá de sua concentração. Quando o cálcio está em excesso, este pode deslocar o fitato do complexo fitato-proteína e torná-lo solúvel. Com o pH maior que 6,5 e concentração de cálcio elevada, o fósforo precipita e a proteína permanece solúvel como resultado da formação de complexos cálcio-fitato insolúveis.

## **4 – MATERIAIS E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Análises Bioquímicas do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa.

### **4.1 – REAGENTES UTILIZADOS**

Éter de petróleo, ácido sulfúrico concentrado, ácido clorídrico concentrado, foram obtidos da Quimex.

2,2 bipyridina e Cloreto férrico 6 H<sub>2</sub>O foram adquiridos da Vetec Química Fina.

Rafinose, estaquiose e fitato de sódio foram obtidos da Sigma Chemical Company.

Os demais reagentes utilizados apresentaram procedência e grau de pureza analíticos.

### **4.2 - GENÓTIPOS DE SOJA**

Neste trabalho foram utilizados sementes de soja de trinta e quatro genótipos diferentes: CS 02 521, CS 02 302, CS 821, MSOY 8001, Vencedora, CS 01 736, CS 02 884, CS 02 564, CS 02 449, CS 02 731, CS 01 873, CS 02 988, CS 02 1026, Luziania, Monarca, Garantia, Elite, CS 144 RR, CS 33 RR, CS 132 RR, CS 95 RR, CS 179 RR, CS 206 RR, CS 73 RR, CS 186 RR, CS106 RR, Valiosa, MSOY 7878, MSOY 8008, MSOY 8585, MSOY 8787, Silvania, Balisa e CS 801, cedidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Soja do BIOAGRO, da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.

Esses genótipos foram plantados na estação experimental da COOPADAP situada no município de São Gotardo no Estado de Minas Gerais em 2006.

### 4.3 - DETERMINAÇÃO do CONTEÚDO de PROTÉINA

Para extração de proteína das amostras foi usado o Método proposto por Kjeldahl (1883), que consiste em aquecer inicialmente a amostra contendo nitrogênio com excesso de ácido sulfúrico concentrado até que todo carbono seja oxidado a CO<sub>2</sub>.

Foram pesados aproximadamente 0,300 g de grãos moídos dos diferentes genótipos de soja, e levados para bloco digestor, sendo então adicionados 10 ml da mistura digestora (ácido sulfúrico concentrado, 1% selênio e 1% de sulfato de cobre). Após a digestão quase total (uma hora, a 270°C) as amostras foram resfriadas e foi adicionado 1ml de peróxido de hidrogênio. As amostras foram novamente colocadas no bloco digestor por 1 hora, para completar a digestão. Estas foram novamente resfriadas e foram adicionados 10 ml de água. As amostras foram então destiladas e em seguida foi feita a titulação com HCl 0,05 M.

O cálculo do teor de N nas amostras foi realizado como se segue:

Nº de meq HCl = Nº de meq N na amostra

$$V_{\text{HCl}} \times N_{\text{HCl}} \times f_{\text{HCl}} = \frac{m \text{ de N (mg)}}{\text{PE do N}}$$

$$V_{\text{HCl}} \times N_{\text{HCl}} \times f_{\text{HCl}} \times 14 \times \frac{100}{P \text{ amostra}} \times \frac{1}{1000} = \text{Teor r (\% de Nitrogênio na}$$

amostra.

O teor de nitrogênio na amostra é convertido para proteína por um fator relativo ao teor de nitrogênio da proteína. No caso de leguminosas esse fator é de 6,25.

$\% \text{ Proteína na amostra} = \% \text{ Nitrogênio} \times 6,25$
--

#### 4.4 – DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE LIPÍDIOS

Para extração de lipídios foi utilizado o Método Intermitente Soxhlet (GOMES et al. 2001). A amostra (5 g) foi pesada em um cartucho extrator. Um balão, previamente seco a 105° C por 1 hora, foi pesado e mantido em dessecador. O cartucho com a amostra foi transferido para o aparelho Soxhlet, conectado com o balão e o condensador. Adicionou-se éter de petróleo em quantidade suficiente para encher duas vezes o extrator. O aquecimento foi ligado e a extração procedeu continuamente por seis horas. O balão foi levado para estufa a 105° C por cinco horas, e depois resfriado em dessecador e pesado. Repetiu-se o aquecimento e o resfriamento até peso constante.

$$\% \text{ Lipídeos} = \frac{L}{P} \times 100$$

Onde L = peso de lipídeos na amostra (g), e P = peso da amostra (g)

#### 4.5 - DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE CINZAS

Para extração das cinzas foi usado o método descrito por GOMES et al., (2001). Um cadinho de porcelana foi pesado (previamente aquecido em mufla a 550° C, resfriado em dessecador) e anotado o peso. Em seguida, aproximadamente 3 g de amostra foram pesadas e anotado o peso do cadinho e da amostra. A amostra foi carbonizada em temperatura baixa (200° C) e incinerada em mufla a 550° C até que as cinzas se tornassem brancas. O material foi resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado.

O cálculo do teor de cinzas foi dado pela fórmula seguinte:

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{C}{A} \times 100$$

Onde C = peso das cinzas (g), e A = peso da amostra (g)

#### **4.6 – DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE ÁCIDO FÍTICO**

O ácido fítico foi extraído segundo o método descrito por HAUG e LANTZSCH (1983). O volume de 1,5 ml de HCl 0,2 M foi adicionado a 0,015 g de farinha de soja para extração. Em seguida a mistura foi agitada durante 30 min a 25 °C e centrifugada a 17200 x g durante 15 min. O sobrenadante (0,5 ml) foi misturado com 1 ml de solução de FeCl<sub>3</sub> (0,11g de cloreto férrico foram dissolvidos em 100ml de HCl 0,2M e o volume foi completado para 1000ml) em HCl 0,2 M, e em seguida a mistura foi aquecida por 30 min a 100 °C. Após resfriamento a temperatura ambiente, a mistura foi centrifugada a 3000 x g durante 15 min a 25 °C. O sobrenadante (0,5 ml) foi misturado com 0,75 ml de solução de bipyridina (10g de bipyridina, 10ml de ácido tioglicólico em 1000 ml de água destilada). Logo após, foi feita a leitura da absorbância em 519 nm e os valores foram transformados em concentração de ácido fítico pelo uso de uma curva padrão construída a partir de soluções de diferentes concentrações de fitato de sódio. A concentração de ácido fítico foi expressa em g/100 g.

#### **4.7 – DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE OLIGOSSACARÍDEOS**

A extração dos oligossacarídeos das sementes de soja foi realizada de acordo com a metodologia proposta por GUIMARÃES et al (2001). As sementes foram moídas, foram pesado cerca de 30 mg de farinha, as quais foram utilizadas para o processo de extração dos oligossacarídeos. A fração óleo presente na farinha foi retirada por 3 extrações sucessivas com 1,0 ml de éter de petróleo a 42 °C por 5 min. Três etapas sucessivas de tratamento com etanol 80 % a 100 °C por 5 min foram usadas para extrair os oligossacarídeos da farinha desengordurada. Após cada extração com etanol 80 % a mistura foi

centrifugada em centrífuga do tipo Eppendorff 5415C, 14.000 rpm, por 5 min. O extrato alcoólico total obtido foi evaporado em estufa a 50 °C, e os oligossacarídeos ressuspensos em 1,0 ml de etanol 80 % e congelados a -20°C. Essa solução foi submetida à centrifugação por 10 min e filtrada em filtro Milipore de 0,45 micra de diâmetro. O filtrado foi analisado em CLAE.

Para quantificação dos oligossacarídeos, inicialmente foi feita uma padronização do método (CLAE). A partir de uma solução estoque contendo mistura de diferentes açúcares ( frutose, sacarose, rafinose e estaquiase) nas concentrações de 4, 4, 8 e 8 % (p/v), respectivamente, foram feitas diluições para obtenção das soluções padrão. Cada solução foi injetada no cromatográfico para obtenção das curvas, correlacionando a área do pico com a concentração do açúcar na solução. As retas foram obtidas por regressão linear.

Os ROS extraídos foram analisados por CLAE em cromatógrafo Shimadzu série 10A, equipado com detector de índice de refração, uma coluna em aço inox (25 X 0,465 cm) contendo na fase estacionária o grupo aminopropil (-NH<sub>2</sub>). A mistura acetonitrila-água (80:20) em condições isocráticas foi a fase móvel. As análises foram realizadas a 35 °C sob o fluxo de 1 ml/min e todo o processo foi controlado por um computador acoplado ao sistema.

Um volume de 20 µL de cada amostra foi injetado no cromatógrafo e cada açúcar presente foi identificado e quantificado por comparação com os tempos de retenção e concentrações dos açúcares nas soluções padrões.

#### **4.8 – DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE CARBOIDRATOS**

A determinação do teor de carboidrato foi realizada após determinação do teor dos outros constituintes, sendo feita por diferença. Somou-se a porcentagem dos outros constituintes e foi feita a seguinte operação:

100% - somatório das porcentagens (proteínas + lipídeos + cinzas+umidade).

#### **4.9 – DETERMINAÇÃO DE UMIDADE**

O teor de umidade foi determinado de acordo com os procedimentos descritos em Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 1985). A amostra (1g) foi colocada em placa de Petri (previamente seca e com seu peso anotado) e levada para estufa a 105°C. A amostra foi pesada e o procedimento foi repetido até que a amostra tivesse peso constante.

#### **4.10 – ANÁLISES ESTATÍSTICAS**

Os dados foram submetidos à análises estatísticas de acordo com os objetivos do presente trabalho, utilizando, para isso, o programa GENES.

Foi realizada análise de variância considerando o modelo de blocos casualizados, com a finalidade de estimar os componentes de variância. A significância dos efeitos foi avaliada utilizando-se o teste F. Os dados foram tratados pelo teste de agrupamento de Scott Knott, ao nível de 5%, utilizando o software GENES (CRUZ, 2001).

## **5 – RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **5.1-COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DOS CULTIVARES DE SOJA**

Os resultados das análises dos teores médios de proteína, óleo, cinzas, carboidratos totais, sacarose e açúcares solúveis, assim como o resultado dos testes de médias realizados estão apresentados nas Tabelas 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente.

