

Avaliação do teor de inibidor de tripsina de kunitz e de isoflavonas em grãos de soja germinados da cultivar BRS 213

Wladimir S. Crancianinov¹; Adriana M. Freitas¹; Andreia C. Santana¹; José Marcos Gontijo Mandarino²; Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi². ¹UEL; ²Embrapa Soja.

Introdução

A produção de soja no Brasil está voltada para a exportação de grãos, farelo protéico e óleo comestível, bem como para a alimentação animal e o para consumo humano. Para a produção de rações para suínos e aves é utilizado o farelo de soja, rico em proteínas, nutriente necessário para o desenvolvimento destes animais (MORAIS & SILVA, 2000). Entretanto, os grãos de soja possuem em sua composição fatores anti-nutricionais que podem prejudicar o desenvolvimento de humanos e animais. São fatores anti-nutricionais: os inibidores de protease (inibidor de tripsina de Kunitz - KSTI) e as lectinas (MORAIS & SILVA, 2000). No organismo humano e animal, o inibidor de tripsina liga-se à enzima tripsina, responsável pela digestão de proteínas, impedindo assim que as proteínas provenientes da dieta sejam absorvidas e aproveitadas, com conseqüente redução no crescimento e desenvolvimento de humanos e animais (RACKIS, 1981). Os inibidores de protease são termolábeis sendo, portanto, parcialmente destruídos pelo processamento térmico como a torra ou cozimento dos grãos (NELSON *et al.* 1979). Entretanto, pesquisas recentes têm demonstrado que estes compostos possuem uma potente ação antioxidante, complexando radicais livres que podem causar danos ao material genético. Os inibidores de protease podem atuar na redução dos riscos de alguns tipos de câncer, bem como no aumento da imunocompetência do organismo (MESSINA *et al.* 1994).

As isoflavonas são outras substâncias presentes na soja, responsáveis pelo sabor adstringente, são compostos fenólicos que possuem estrutura

química semelhante à do hormônio estrógeno sendo, portanto, eficazes no alívio dos sintomas do climatério (menopausa) e na redução dos riscos de câncer hormônio dependentes, como os cânceres de mama, colo de útero e próstata. Reduzem os níveis de colesterol sanguíneo total e do LDL colesterol prevenindo, assim, doenças cardiovasculares (MESSINA *et. al.* 1994). Este estudo teve como objetivos avaliar os teores de inibidor de tripsina de Kunitz e isoflavonas nas sementes em diferentes estádios de germinação da cultivar BRS 213 produzida nos campos experimentais da Embrapa Soja, em Londrina, PR.

Materiais e Métodos

Aproximadamente 50 sementes de soja da cultivar BRS 213 foram germinadas em laboratório por dois e quatro dias, na ausência de luz. Para tanto, foram utilizados beakers de vidro contendo papel de germinação embebido em água destilada deionizada esterilizada. As sementes germinadas foram trituradas em micro moinho, desengorduradas a frio com n-hexano e submetidas às análises para determinação dos teores de inibidor de tripsina de Kunitz (KSTI) e de isoflavonas. Na determinação do teor de KSTI foi utilizado o método de Kakade *et al.* (1973) modificado por Hamerstrand *et al.* (1981). A separação e a quantificação das isoflavonas foram realizadas em coluna de fase reversa do tipo ODS C18 (YMC Pack ODS-AM Column) utilizando-se um cromatógrafo líquido da marca Waters, modelo 2690, com injetor automático de amostras. Para a separação das isoflavonas foi utilizado o sistema de gradiente linear binário tendo-se como fases móveis metanol contendo 0,025% de ácido TFA (ácido trifluoroacético) (solvente A) e de H₂O destilada deionizada ultrapura contendo 0,025% ácido TFA (solvente B). A condição inicial do gradiente foi de 20% para o solvente A, atingindo-se 100% em 40 min e retornando à 20% novamente a 41 min. O tempo total de corrida foi de 60 min. O fluxo da fase móvel foi de 1 mL/min e a temperatura durante a corrida foi de 25 °C. Para a detecção das isoflavonas foi utilizado o detector de arranjo de foto diodo da marca Waters, modelo 996, ajustado para o comprimento de onda de 260 nm. Para a identificação das isoflavonas foi utilizada uma mistura dos padrões de daidzina, daidzeína, genistina e genisteína da

marca Sigma. Esta solução foi preparada em metanol contendo um mix dos glicosídeos nas seguintes concentrações: 0,00625 mg/mL; 0,0125 mg/mL; 0,0250 mg/mL; 0,0500 mg/mL e 0,1000 mg/mL. A quantificação das isoflavonas por padronização externa (área dos picos) foi realizada utilizando os padrões como referência de acordo com a metodologia preconizada por Berhow, M., 2002.

Resultados e Discussão

O teor de KSTI nas amostras germinadas foi menor quando comparado com o da soja não germinada. Nas sementes com dois dias de germinação houve uma redução no teor de inibidor e, aos quatro dias, o teor atingiu valores semelhantes àqueles das sementes não germinadas. Isto indica que, o processo de germinação poderia ser utilizado como uma alternativa para a produção de alimentos à base de soja e de rações para animais, empregando-se menos energia, para inativar o KSTI, reduzindo-se assim os custos de produção. O teor total das isoflavonas sofreu uma redução durante o processo de germinação. Com relação aos grupos de isoflavonas, foi verificada uma redução mais acentuada dos glicosídeos e das formas malonil, enquanto as agliconas (dadzeína e genisteína) apresentaram aumento no seu teor, quando comparado com a soja não germinada. A forma malonil-glicetina foi identificada na amostra após quatro dias de germinação. A gliciteína não mais foi identificada na amostra inicial, mas estava presente nas amostras com dois e quatro dias de germinação.

Referências Bibliográficas

BERHOW, M. A. Modern analytical techniques for flavonoid determination. In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. (ed.). *Flavonoids in the living cell*. New York: Kluser Academic, 2002. p.61-76. (Adv. Exp. Méd. Biol. v. 505).

HAMERSTRAND, G.E.; BLACK, L.T.; GLOVER, J.D. Trypsin inhibitors in soy products: modification of the standard analytical procedure. *Cereal Chemistry*, Saint Paul, v. 51, n. 1, p. 42-45, 1981.

KAKADE, M.L.; RACKIS, J.J.; MCGHEE, J.E.; PUSKI, G. Determination of trypsin inhibitor analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 51, n.3 p. 376-382, 1974.

MESSINA, M.; MESSINA, V.; SETCHELL, K. **The simple soybean and your health**. New York: Avery, 1994. 260 p.

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

NELSON, A.I.; WEI, S.L.; STEINBERG, M.P. Foods from whole soybean. In: **WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 2.**, 1979, Corbinn. **Proceedings...** Corbinn, F.T.: Westview Press, Boulder, 1979. p.745-61.

RACKIS, J.J. Significance of soya trypsin inhibitors in nutrition. **Journal of The American Oil Chemists Society**, Champaign, v.58, n.3 p. 495-501, 1981.