A composição bioquímica das sementes dos 34 cultivares analisados estão de acordo com os padrões observados na literatura. CASTRO, MILLAN e LAGO (1973) verificaram que a concentração de proteína variou de 29,2 % a 57,9 % e a de lipídeos variou entre 14,7 % a 28,4 %. Segundo Moreira (1999) a maioria dos cultivares de soja apresenta de 20 a 35 % de carboidratos e cerca de 5% de cinzas. Os genótipos do Programa de Melhoramento Genético do Bioagro analisados neste trabalho diferiram estatisticamente, a de 5% de significância, em relação a todos os caracteres testados.

#### **5.1.1 – Conteúdo de Proteína**

Pela análise de variância pode-se observar que houve diferença significativa entre os cultivares para o conteúdo de proteína, fato este já conhecido e que constitui a base da seleção, no sentido de obter cultivares com maior concentração de proteína.

A concentração de proteína variou de 37,31 %, genótipo CS 02 449 a 41,43,% genótipo Monarca. De acordo com as análises estatísticas, três grupos foram formados. O grupo A ficou constituído de 6 genótipos , com conteúdo de proteína variando de 40,61 a 41,43 %. O grupo B foi constituído de 19 genótipos, tendo uma variação no conteúdo de proteína de 39,05 a 40,25 %. E o grupo C foi formado por 9 genótipos, com o conteúdo de proteína variando de 37,31 a 38,36 %. Esses dados podem ser observados na tabela 1.

**Tabela 1** – Comparação entre médias para o conteúdo de proteína (%) avaliados nos 34 genótipos de soja

<b>Cultivar</b>	<b>Proteína (%)</b>
Monarca	41,43a
Elite	41,30 a
Balisa	41,27 a
MSOY 8585	41,10a
CS 02 302	40,72a
CS 144 RR	40,61a
Garantia	40,25b
CS 132 RR	40,12b
CS 02 884	40,11b
CS 179 RR	40,06b
MSOY 7878	40,01b
Luziana	39,97b
CS 01 873	39,88b
MSOY 8787	39,87b
MSOY 7878	39,81b
CS 33 RR	39,78b
CS 95 RR	39,71b
CS 206 RR	39,68b
CS 02 564	39,54b
CS 106 RR	39,47b
Valiosa	39,46b
CS 02 988	39,43b
CS 01 736	39,32b
CS 821	39,09b
CS 02 731	39,05b
CS 02 521	38,36c
CS 73 RR	38,31c
CS 801	38,26c
Vencedora	38,26c
CS 02 1026	37,98c
Silvania	37,83c
CS 186 RR	37,50c
MSOY 8001	37,38c
CS 02 449	37,31c

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente ao nível de 5%.

BARROS (2006), analisando a composição de diferentes cultivares de soja e a interação genótipo x ambiente, encontrou uma variação no

conteúdo de proteína de cultivares cultivados em São Gotardo de 37,54 % a 41,26 %.

MORAIS et al. (2006) analisaram duas isolinhas de alta concentração de proteína e uma linhagem com concentração de proteína normal, encontrando valores de 47,8 % e 46,56 % de proteína para as isolinhas e 40,68 % de proteína para linhagem, demonstrando que a concentração de proteína na soja pode chegar a níveis bem elevados.

Em contraste YAMADA et al. (2003), estudando quatro cultivares de soja desenvolvidos e melhorados no Brasil, encontraram concentrações de proteína mais baixas, variando entre 33,42% a 35,07%.

Genótipos de soja com alto teor de proteína são de grande interesse para uso na alimentação, tanto de humanos como de animais.

Levando em conta as considerações acima, os genótipos que mais se destacaram para uso como fonte de proteína foram Monarca, Elite, Balisa, MSOY 8585, CS 02 302 e CS 144 RR.

MILAGRES (1996), testando formulados (extratos solúveis) à base de soja, obteve resultados que indicaram que a qualidade protéica destes se assemelhava à da caseína, tendo a vantagem de serem mais bem tolerados por pacientes desnutridos.

A soja contribui na alimentação com uma proteína de boa qualidade. A composição de aminoácidos essenciais, quando comparada com o padrão da Organização de Alimentação e Agricultura (FAO), indica que, com exceção dos aminoácidos sulfurados, ela apresenta teores de aminoácidos devidamente balanceados (DE, 1971).

Os aminoácidos limitantes na soja e em todas as leguminosas são metionina e cisteína. Por outro lado, a proteína da soja é rica em lisina, aminoácido limitante nos cereais, os quais geralmente são ricos em aminoácidos sulfurados, o que torna a soja uma fonte protéica ideal para complementar os cereais (LIU, 1997; BAU et al., 2000).

ANTUNES e SGARBIERI (1980) relataram que o valor biológico da soja se deve, principalmente, às suas propriedades como alimento protéico, apresentando alto teor de proteínas de fácil digestão e fonte de óleo de boa qualidade.

### 5.1.2 - Conteúdo de Lipídios

Como pode ser observado na tabela 2, o efeito da variedade sobre o conteúdo de óleo foi significativo a 5 % de probabilidade. A confirmação de este efeito nos genótipos em estudo é altamente relevante, pois um dos objetivos em trabalhos de melhoramento de soja é a obtenção de variedades com alto teor de óleo.

A análise estatística estabeleceu 5 grupos significativamente diferentes. O grupo A foi formado apenas por um genótipos CS 801 (concentração de lipídio 23,20 %), o grupo B foi formado por 4 genótipos (concentração de lipídio variando de 21,92 a 22,38 %), o grupo C foi constituído por 12 genótipos (concentração de lipídios variado de 21,03 a 21,75 %), o grupo D foi formado por 11 genótipos (concentração de lipídios variando de 20,08 a 20,81 %) e finalmente o grupo E foi constituído de 6 cultivares (concentração de lipídio variando de 18,72 a 19,86 %).

Para o parâmetro óleo, o genótipo que apresentou o maior teor foi CS 801, com teor médio de 23,20 %. Segundo SALUNKHE et al. (1983), a soja também deve sua importância econômica e nutricional ao elevado teor de lipídios. Genótipos com elevado teor de lipídios são de grande importância para indústria alimentícia, uma vez que o óleo de soja é utilizado em vários produtos como margarina, óleo de cozinha, agentes emulsificantes e outros. A soja domina o mercado mundial de óleo comestível. Este produto surgiu pelo processamento da soja na obtenção do farelo de soja, transformando-se em um produto líder dentro da comercialização de óleos (MORETTO e FETT, 1998).

**Tabela 2** – Comparação entre médias para o conteúdo de lipídios (%) avaliados nos 34 genótipos de soja

Cultivar	Lipídio (%)
CS 801	23,20a
CS 02 449	22,39b
Vencedora	22,16b
CS 186 RR	22,04b
CS 02 564	21,92b
MSOY 7878	21,75c
MSOY 8001	21,68c
CS 01 873	21,52c
CS 02 521	21,51c
Garantia	21,51c
Valiosa	21,41c
CS 01 1026	21,39c
CS 33 RR	21,38c
CS 02 988	21,24c
Luziania	21,22c
Silvania	21,21c
CS 02 884	21,03c
CS 179 RR	20,81d
Balisa	20,76d
CS 95 RR	20,74d
CS 73 RR	20,68d
CS 821	20,65d
CS 132 RR	20,31d
MSOY 8787	20,14d
CS 02 302	20,12d
CS 106 RR	20,11d
CS 02 731	20,08d
CS 01 736	20,08d
MSOY 8008	19,86e
Monarca	19,76e
CS 144 RR	19,66e
CS 206 RR	19,66e
MSOY 8585	19,63e
Elite	18,72e

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente ao nível de 5%.

A maioria das leguminosas tem menos de 10 % de lipídios. Em contraste, a soja tem aproximadamente 20 %, vindo após o amendoim, que tem 48 % em base de matéria seca. O ácido linoléico ( $\omega$ -6) contribui

com aproximadamente 53 % do conteúdo total de ácidos graxos do óleo de soja, enquanto o ácido graxo  $\alpha$ -linolênico ( $\omega$ -3) contribui com aproximadamente 8 % (LIU, 1997).

### 5.1.3 - Conteúdo de Cinzas

Na tabela 3 pode-se observar que houve diferença significativa ao nível de 5 % de probabilidade entre os genótipos e o conteúdo de cinzas. Três grupos significativamente diferentes ao nível de 5 % foram formados ao se realizar a análise estatística. O grupo A foi constituído de dois genótipos, com conteúdo de cinzas variando de 4,87 a 5 %; o grupo B foi formado por oito genótipos, com variação no conteúdo de cinzas de 4,63 a 4,80 % e o último grupo, o Grupo C, foi constituído por vinte e quatro genótipos, com uma variação de 4,23 a 4,60 % no conteúdo de cinzas.

YAMADA et al. (2003), analisando a composição química da soja, encontrou variação no conteúdo de cinzas de 4,11 a 5,19 %.

Estes resultados indicam que os cultivares possuem diferentes capacidades de absorção de elementos do solo. Dentre os genótipos analisados, os que apresentaram maiores conteúdos de cinzas foram Elite, com conteúdo médio de 5 % e CS 02 731 com conteúdo de 4,87 % .

**Tabela 3** – Comparação entre médias para o conteúdo de cinzas (%)  
avaliados nos 34 genótipos de soja

Cultivar	Cinzas (%)
Elite	5,00a
CS 02 731	4,87a
CS 73 RR	4,80b
CS 02 988	4,80b
CS 02 1026	4,77b
CS 02 302	4,73b
CS 02 521	4,73b
CS 144 RR	4,70b
CS 01 873	4,63b
CS 02 449	4,63b
CS 179 RR	4,60c
CS 02 884	4,60c
CS 206 RR	4,57c
CS 95 RR	4,57c
CS 132 RR	4,57c
Balisa	4,53c
CS 106 RR	4,53c
CS 186 RR	4,53c
CS 33 RR	4,53c
Garantia	4,53c
MSOY 8787	4,50c
MSOY 8008	4,50c
MSOY 8585	4,47c
Monarca	4,47c
Luziania	4,47c
CS 01 731	4,47c
CS 821	4,47c
MSOY 7878	4,43c
MSOY 8001	4,43c
CS 801	4,40c
CS 02 564	4,40c
Vencedora	4,40c
Valiosa	4,27c
Silvania	4,23c

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente ao nível de 5%.

#### 5.1.4 - Conteúdo de Carboidratos totais

Na Tabela 4 pode-se ver que dois grupos significativamente diferentes a 5% de probabilidade foram formados ao se realizar a análise estatística. O grupo A foi formado por dezoito genótipos de soja, que apresentaram uma variação de 24,42 a 26,09 % no conteúdo de carboidratos. O grupo B ficou constituído por dezesseis genótipos que apresentaram conteúdo de carboidratos totais nas sementes entre 22,57 a 24,21 %.

MACHADO (2005) encontrou valores de carboidratos de 23,08 e 25,87 %, em dois cultivares de soja analisados.

Os genótipos que apresentaram maior conteúdo de carboidratos foram: Silvania, CS 01 736, CS 186 RR, CS 206 RR, CS 02 731, CS 02 1026, MSOY 8001, CS 821, CS 73 RR, CS 106 RR, CS 02 449, CS 95 RR, Valiosa, MSOY 8787, Vencedora, MSOY 8008, CS 02 521, MSOY 8585.

O valor econômico dos carboidratos da soja é considerado pequeno se comparado com as proteínas e os lipídeos. O uso principal dos carboidratos da soja tem sido na alimentação animal, contribuindo para a ingestão calórica (ASA, 2005).

**Tabela 4** - Comparação entre médias para o conteúdo de carboidratos (%) avaliados nos 34 genótipos de soja

Cultivar	Carboidrato (%)
Silvania	26,09a
CS 01 736	25,66a
CS 186 RR	25,57a
CS 206 RR	25,47a
CS 02 731	25,45a
CS 02 1026	25,38a
MSOY 8001	25,30a
CS 821	25,27a
CS 73 RR	25,09a
CS 106 RR	25,06a
CS 02 449	25,00a
CS 95 RR	24,97a
Valiosa	24,95a
MSOY 8787	24,87a
MSOY 8008	24,59a
CS 02 521	24,44a
MSOY 8585	24,42a
CS 144 RR	24,21b
CS 179 RR	24,13b
CS 02 884	24,10b
CS 132 RR	24,04b
CS 02 988	23,93b
MSOY 7878	23,88b
CS 02 564	23,88b
Elite	23,80b
Monarca	23,63b
CS 33 RR	23,55b
CS 01 873	23,50b
CS 02 302	23,38b
CS 801	23,37b
Garantia	23,24b
Luziania	22,76b
Balisa	22,57b

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente ao nível de 5%.

### 5.1.5 - Conteúdo de Açúcares Solúveis

Como se pode observar na Tabela 5, com a análise estatística dos dados foi estabelecido três grupos distintos com relação ao conteúdo de açúcares solúveis. O conteúdo de açúcares solúveis de cada genótipo foi dado pela soma dos conteúdos de sacarose, estaquiase e rafinose. O grupo A foi formado por quatro genótipos, tendo o conteúdo de açúcares solúveis variado de 10,98 a 11,71 %. O grupo B foi formado por onze genótipos, sendo que o conteúdo de açúcares solúveis variou entre 10,28 a 10,64 %, e o grupo C foi constituído por dezenove genótipos, com conteúdo de açúcares solúveis variando entre 9,16 e 10,07 %.

Os genótipos que apresentaram maiores conteúdos de açúcares solúveis foram Sylvania, Monarca, CS 186 RR e MSOY 8001.

TRUGO et. al (1994), analisando vários cultivares de soja, encontraram variação no teor de açúcares solúveis de 8,5 a 11,0 %.

O conteúdo de açúcares solúveis, em sementes de soja madura, representa aproximadamente 10 % (p/p) do peso seco. A sacarose, estaquiase e rafinose constituem mais que 99 % desses açúcares (HYMOWITZ et al., 1972). Experimentos tem estabelecido que esses açúcares são capazes de proteger a integridade estrutural das membrana, durante a dessecação das sementes (CROWE e CROWE, 1992).

**Tabela 5** - Comparação entre médias para o conteúdo de açúcares solúveis (%) avaliados nos 34 genótipos de soja

Cultivar	Açúcares Solúveis (%)
Silvania	11,71a
Monarca	11,32a
CS 186 RR	10,99a
MSOY 8001	10,98a
CS 02 521	10,64b
CS 33 RR	10,58b
Vencedora	10,58b
Valiosa	10,48b
MSOY 8008	10,44b
MSOY 7878	10,44b
CS 821	10,42b
CS 02 449	10,38b
MSOY 8787	10,28b
CS 02 884	10,07c
Elite	10,03c
CS 73 RR	10,01c
CS 132 RR	9,73c
CS 01 873	9,72c
CS 821	9,71c
CS 02 564	9,71c
CS 144 RR	9,68c
CS 106 RR	9,62c
CS 02 1026	9,58c
CS 179 RR	9,51c
CS 02 302	9,50c
Luziania	9,49c
Garantia	9,46c
CS 206 RR	9,43c
Balisa	9,36c
MSOY 8585	9,35c
CS 02 988	9,22c
CS 95 RR	9,16c

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente ao nível de 5%.

### 5.1.6 - Conteúdo de Sacarose

Dois grupos significativamente diferentes a 5% de probabilidade foram estabelecidos. O grupo A foi constituído de quatorze genótipos, os quais apresentaram uma variação no conteúdo de sacarose de 6,82 a 7,85 %. Já o grupo B foi formado de vinte genótipos, tendo o conteúdo de sacarose variando de 5,77 a 6,76 %. Os genótipos Silvania, Monarca, CS 186 RR, Vencedora, MSOY 8001, CS 02 521, MSOY 7878, CS 02 449, CS 821, Valiosa, CS 01 736, Elite e CS 02 731 foram os que apresentaram maior conteúdo de sacarose. Estes dados podem ser observados na tabela 6.

REZENDE (1998) encontrou o conteúdo de sacarose de 38 diferentes linhagens de soja variando de 2,19 a 8,00 %.

A sacarose, mesmo em baixas concentrações, 5 a 10 %, é capaz de proteger as vesículas lipídicas contra danos de desidratação (STAUSS e HAUSER, 1986), garantindo, assim, altos índices de germinação.

**Tabela 6** - Comparação entre médias para o conteúdo de sacarose (%)  
avaliados nos 34 genótipos de soja

Cultivar	Sacarose (%)
Silvania	7,85a
Monarca	7,58a
CS 186 RR	7,47a
Vencedora	7,45a
MSOY 8001	7,38a
CS 02 521	7,38a
MSOY 7878	7,27a
CS 02 449	7,27a
CS 821	7,23a
Valiosa	7,14a
CS 01 736	7,05a
CS 132 RR	6,82a
CS 73 RR	6,76b
CS 33RR	6,75b
MSOY 8008	6,59b
CS 02 564	6,50b
CS 801	6,49b
Luziania	6,47b
CS 02 884	6,46b
CS 144 RR	6,41b
CS 179 RR	6,37b
CS 02 302	6,33b
MSOY 8787	6,33b
CS 106 RR	6,30b
CS 01 873	6,29b
Garantia	6,25b
CS 02 1026	6,24b
CS 02 988	6,15b
CS 95 RR	5,87b
CS 206 RR	5,81b
Balisa	5,79b
MSOY 8585	5,77b

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente ao nível de 5%.

## **5.2 – FATORES ANITINUTRICIONAIS**

Os conteúdos dos fatores antinutricionais ácido fítico, rafinose e estaquiose foram determinados nas sementes dos trinta e quatro genótipos de soja. Os genótipos demonstraram diferença significativa a 5% para os caracteres analisados.

Nas tabelas 7, 8 e 9 estão representados as concentrações de ácido fítico, rafinose e estaquiose, respectivamente.

### **5.2.1 - Conteúdo de Ácido Fítico**

Como pode ser observado na tabela 7, dois grupos foram estabelecidos. O grupo A foi formado por quinze genótipos que apresentaram maior conteúdo de ácido fítico, variando de 1,17 a 1,33 %. O grupo B foi formado por genótipos que apresentaram menor conteúdo de ácido fítico, de 0,93 a 1,15 %.

Os genótipos que apresentaram maior conteúdo de fitato foram os seguintes: Elite, Monarca, CS 02 521, MSOY 7878, CS 02 884, CS 106 RR, Luziania, CS 02 302, CS 179 RR, CS 186 RR, CS 144 RR, CS 02 449, Silvania, MSOY 8585 e CS 801.

Genótipos com alto conteúdo de ácido fítico não são interessantes para uso na alimentação, uma vez que o ácido fítico é considerado um fator antinutricional.

**Tabela 7** - Comparação entre médias para o conteúdo de ácido fítico(%) avaliados nos 34 genótipos de soja.

Cultivar	Ácido Fítico (%)
Elite	1,33a
Monarca	1,28a
CS 02 521	1,27a
MSOY 7878	1,23a
CS 02 884	1,22a
CS 106 RR	1,22a
Luziania	1,19a
CS 02 302	1,19a
CS 179 RR	1,19a
CS 186 RR	1,18a
CS 144 RR	1,18a
CS 02 449	1,18a
Silvania	1,17a
MSOY 8585	1,17a
CS 801	1,17a
Balisa	1,15b
CS 02 1026	1,14b
CS 02 988	1,14b
CS 73 RR	1,13b
CS 01 873	1,13b
Vencedora	1,13b
CS 01 736	1,12b
MSOY 8787	1,12b
CS 132 RR	1,09b
Garantia	1,09b
CS 821	1,08b
MSOY 8008	1,07b
Valiosa	1,07b
CS 33 RR	1,07b
CS 02 731	1,07b
CS 02 564	1,07b
MSOY 8001	1,07b
CS 95 RR	0,99b
CS 206 RR	0,93b

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente a 5% de probabilidade.

Altos níveis de ingestão de fitato podem ser associados com efeitos nutricionais negativos ao homem (HEANEY & WEAVER, 1991; KHOKHAR et al., 1994), visto que estes compostos são conhecidos pela redução na biodisponibilidade de minerais e proteína (ERDMAN, 1979; ALLI & BAKER, 1981; GRAF, 1983; SERRAIO et al., 1985) e inibição de

enzimas proteolíticas (SINGH & KRIKORIAN, 1982; KNUCKLES et al., 1985; MESSINA & BARNES, 1991; VAINTRAUB & BULMAGA, 1991).

HEANEY et al. (1991) estudaram a absorção de  $^{45}\text{Ca}$  marcado proveniente de soja com altos e baixos teores de fitato em 16 mulheres normais. Quinze mulheres apresentaram menor absorção de cálcio quando ingeriram a dieta com alto teor de fitato.

Somente o  $\text{IP}^5$  e  $\text{IP}^6$  têm efeito negativo na biodisponibilidade de minerais. Os demais compostos formados têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou os complexos formados são mais solúveis (SANDBERG et al. 1989).

### **5.2.2 - Conteúdo de Rafinose**

Ao se observar a Tabela 8, nota-se que ao nível de 5%, quatro grupos significativamente diferentes foram estabelecidos. O grupo A foi formado por cinco genótipos de soja, com conteúdo de rafinose variando de 1,03 a 1,11 %. O grupo B foi constituído de nove genótipos de soja, com uma variação de 0,87 a 0,94 % de rafinose; o grupo C, foi formado por doze genótipos, com variação no conteúdo de rafinose de 0,74 a 0,83 % e o grupo D, foi formado por oito genótipos de soja, tendo conteúdo de rafinose variado de 0,54 a 0,70 %.

Os genótipos que apresentaram maior conteúdo de rafinose foram CS 206 RR, CS 73 RR, CS 33 RR, Balisa e CS 132 RR.

REZENDE (1998), analisando diferentes linhagens de soja, em relação a sua composição de açúcares, encontrou variação de 0,67 a 1,84 % no conteúdo de rafinose.

**Tabela 8** - Comparação entre médias para o conteúdo de Rafinose(%)  
avaliados nos 34 genótipos de soja

Cultivares	Rafinose (%)
CS 206 RR	1,11a
CS 73 RR	1,06a
CS 33 RR	1,05a
Balisa	1,03a
CS 132 RR	1,03a
CS 179	0,94b
CS 02 731	0,92b
CS 106 RR	0,89b
CS 95 RR	0,89b
CS 02 988	0,88b
CS 01 873	0,88b
CS 144 RR	0,88b
CS 186 RR	0,87b
Valiosa	0,87b
Garantia	0,83c
MSOY 8001	0,82c
MSOY 8787	0,81c
Silvania	0,80c
CS 02 884	0,79c
MSOY 8008	0,79c
CS 01 736	0,79c
CS 02 449	0,78c
CS 02 1026	0,77c
CS 821	0,77c
Elite	0,75c
MSOY 8585	0,74c
Vencedora	0,70d
CS 02 564	0,67d
Monarca	0,66d
CS 02 302	0,65d
CS 801	0,64d
MSOY 7878	0,63d
CS 02 521	0,58d
Luziania	0,54d

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente ao nível de 5%.

A rafinose faz parte de uma classe de oligossacarídeos denominada oligossacarídeo da família da rafinose, que são considerados fatores antinutricionais, pois são causadores de flatulência. Por esse

motivo cultivares de soja com mais baixo conteúdo de rafinose são mais interessantes para uso como fonte de alimento. Neste trabalho foi verificado que os genótipos Vencedora, CS 02 564, Monarca, CS 02 302, CS 801, MSOY 7878, CS 02 521, Luziania, foram os mais adequados para uso na alimentação.

### **5.2.3 - Conteúdo de Estaquiose**

Através do teste de agrupamento aplicado dois grupos diferentes foram formados quanto a concentração de estaquiose (Tabela 9). O grupo A foi constituído de nove genótipos, com variação no teor de estaquiose de 2,68 a 3,14 % e o grupo B foi por 25 genótipos de soja, tendo variação de 1,88 a 2,65 % no teor de estaquiose.

Os cultivares MSOY 8787, Monarca, MSOY 8008, Sylvania, MSOY 8585, CS 02 884, MSOY 8001, CS 33 RR e CS 02 521 foram os que apresentaram maior concentração de estaquiose.

TRUGO et al. (1995), analisando o teor de oligossacarídeos de cultivares de soja distribuídos no Brasil, encontraram variação no teor de estaquiose de 3,2 a 4,6 %, enquanto REZENDE (1998) encontrou variação de 2,10 a 6,71 %. nos teores de estaquiose nas linhagens de soja analisadas.

Comparando os resultados obtidos no presente trabalho com os dados da literatura, os genótipos de soja analisados apresentaram menor concentração de estaquiose. Essa característica é muito importante na seleção de cultivares para uso na alimentação, visto que a estaquiose é o RO mais abundante em grãos de soja e representa um fator antinutricional.

**Tabela 9** - Comparação entre médias para o conteúdo de estaquiose(%)  
avaliados nos 34 genótipos de soja

Cultivar	Estaquiose (%)
MSOY 8787	3,14a
Monarca	3,09a
MSOY 8008	3,07a
Silvania	3,05a
MSOY 8585	2,83a
CS 02 884	2,82a
MSOY 8001	2,78a
CS 02 521	2,68a
CS 186 RR	2,65b
CS 801	2,58b
CS 02 1026	2,57b
CS 01 873	2,55b
Balisa	2,54b
MSOY 7878	2,54b
CS 02 564	2,53b
CS 02 302	2,52b
CS 206 RR	2,51b
Luziania	2,48b
Valiosa	2,47b
Vencedora	2,44b
CS 106 RR	2,44b
CS 821	2,41b
CS 01 736	2,41b
CS 95 RR	2,40b
CS 144 RR	2,40b
CS 02 731	2,38b
Garantia	2,38b
CS 02 449	2,32b
Elite	2,25b
CS 179 RR	2,20b
CS 73 RR	2,19b
CS 02 988	2,18b
CS 132 RR	1,88b

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente ao nível de 5%.

Assim como a rafinose, a estaquiose faz parte da classe de oligossacarídeos de rafinose. Genótipos de soja que apresentam baixa concentração desse açúcar são mais adequados para uso na alimentação.

#### 5.2.4 – Conteúdo de ROs

Os ROs são considerados fatores antinutricionais, pois como o homem e os animais monogástricos não possuem, no trato digestivo, a enzima  $\alpha$ - galactosidase, necessária a hidrólise dos ROs, esses oligossacarídeos são fermentados por bactérias presentes no intestino, causando desconforto intestinal, flatulência, decréscimo na absorção de nutrientes e diarreia.

Varias pesquisas tem sido feitas visando diminuir a concentração desses ROs para que a soja possa ser mais bem utilizada na alimentação, uma vez que essa é uma grande fonte de nutrientes.

HITZ et al.(2002), conseguiram produzir dois mutantes de soja que continham baixas concentrações de rafinose, de estaquiose e também de ácido fítico. Esses mutantes denominados LR 28 e LR 33 foram conseguidos através de mutações químicas, ao acaso. Esses autores sugeriram os pontos da via de síntese dos ROs e ácido fítico e as enzimas que foram afetadas pelas mutações. Entretanto, esses autores verificaram que após algumas gerações destes mutantes, a germinação das sementes foi prejudicada e algumas sementes não germinavam. O fato das mutações realizadas não terem tido êxito em relação ao desenvolvimento e germinação das sementes, indica o importante papel fisiológico desses RO. Alguns autores sugerem que os ROs tem função de proteção da semente contra a dessecação (OBENDORF, 1997), e teriam a capacidade de estabilizar as membranas celulares durante a dessecação (CROWE et al., 1987). Esses estudos reforçam a busca por cultivares que naturalmente possuam baixos conteúdos de RO.

Segundo O'TOOLE (1999) grãos de soja maduros contêm quantidades mensuráveis de oligossacarídeos como rafinose (0,1 a 0,9%) e estaquiose (1,4 a 4,1%) .

Existem alguns cultivares de soja que tem baixos conteúdos de oligossacarídeos quando comparados com a maioria dos cultivares.

SUAREZ et al. (1999) estudaram a produção de gás em humanos que ingeriram farinha de soja, produzida a partir de soja naturalmente com baixo conteúdo de oligossacarídeos. Essa soja continha níveis muito

mais baixos que a soja convencional. Enquanto a soja convencional apresentava conteúdo de rafinose e estaquiose de 0,51% e 3,3% respectivamente, a soja com baixo oligossacarídeos apresentou conteúdo de rafinose de 0,16% e de estaquiose de 0,46%. Estes autores observaram que quando se fazia uso da soja com baixo conteúdo de ROs, menor era a produção de gases. Este fato só vem reforçar a busca por cultivares com mais baixo conteúdo de ROs.

O conteúdo de ROs encontrados nos 34 genótipos de soja avaliados está representado na Tabela 10.

**Tabela 10** - Comparação entre médias para o conteúdo de ROs(%)  
avaliados nos 34 genótipos de soja

Genótipo	Teor de RO
MSOY 8787	3,95a
SILVANIA	3,86a
MSOY 8008	3,85a
CS 33 RR	3,83a
MONARCA	3,75a
CS 206 RR	3,62a
CS 02 564	3,62a
MSOY 8001	3,60a
MSOY 8585	3,58a
BALISA	3,57a
CS 186 RR	3,52a
CS 01 873	3,43b
CS 02 1026	3,34b
VALIOSA	3,34b
CS 106 RR	3,33b
CS 02 731	3,30b
CS 95 RR	3,28b
CS 144 RR	3,27b
CS 02 521	3,25b
CS 73 RR	3,25b
CS 801	3,21b
GARANTIA	3,21b
CS 02 564	3,20b
CS 01 736	3,19b
CS 821	3,19b
CS 02 302	3,18b
MSOY 7878	3,17b
CS 179 RR	3,14b
VENCEDORA	3,14b
CS 02 449	3,11b
CS 02 988	3,06b
ELITE	3,00b
CS 132 RR	2,91b

Cada resultado representa a média de três repetições.

As médias seguidas por letras iguais não diferem entre si significativamente ao nível de 5%.

### 5.3 – CORRELAÇÃO ENTRE OS COMPONENTES BIOQUÍMICOS E FATORES ANTINUTRICIONAIS

O conhecimento da associação entre caracteres é de grande importância nos trabalhos de melhoramento, principalmente se a seleção de um caráter apresentar dificuldades, por exemplo, por ser de difícil medição (CRUZ & REGAZZI, 1997). O conhecimento da correlação nos fornece uma idéia de como a seleção para um caráter influencia a expressão de outros caracteres. A correlação nada mais é do que a medida da intensidade de associação entre duas variáveis (STEEL & TORRIE, 1980).

As estimativas dos coeficientes de correlação genotípica entre os pares de caracteres (proteína, óleo, carboidratos totais, cinzas, açúcares solúveis, RO, rafinose, estaquiose e fitato) avaliados neste trabalho, encontram-se na tabela 11 e 12.

**Tabela 11** – Correlação genotípica entre caracteres e fatores antinutricionais.

	Fitato	Rafinose	Estaquiose	ROs**
Lipídio	-0,1738	-0,2990	-0,0472	-0,2253
Proteína	0,2574	-0,0588	0,0187	0,0532
Cinzas	0,4221*	0,2212	-0,5312*	-0,4692*
Fitato		-0,7974*	0,0145	-0,4535*
Sacarose		-0,4460*	0,1066	-0,1412
Rafinose			-0,4534*	0,0772
Estaquiose				0,8537*
Carboidratos				0,4352*

\* significativo a 5% de probabilidade pelo teste t

\*\*ROs = rafinose + estaquiose

**Tabela 12** – Correlação genotípica entre os pares de caracteres.

	Lipídio	Cinzas	Sacarose	Açúcares solúveis	Carboidratos
Proteína	-0,7272*	0,1845	-0,5403*	-0,5075*	-0,7170*
Lipídio		-0,4140*	0,2597	0,1653	0,0799
Cinzas			-0,2756	-0,4552*	-0,1603
sacarose				0,9201*	0,5963*
Açúcares solúveis					0,7552*

\* significativo a 5% de probabilidade pelo teste t

\*\* Açúcares solúveis (sacarose + rafinose +estaquiose)

Entre os conteúdos de proteína e óleo foi encontrada correlação significativa de -0,7272. As informações disponíveis indicam que a correlação entre os conteúdos de proteína e óleo foi de -0,60 (SMITH e CIRCLE, 1978). MILLER e FEHR (1979), após praticarem um ciclo de seleção recorrente para teor de proteína em soja, estimaram a correlação genética entre teor de óleo e de proteínas em -0,69.

Estes resultados mostram a dificuldade de associar a seleção de genótipos com maior teor de proteína e óleo, indicando que a seleção para um caráter pode resultar no declínio do outro. Sabe-se que os programas de melhoramento, principalmente os dos Estados Unidos, priorizavam o desenvolvimento de variedades produtivas e com teor de óleo elevado. Pelo fato desses dois caracteres serem negativamente correlacionados com teor de proteína, o conteúdo protéico dos grãos de soja tem se mantido em níveis mais baixos (em torno de 40 %) do que potencialmente poderiam ser conseguidos (em torno de 50 %) PIOVESAN, (2000).

Como pode ser observado na Tabela-11, não houve correlação significativa entre fitato e proteína. Semelhantemente, GRIFFITHS e THOMAS (1981) e LOLAS e MARKAKIS (1975) não encontraram correlação significativa entre a concentração de fitato e proteína, estudando cultivares de feijão. LIU et al. (2005) também não encontraram correlação significativa entre os conteúdos de proteína e de fitato

analisando cultivares de arroz. Ao contrário, Raboy et al. (1991) encontraram correlação positiva entre fitato e proteína em soja.

Uma vez que os cultivares Garantia, CS 132 RR e MSOY 7878 apresentaram relativamente baixo conteúdo de fitato e alto de proteína, estes cultivares poderiam ser selecionados, levando-se em conta apenas esses dois caracteres.

O resultado da análise de correlação entre a concentração de proteína e de sacarose foi negativa e significativa (Tabela 12). A sacarose é o principal carboidrato translocado pelas plantas, sendo também reconhecida como tendo uma importante função na regulação metabólica, sinalizando processos na expressão de genes e na determinação do desenvolvimento e diferenciação nas plantas (SALISBURY E ROSS, 1992; CHOUREY *et al.*, 1995). SILVEIRA (1980) observou, em cana de açúcar, decréscimo na concentração de açúcares redutores e sacarose tanto nas folhas, como nos caules, sendo acusada, neste mesmo período, a maior taxa de crescimento e a maior intensidade na síntese de proteína.

Uma hipótese para explicar essa correlação negativa pode ser o uso da sacarose pela plantas como fonte de energia e carbono para síntese de proteína. A sacarose é formada como resultado da assimilação fotossintética do CO<sub>2</sub> eficazmente em todas as plantas superiores. Nas plantas, a sua função é como substituinte de reserva para respiração, sendo a energia liberada utilizada para numerosas atividades metabólicas. Dentre estas, destaca-se a síntese de aminoácidos, proteínas e lipídios e outros compostos orgânicos. As hexoses, liberadas da degradação da sacarose pelas invertases, podem servir como fonte de esqueletos carbônicos e energia para a síntese de proteínas (NASCIMENTO, 1994).

Essa correlação negativa entre sacarose e proteína dificulta a seleção para cultivares com altos conteúdos de proteína e de sacarose. Uma vez que a sacarose fornece um sabor mais agradável a soja, a maior concentração desse açúcar poderia ser interessante, promovendo melhor aceitação para alimentação humana.

Uma soja de sabor mais adocicado e com características que permitam seu uso na alimentação humana, quando os grãos ainda estão

imaturos, está sendo pesquisada pela Embrapa Roraima para cultivo no Estado. A soja-verde, utilizada na alimentação humana como hortaliça, apresenta em grãos secos, maior conteúdo de amido e de sacarose, que conferem sabor mais adocicado. (SMIDERLE, 2006).

Dentre os genótipos estudados não houve correlação significativa entre concentrações de proteína e rafinose (Tabela 11). Similarmente, WANG et al (2005) encontraram correlação não significativa entre rafinose e proteína, analisando cultivares de lentilhas. Como os genótipos Vencedora e CS 02 302 apresentaram alto teor de proteína e baixo teor de rafinose, eles poderiam ser os mais indicados para uso na alimentação, se fossem considerados apenas esses dois fatores.

Pode-se observar que não houve correlação significativa entre concentrações de proteína e de estaquiose (Tabela 11). Da mesma forma, WANG et al. (2005) encontraram correlação não significativa entre proteína e estaquiose. Desta forma, os genótipos CS 02 302, Elite, CS 144 RR e Balisa, que apresentaram alta concentração de proteína e baixa concentração de estaquiose, poderiam ser selecionados, uma vez que, genótipos com alto conteúdo de proteína e baixo de estaquiose são mais aceitos para uso na alimentação.

Não foi encontrada correlação significativa entre os conteúdos de proteína e de ROs (rafinose + estaquiose). HARTWIG et al. (1997) também encontraram correlação não significativa entre esses conteúdos. Assim, os genótipos CS 144 RR, Elite e CS 02 302, que apresentaram alto conteúdo de proteína e baixa de RO, poderiam ser selecionados para uso na alimentação, com base na análise desses dois caracteres.

Houve correlação negativa entre o conteúdo de proteínas e de açúcares solúveis. Esse dado pode ser compreendido, uma vez que os açúcares solúveis são formados pela sacarose, rafinose e estaquiose; e entre proteína e sacarose, que é o principal constituinte dos açúcares solúveis, houve uma correlação negativa (entre os dois outros caracteres e proteína não houve correlação significativa).

Entre os conteúdos de proteína e carboidratos totais foi encontrada uma correlação negativa de -0,7170 (tabela 12). WILCOX e SHIBLES (2001) estudaram a associação entre os teores de proteínas, óleo,

carboidratos totais, sacarose e enxofre em 43 linhagens de soja com concentração de proteína variando de 413 a 468 g Kg<sup>-1</sup>, cultivadas em três ambientes. As linhagens apresentaram variações significativas para cada uma das características avaliadas. Segundo esses autores, o aumento no teor de proteína ocorreu em decorrência da diminuição dos teores de óleo, carboidratos totais e sacarose, os quais apresentaram coeficientes de correlação de -0,88, -0,71 e -0,66, respectivamente. Estes autores concluíram que a diminuição no teor de carboidratos com o conseqüente aumento do teor de proteína, deve contribuir para elevar o valor nutricional do farelo obtido dessas linhagens melhoradas.

Entre os conteúdos de óleo e de fitato, a correlação não foi significativa (Tabela 11). Assim, esses resultados indicam que os conteúdos de óleo e fitato não estão correlacionados, ou seja, o aumento no conteúdo de óleo não interferiria significativamente no conteúdo de fitato e vice-versa. De forma semelhante, KUMAR et al. (2005) não encontraram correlação significativa entre as concentrações de óleo e fitato, em sementes de soja.

Neste trabalho, não foi encontrada correlação significativa entre os conteúdos de óleo e sacarose (Tabela 12). Ao contrário, TRUGO et al. (1995) encontraram correlação positiva entre óleo e sacarose de 0,67 estudando cultivares de soja.

A análise de correlação entre os conteúdos de óleo e rafinose, mostrou que não houve uma correlação significativa (tabela 11). Por outro lado, HYMOWITZ et al. (1972) encontraram relação significativa e positiva entre o teor de óleo e de rafinose em soja.

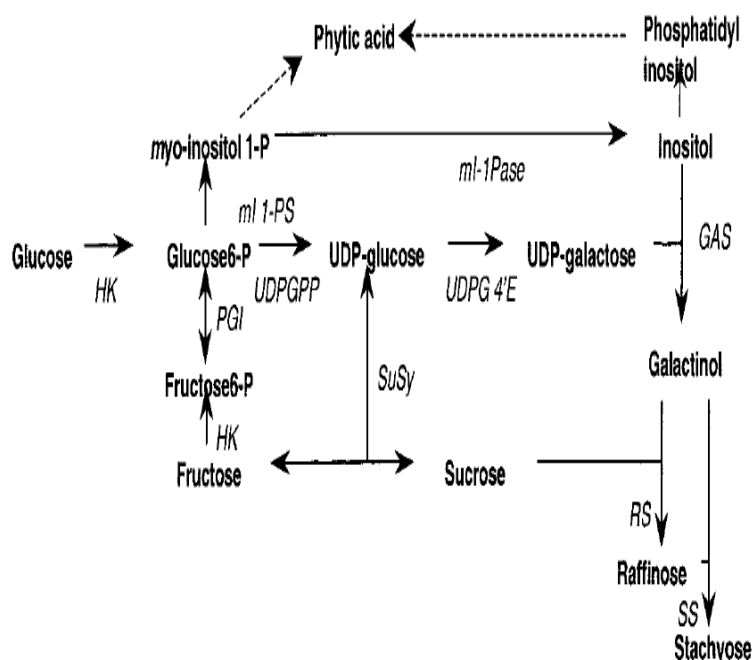
A correlação entre os caracteres óleo e estaquiose, determinada neste trabalho, não foi significativa (tabela 11). Da mesma forma, HARTWIG et al. (1997) encontraram correlação não significativa entre os conteúdos de óleo e estaquiose em soja.

A correlação entre os caracteres óleo e açúcares solúveis não foi significativa (Tabela 12). Por outro lado HYMOWITZ et al. (1972) encontraram correlação positiva e significativa de 0,26 para os conteúdos de açúcares solúveis e de óleo em sementes de soja.

Não houve correlação significativa entre os caracteres óleo e RO. HARTWIG et al (1997), observaram correlação positiva, porém não significativa em soja.

Não foi encontrada correlação significativa entre os teores de óleo e carboidratos (Tabela 12). OLIVEIRA (2003) encontrou correlação negativa entre os teores de carboidratos e teores de óleo (-0,6004).

Entre os conteúdos de fitato e rafinose foi encontrada correlação altamente negativa (Tabela 11). Esse resultado pode ser explicado devido ao fato de que fitato e rafinose terem em sua via de biossíntese precursores comuns, como pode ser observado na figura 6.



**Figura 6 - Vias de síntese de RO e Ácido Fítico (HITZ et al., 2002)**

O ácido fítico é sintetizado a partir dos precursores mio-inositol 1-P e fosfatidilinositol. O fosfatidilinositol é sintetizado a partir do inositol, que por sua vez, tem como precursor o mio-inositol 1-P. Ou seja, o mio-inositol 1-P pode ser usado como precursor tanto para síntese de ácido fítico, como para síntese de inositol. O inositol é o precursor para síntese dos

RO. A primeira reação de síntese dos RO é catalisada pela galactinol sintase e ocorre a transferência de um resíduo de galactose da UDP-galactose para o inositol, formando o galactinol. O galactinol é o doador de resíduos de galactose para a sacarose, em reações catalisadas por sintases específicas (rafinose sintase e estaquiose sintase) gerando rafinose e estaquiose. Portanto, mio-inositol 1-P e inositol são precursores da síntese de ambos, ácido fítico e ROs. Dessa forma, se ocorre maior síntese de ácido fítico, a síntese de RO provavelmente estaria diminuída e vice-versa.

Não foi encontrada correlação significativa entre os conteúdos de fitato e estaquiose (Tabela 11), mas a análise de correlação entre os conteúdos de fitato e ROs mostrou valor negativo (tabela 11). Uma vez que o conteúdo de ROs é dada pelo somatório dos conteúdos de rafinose e estaquiose, uma possível explicação para essa correlação negativa pode ser dada a partir das vias biossintéticas dos ROs e fitato (Figura 6).

Na via biossintética dos ROs, a estaquiose é formada a partir da rafinose. Para que haja aumento no conteúdo de ROs, provavelmente ocorreu maior demanda de mio-inositol para este fim. Conseqüentemente, haverá uma menor conteúdo desse para formação de ácido fítico, que por sua vez terá sua conteúdo reduzido.

Essa correlação negativa se torna um fator limitante na obtenção de genótipos que possuam baixos níveis de ácido fítico e baixos níveis de RO, pois a seleção para um caráter mais baixo pode resultar no aumento do outro.

Entre os conteúdos de fitato e carboidratos totais foi encontrada correlação negativa (tabela 11).

Entre os caracteres fitato e sacarose foi encontrada correlação positiva (tabela 11). Uma possível explicação para essa correlação positiva, basea-se na via de síntese de ácido fítico e ROs, que tem como intermediários a sacarose, seria que, o ácido fítico é formado a partir do mio-inositol 1-P (por uma série de fosforilações sucessivas, até mio-inositol 6-P). Quanto maior for a concentração de ácido fítico, provavelmente, menor seria a concentração de mio-inositol livre, que ficaria menos disponível para síntese de inositol e de galactinol. Dessa

forma, haveria diminuição na síntese de RO e conseqüentemente aumento na concentração de sacarose.

Foi encontrada correlação negativa, entre os conteúdos de sacarose e rafinose (tabela 11). Essa correlação pode ser explicada, uma vez que rafinose é formada em uma reação catalisada pela rafinose sintase, a partir da sacarose e de um resíduo de galactose, doado pelo galactinol. Conseqüentemente quanto maior for a síntese de rafinose, mais sacarose será consumida, fazendo com que haja uma diminuição da sua concentração.

Ao contrário, HYMOWITZ et al. (1972) e HARTWIG et. al (1997) encontraram correlação positiva entre os caracteres sacarose e rafinose em soja. WANG et al. (2005) não encontraram correlação significativa entre sacarose e rafinose em lentilhas.

Entre os conteúdos de sacarose e estaquiose não foi encontrada correlação significativa (tabela 11). Esse dado está de acordo com HARTWIG et.al (1997), mas difere de HYMOWITZ et al. (1972), que encontraram correlação negativa entre os conteúdos de sacarose e de estaquiose.

Correlação não significativa foi encontrada entre os caracteres sacarose e ROs (tabela 11). Ao contrario, HARTWING et.al (1997) mostraram correlação positiva entre esses dois caracteres.

Foi observada correlação positiva entre conteúdo de sacarose e carboidratos totais e entre os teores de sacarose e açúcares solúveis (tabela 10). A sacarose é o principal componente dos açúcares solúveis, representando cerca de 60% do total de açúcares solúveis na soja. HYMOWITZ et al. (1972), analisando diferentes cultivares de soja, encontraram correlação positiva entre teores de sacarose e açúcares solúveis.

Foi encontrada correlação negativa entre o conteúdo de rafinose e estaquiose (tabela 11). A estaquiose é sintetizada a partir da rafinose e de um resíduo de galactose doado pelo galactinol, em uma reação catalisada pela estaquiose sintase. Desta forma, quanto maior for a síntese de estaquiose, maior seria o consumo de rafinose para esse fim e menor seria a concentração de rafinose na soja.

Não foi encontrada correlação significativa entre rafinose e carboidratos totais e entre estaquiose e carboidratos totais, mas houve correlação positiva entre os conteúdos de carboidratos totais e de ROs (rafinose + estaquiose). Também foi verificada correlação positiva entre os caracteres açúcares solúveis e carboidratos totais (tabela 12). Essas correlações podem se entendidas uma vez que os RO são constituintes dos açúcares solúveis, que por sua vez fazem parte da composição dos carboidratos totais.

## 6 – CONCLUSÃO

As sementes dos trinta e quatro diferentes genótipos de soja analisados apresentaram diferença em sua composição bioquímica, com diferentes conteúdos de proteínas, lipídios, cinzas, carboidratos, sacarose, açúcares solúveis e apresentaram também diferentes teores dos fatores antinutricionais rafinose, estaquiase e ácido fítico. Portanto, a composição bioquímica e os conteúdos de fatores antinutricionais apresentaram variações em função do genótipo.

Proteína e óleo apresentaram correlação negativa, o que mostra que a seleção para um determinado caráter pode provocar o declínio do outro, constituindo um problema para a obtenção de cultivares com altas concentrações de óleo e proteína.

Os conteúdos de ROs e ácido fítico apresentaram correlação negativa, comprovando a dificuldade da seleção de cultivares com baixos níveis dos dois caracteres.

Dentre os genótipos analisados, o genótipo que mais se destacou com relação aos conteúdos de proteína e óleo e que apresentou menores conteúdos de rafinose, estaquiase e ácido fítico, foi o CS 02 564. Esse genótipo poderia então ser indicado como promissor para o programa do melhoramento da soja destinada à alimentação humana.

## **7- PESPECTIVAS**

Pesquisas sugerem que a concentração de vários parâmetros bioquímicos e de fatores antinutricionais em soja além de variarem de acordo com o genótipo, parecem sofrer efeito do ambiente. Assim, o objetivo futuro desse trabalho seria analisar a interação genótipo x ambiente para todos os caracteres analisados. Para isso, os genótipos de soja estudados seriam cultivados em pelo menos três regiões distintas e a composição bioquímica (proteína, lipídio, carboidrato, cinzas, sacarose, açúcares solúveis) e os fatores antinutricionais fitatos e oligossacarídeos de rafinose seriam estudados, para que possamos verificar se o ambiente irá influenciar nesses caracteres. Com este estudo, poderíamos ter uma avaliação mais precisa de quais os componentes bioquímicos e fatores antinutricionais, relevantes para seleção de genótipos de soja destinados a alimentação humana, sofreriam efeitos ambientais.

## 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLI, I., BAKER, B.E. Constitution of leguminous seeds. A note on protein-phytic acid interactions during isolation of acid-soluble protein from *Phaseolus* beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.32, n.6, p.588-592, 1981.

ASA, ( [www.asa-europe.org](http://www.asa-europe.org)), 22 de novembro de 2005.

AYET, G.; BURBANO, C.; CUADRADO, C.; PEDROSA, M.M.; ROBREDO, L.M; MUZQUIZ, M.; DELACUADRA, C.; CASTANO, A.; OSAGIE, A. Effect of germination under different environmental conditions on saponins, phytic acid and tannis in lentils (*len culinares*). **Journal of Science Food Agriculture**, v.74, p.273-279, 1997.

ANTUNES, P.L.; SGARBIERI, V.C. Processamento e valor nutricional da soja, *Glycine max* (L.) Merrill. **AGROS**, v.15, p.65-84, 1980.

BARROS, J. G. A. **Características Bioquímicas de Qualidade em Soja: Interação Genótipo x Ambiente, Estimativa de Correlação e Medida de Similaridade entre Ambientes**. Viçosa, UFV, Dissertação de Mestrado, 2006.

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

BAU, H.M.; VILLAUME, CH, MÉJEAN, L. Effects of soybean (*Glycine max*)germination on biologically active components, nutritional values of seeds, and biological characteristics in rats. **Nahrung**, v.44, p.2-6, 2000.

BELLAVER, C.; SNIKER, J.P.N. Soybean processing and its implications on swine and poultry feeding. **Anais Congresso Brasileiro de Soja**, Embrapa-SPI. P.183-199, 1999.

BISWAS, S.; MARTI, S.B.; CHARKRABARTI, S.; BISWAS, B.B. Purification and characterization of myoinositol hexaphosphate adenosine diphosphate phosphotransferase from *Phaseolus aureus*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.185, p.557-566, 1978.

BRAZACA, S.G.C. Antinutricionais em alimentos. In OETTERER, M. (coord). **Palestras apresentadas na disciplina de Processamento e Qualidade nutricional dos Alimentos**. ESALQ/USP, 1997, 20p.

BREARLEY, C.A.; HANKE, D.E. Metabolic evidence for the order of addition of individual phosphate esters to the myo-inositol moiety of inositol hexakisphosphate in the duckweed *Spirodela polyhira* L. **Biochemical Journal**, v.314, p.227-233, 1996.

BUERKERT, A.; HAAKE, C.; RUCKWIED M.; MARSCHENER, H. Phosphorus application affects the nutritional quality of millet grain in the sahel. **Field Crops Res.**, v.57, p.223-235, 2001.

CALLOWAY et al. In: CRUZ, R; BATISTELA, J.C.; WOSIACKI, G. **Microbial  $\alpha$ -galactosidase for Soymilk Processing**, 1966.

CASTRO, A. T. B.; MILLAN, A.; LAGO, R. C. A. **Contribuição ao estudo da soja no Brasil**. Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar/Ministérioda Agricultura, 1973. 28 p. (Boletim técnico, 10).

CHAMPAGNE, E. T., PHILLIPPY, B.Q. Effects of pH on calcium, zinc, and phytate solubilities and complexes following in vitro digestions of soy protein isolate. **Journal of Food Science**, v.54, n.3, p.587-592, 1989.

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

CHARTTERTON, N.J.; HARISOM, P.A.; THORNLEY, W.R.; BENNETT, J. H. Sucrosyloligosaccharides and cool temperature growth in 14 forb species. **Plant Physiological Biochemistry**, v.28, p.167-172, 1990.

CHEFTEL, J. C.; LORIET, D. Lás Proteínas de Soja. In: **Proteínas Alimentares**. Cap.6, p.257-276, 1989.

CHEN, P.S.; TORIBARA, T.Y.; WAGNER, H. Microdetermination of phosphorus. **Analytical Chemistry**, v.28, n.11, p.1756-1758, 1956.

CHERYAN, M. Phytic acid interactions in food systems. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.13, n.4, p.297-335, 1980.

CHOUREY, P.S.; CHENG, W-H.; TALIERCIO, E.W.; IM, K.H. Genetic aspects of sucrose metabolizing enzymes in developing maize seed. In: MADORE, A.M.; LUCAS, W.J. (eds.). Carbon partitioning and source-sink interactions in plants. Rockville: **American Society of Plant Physiologists**, 1995, p. 239-245.

CISOJA, ([www.cisoja.com.br](http://www.cisoja.com.br)), 20 de junho de 2007.

CONAB, ([www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br)), 18 de junho de 2007.

COON, C.N; LESKE, K.L; AKAVANICHAN, O.; CHENG, T.K. Effect oligosaccharide-Free soybean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adult roosters. **Poultry Science**, v.69, p.787-793, 1990.

COSTA, S.J.; MYA, E. Composição química e qualidade organoléptica das principais variedades de soja cultivadas no Brasil. **Divulgando a pesquisa**, v.1. p.1-3, 1972.

CROWE JH, CROWE LM, CARPENTER JF, WISTROM CA Stabilization of dry phospholipid bilayers and proteins by sugars. **Biochem J**, v.242, p.1–10, 1987.

CROWE, J.H.; CROWE, L.M. Membrane Integrity in Anhydrobiotic Organisms: Toward a Mechanism for Stabilizing dry Cells. *In: Water and Life* (G. N. Somero, C.B. Osmond and C.L. Bolis, eds), p.87-103. **Springer-Verlag**. ISBN 3-540-54112-8.

CRUZ, C.D. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa, MG, UFV, 648p., 2001.

de REZENDE, S.T. **Teores de oligossacarídeos de rafinose em soja, purificação e caracterização de invertases e  $\alpha$ -galactosidases de microrganismos**. Brasília, DF: Universidade de Brasília, 1998. 157p. Tese (D.S.) - Universidade de Brasília.

DE, S.S. Technology of production of edible flours and protein products from soybean. **Agricultural Services Bulletin**, v.11, p.1-158, 1971.

DEY, P.M. Biochemistry of  $\alpha$ -galactosidase linkages in the Plant Kingdom. **Advanced Carbohydrates Biochemistry**, v.37, p.237-283, 1980.

DEY, P. M.  $\alpha$ -galactosidase from sweet chestnut seeds. **Phytochemistry**, v.20, p.1493-1496, 1981.

DEY, P.M. *In: DEY, P.M.; DIXON, R.A. Biochemistry of storage carbohydrates in Green plants*. Academic Press, p.53-129. 1985.

DEY, P.M. *In: Methods in plant biochemistry*. London. Academic Press, p.189- 218,1990.

DINNI, A.; SIMONE, F.; RAIMUNDO, R.; SENATORE, F. Oligosaccharides in five different Vici faba cultivars. **Biochemistry System Ecology**, v.17, p.559 - 561, 1989.

EMBRAPA ([www.cnpq.embrapa.br](http://www.cnpq.embrapa.br)), 30 de maio de 2007

ERDMAN, J.W. Bioavailability of trace minerals from cereals and legumes. **Cereal Chemistry**, v.58, n.1, p.21-26, 1981.

FAO (Italy, Rome) **Necessidades de Vitamina A, Hierro, Fotato y Vitamina B12**. Informe de una Consulta Mista FAO/OMS de Experts Organizacion de Las Naciones Unidas para La Agricultura y La Alimentacion, 1991.

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

GILTZELMANN, R; AURICCHIO S. The handling of soy  $\alpha$ - galactosidase by a normal and galactosemic child. *Pediatrics*, v.36, p. 231-232, 1965.

GOMES, J.C.; SILVA, M.H.L.; OLIVEIRA, C. Análise de alimentos, **UFV**, DTA: FUNARBE, 2003.

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

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

GRANT, G. Anti-nutritional effects of soybean: a review. **Progress in Food and Nut. Sci.**,v.13,p.317-348. 1989.

GRIFFITHS, D. W., & THOMAS, T. A. Phytate and total phosphorus content of field beans (*Vicia faba* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.32, p.187–192, 1981.

GRYNSPAN, F., CHERYAN, M. Phytate-calcium interactions with soy protein. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v.66,n.1, p.93-97, 1989.

GUIMARÃES, V.M.  $\alpha$ -Galactosidase de Sementes de Soja, **Exame de Qualificação**, Universidade Federal de Brasília, Brasília, DF, Brasil, 100 p., (2001).

GUSTAFSSON, E.L; SANDERBERG, A.S. Phytate reduction in brown bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, v.60, p.149-152, 1995.

HARTWING, E.E.; KUO, T.M.; KENTY, M.M. Seed protein and its relationship to soluble sugars in soybean. **Crop Sci.** v.37, p.770-773, 1997.

HAUG, W.; LANTZSCH, H.J. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. **J. Sci. Food Agric.**, v.34, p.1423-1426, 1983.

HEANEY, R.P., WEAVER, C.M. Reply to M. Messina. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.54, n.3/4, p.763, 1991a.

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

HITZ, W. D.; CARLSON, T. J.; KERR, P.S.; SEBASTTIAN, S.A.  
Biochemical and molecular characterization of a mutation that confers a

decreased raffinose and phytic acid phenotype on soybean seeds. **Plant Physiol.** v. 128, 2002

HYMOWITZ, T.; COLLINS, F.I.; PANEZNER, J.; WALKER, W.M. Relationship between the content of oil, protein and sugar in soybean seed. **Agron. J.** v.64, p.613-616, 1972.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolf Lutz; métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3ed. v.1, 533p., 1985

JIMENEZ, M.J.M; ÉLIAS, L.G.; BRESSANI, R.; NAVARRETE, D.A.; GÓMEZ- BRENES, R.; MOLINA, M.R. Estudios bioquímicos y nutricionales de la semilla Germinada de soya. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.35, n.3, p.480-490.1985.

KHOKHAR, S., PUSHPANJALI, FENWICK, G.R. Phytate content of indian foods and intakes by vegetarian indians of Hisar region , Haryana state. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, n.11, p.2440-2444, 1994.

KNUCKLES, B.E., KUZMICKY, D.D., BETSCHART, A.A. Effect of phytate and partially hydrolyzed phytate on in vitro protein digestibility. **Journal of Food Science**, v.50, n.4, p.1080-1082, 1985.

KOSTER, K.L.; LEOPOLD, A.C. Sugar and desiccation tolerance in seeds. **Plant Physiology**, v.88, p.829-832, 1988.

KROBER, O.A.; CARTTER, J.L. Quantitative interrelationships of protein and non-Protein constituents of soybeans. **Crop Sci.** v.2, p.171-172. 1962.

KUMAR, V.; RANI, A.; SOLANKI, S.; HUSSAIN, S.M. Influence of growing environment on the biochemical composition and physical characteristics of soybean seed. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.188 -195, 2006.

KUO TM, VANMIDDLESWORTH JF, WOLF WJ Content of raffinose oligosaccharides and sucrose in various plant seeds. **J Agric Food Chem** 36: 32–36, 1988.

LEOPOLD, A.C.; VERTUCCI, C. W. Physical attributes of desiccated seeds. In: LEOPOLD, A.C. **Membranes, metabolism, and dry organisms**. Comstock Press, p.22-24, 1986.

LIMA, G.J.M.M. Importance of the nutritional quality of soybeans and their products in the feed market: actual situation and future trends. **Anais Congresso Brasileiro de Soja**, Londrina, PR Embrapa- SPI. p.165-175, 1999.

LINIER, I.E. Factors affecting the nutritional quality of Soya products. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, V.58, n.3, p.406-415, 1981.

LIU, J.J.; ODEGARD, W.; de LUMEN, B.O. Galactinol synthase from kidney bean cotyledon and zucchini leaf. Purification and N-terminal sequences. **Plant Physiology**, v.109, p.505-511, 1995.

LIU, K. **Soybeans** – Chemistry, technology and utilization. Chapman e Hall, 1997. 532p.

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

LOEWUS, F. A.; LOEWUS, M. W. Myo-inositol: its biosynthesis and metabolism. **Annual Review of Plant Physiology**, v.34, p.137-161, 1983.

LOEWUS, F.A; MURTHY, P.P. Myo-inositol metabolism in plants. **Plant Science**, v.150, p.1-19, 2000.

LOLAS, G. M., & MARKAKIS, P. Phytic acid and other phosphorus compounds of beans (*Phaseolus vulgaris L.*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 23, 13–15, 1975.

LOTT, J.N.A., J.S. GREENWOOD AND G.D. BATTEN. Mechanisms and regulation of mineral nutrient storage during seed development. In **Seed Development and Germination**, pp. 215-235, Marcel Dekker, Inc. (1995).

de LUMEN, B.O. Molecular strategies to improve protein quality and reduced flatulence in legumes: A review. **Food Structure**, v.11, p.33-46, 1992.

MACHADO, F. P.P. **Efeitos do Tratamento Térmico na Qualidade protéica de Farinhas de Soja Convencional e Isenta de Lectina e Inibidor Kunitz**. Viçosa, UFV, Dissertação de Mestrado, 2005.

MAJERUS, P.W; CONNOLY, T.M.; BANSAL, V.S.; INORN, R.C.; ROSS, T.S.; LIPS, P. Inositol phosphate: synthesis and degradation (MINIREVIEW). **Journal of Biological Chemistry**, v.263, p.3051-3054, 1988.

MANDARINO, J.M.G. A Soja e a Saúde Humana. In: **ENCONTRO FRANCO BRASILEIRO DE BIOCÊNCIA E BIOTECNOLOGIA – ALIMENTOS FUNCIONAIS E NEUTRACEUTICOS**, 2002, BRASÍLIA. **Resumos das Palestras**. Brasília: Embrapa, 2002, p.9-11.

MESSINA, M., BARNES, S. **The role of soy products in reducing risk of cancer.** *Journal of National Cancer Institute*, v.83, n.8, p.541-546, 1991.

MILAGRES, K.H. **Elaboração e Avaliação de uma Formulado em Pó, à Base de Soja, Enriquecido com Zinco, Selênio e Magnésio Para Uso em Nutrição Enteral.** Viçosa. UFV, 1996 (Dissertação – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).

MILLER, J. E.; FEHR, W. R. Direct and Indirect Selection for Protein in Soybeans. *Crop Science*, v.19, p. 101-106, 1079.

MIRANDA, L. C.G; OLIVEIRA, T.T; MENDONÇA, R.C.S, NAGEM, T.J.N. Variação dos teores de ácido fítico e fitatos em cultivares de soja. *Rev. Ceres* v. 41(238), p.623-628, 1994.

MORAIS, R. M. A.; JOSÉ, I. C.; RAMOS, F.G.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.41, n.5, p.725-729, maio 2006

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

MORETO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleo e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos.** Varela, 1998, 150p.

NASCIMENTO, R. **Assimilação de Sacarose e Atividade de Invertase em Frutos de Soja (*Glycine max (L.) Merrill*) em Desenvolvimento.** Viçosa, UFV, Dissertação de Mestrado, 1994.

OBENDORF, R. L.Oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seed desiccation tolerance. *Seed Sci Res* 7: 63–74, 1997.

OLIVEIRA, M. I. P., **Variações Ambientais e Genóticas nas Correlações de Isoflavonas e Outros Componentes Bioquímicos da Soja**. Viçosa – MG, UFV, 2003,115 p (Tese Doutorado).

O'TOOLE, D. K . Characteristic and Use of Okara, The Soybean Residue from Soy Milk Production- A Review, **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, V.47, p.363-371, 1999.

PIOVESAN, N. D. **Aplicação de Cruzamentos Dialéticos no Melhoramento Genético do Teor Protéico em Soja**. Viçosa – MG. UFV, 2000, 91p (dissertação de mestrado).

PRINCE, K.R.; LEWIS, J.; WYATT, G.M.; FENWICK, G.R. Flatulence-causes, Relation to diet and remedies. **Nahrung**, v.32, p. 609-626, 1988.

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

RACKIS, J.J. Oligosaccharides of food legumes: alpha-galactosidase activity and the flatus problem. In: JEANS, A.; HODGE, J. Physiological effects of food carbohydrates. **American Chemistry Soc.** 1975.

RABOY, V.; DICKINSON, D.B.; BELOW, F.E. Variation in seed total phosphorus, phytic acid, zinc, calcium, magnesium and protein among lines of *Glycine max.* and *G.soja*. **Crop Science**, v.24, p.431-434, 1984.

RABOY, V.; NOAMAN, M.M.; TAUHOR, G.A.; PICKETT, S.G. Grain phytic acid and protein are highly correlated in winter wheat. **Crop Science**, v.31, p.631-635, 1991

RABOY, V.; DICKINSON, D.B. Phytic acid levels in seeds of *Glycine max.* And *G. soja* as influenced by phosphorus status. **Crop Science**, v.33, p.1300-1305, 1993.

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

RIBEIRO Jr., J.I. **Análises Estatísticas no SAEG.** Viçosa, MG, UFV, 302p., 2001

RIBEIRO, M. Estabelecimento de um método colorimétrico para determinação da atividade da galactinol sintase, purificação parcial e caracterização da enzima de sementes de soja. **Tese (D.S).** Universidade de Brasília, Brasília, p.125.2001.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant Physiology.** (Ed.4). Wadsworth. 1992. 682p.

SALUNKHE, D.K., JADHAV, S.J., KADAM, S.S., CHAVAN, J.K. Chemical, biochemical, and biological significance of polyphenols in cereals and legumes. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.17, n.3, p.277-305, 1982.

SANDBERG, A.S., CARLSSON, N.G., SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. **Journal of Food Science**, v.54, n.1, p.159-161, 186, 1989.

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

SANNI, A.I.; ONILUDE, A.A.; OGUNDOYE, O.R. Effect of bacterial galactosidase treatment on the nutritional status of soybean seeds and its milk derivative. **Nahrung**, v.41, p.18-21, 1997.

SANTOS, J.C.P. Estado nutricional do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*) e teores de nutrientes e fitatos nos grãos. **Tese de doutorado**. Piracicaba, Universidade de São Paulo, 1998.

SARAVITZ, D.M.; PHARR, D.M.; CARTER, T.E. Galactinol synthase activity and soluble sugars in developing seeds of four soybean genotypes. **Plant Physiology** v.83, p.185-189, 1987.

SATHE, S.K., SALUNKHE, D.K. Technology of removal of unwanted components of dry beans. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.21, n.3, p.263-287, 1984.

SERRAINO, M.R., THOMPSON, L.U., SAVOIE, L., PARENT, G. Effect of phytic acid on the in-vitro rate of digestibility of rapeseed protein and amino acids. **Journal of Food Science**, v.50, n.6, p.1689-1692, 1985.

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

SGARBIERI, V.C. Alimentos e Nutrição: Fator de Saúde e Desenvolvimento. UNICAMP. 1987. 387 p.

SILVA, M.R.S.; SILVA, M.A.A.P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Rev. Nutr.**, v.12 nº. 1, 1999.

SILVA, M.R.S.; SILVA, M.A.A.P. Inibidores de proteases e lectinas. **Rev. Nutr** 13(1): 3-9, Jan. /abr., 2000.

SILVEIRA, J. A. G. **Aspectos bioquímicos e fisiológicos da relação K/N em cana de açúcar (*Saccharum sp.*) Cv.NA-5679 cultivada em solução nutritiva**. ESALQ. Dissertação de Mestrado, 1980.

SINGH, M., KRIKORIAN, A. D. Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.30, n.4, p.799-800, 1982.

SMITH, A.K; CIRCLE, S.J. Chemical composition of the seed. In: A.K Smith and S.J. Circle (ed); **Soybeans: Chemistry an Technology**, Westport: The AVI Publishing, V.1, p 61-92, 1972.

SMIDERLE, O. J. Agrolink  
([www.agrolink.com.br/artigos/artigo.php?id=348](http://www.agrolink.com.br/artigos/artigo.php?id=348)), 15 de junho de 2007.

SOUZA, G.; VALLE, J. L. E; MORENO, I. Efeitos dos compostos da soja e seus derivados na alimentação humana. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.34, n.02, p. 61-69, jul./ dez 2000.

SOUZA, C. M. M. C. A.; Mecanismos fisiológicos e bioquímicos de regulação da biossíntese de ácido fítico em grãos de dois genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), **Tese de Doutorado**, Piracicaba, S.P. Brasil, 142p., Abril 2003.

STRAUSS, G. e HAUSER, H. Stabilization of small unilamellar phospholipids vesicles by sucrose during freezing and dehydration. In membranes, metabolism and dry organisms (A. C. Leopold, ed), p. 318-326. Cornell University Press, Ithaca, NY. **ISBN 0-8014-1070-4**

STEEL, R. G. D., TORRIE, J.H. **Principles and Procedures of Statistics**. 2.ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 633p., 1980.

STEGGERDA, F.R; DIMMICK, J.F. Effect of bean diet on concentration of carbon Dioxide in flatus. **Am. J. Clin. Nutr.**, V.19, p.120-124, 1966.

SUAREZ, F.L.; SPRINGFIELD, J.; FURN, J.K.; LOHRMANN, T.T.; KERR, P.S. LEVETT, M. D. Gas production in humans ingesting a soybean flour derived from Beans naturally low in oligosaccharides. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, n.1, p.135-139,1999.

THINPPESWAMY, J.S.; MULIMANI, V.H. Enzymatic degradation of raffinose oligosaccharides in soymilk by immobilized  $\alpha$ -galactosidase from *Gibberella fujidura*. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 635-640, 2002

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

TRUGO, L.C.; FARAH, A.; CABRAL, L. Oligosaccharide distribution in Brazilian soya bean cultivars. **Food Chemistry**, v.52, p.385-387, 1995.

USDA ([www.usda.gov/](http://www.usda.gov/)), 15 de junho de 2007.

VAINTRAUB, I.A., BULMAGA, V.P. Effect of phytate on the in vitro activity of digestive proteinases. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v.39, n.5, p.859-861, 1991.

WAGNER, J.R.; BECKER, R.; GUNBMANN, R.; OLSON, A.C. Hydrogen production in the rat following ingestion of raffinose, stachyose and oligosaccharide-free bean residue. **Journal Nutrition**, v.106, p.466-470,1976.

WANG, N.; DAUM, J. N; Effects of variety and crude protein content on nutrients and anti- nutrients in lentils (*Lens Culinaris*). **Food Chemistry** v.95, p.493-502, (2006).

WILCOX, J. R.; Increasing seed protein in soybean with eight cycles of recurrent selection. **Crop Sci**. 1998, v.38, p. 1536-1540.

WILCOX, J.R.; SHIBLES, R.M. Interrelationships among seed quality attributes in soybean. **Crop Science**, v.41, p.11-14, 2001.

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

## 9- APÊNDICE

**Tabela 1 - Resumo da análise de variância de proteínas, óleo, cinzas, carboidratos, sacarose, rafinose e estaquiose.**

Quadrado médio									
FV	GL	Prot.	Óleo	Carboid	Saca.	Fitato	Raf.	Estaq.	cinzas
Blocos	3	2,64	0,25	1,17	0,24	0,07	0,08	0,75	0,44
Trat.	33	3,87	2,76	0,22	0,95	0,20	0,06	0,23	0,08
Res.	66	0,34	0,29	0,87	0,13	0,01	0,01	0,06	0,13
CV (%)		1,49	2,59	2,53	5,38	7,72	13,43	10,09	4,33

\*Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.