

Tratamento térmico adequado proporciona melhoria da qualidade nutricional de farinhas de soja elaboradas a partir de novos cultivares destinados à alimentação humana

Adequate heat treatment improves the nutritional quality of soybean flours from new cultivars for human consumption purpose

RIALA6/1326

Glauca Ferreira ANDRADE¹, Maria Inês de Souza DANTAS¹, Newton Diniz PIOVESAN², Renato Moreira NUNES^{2,4}, Everaldo Gonçalves de BARROS², Neuza Maria Brunoro COSTA³, Hércia Stampini Duarte MARTINO^{1*}

*Endereço para correspondência: Departamento de Nutrição e Saúde, CCB-II. Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs s/n, Viçosa/MG, Brasil. CEP 36570-000. Tel: 31 3899-3741 ou 2545. Fax: 31-38992541. E-mail: hercia@ufv.br

¹Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

²Departamento de Biologia Geral; BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil

³Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil

⁴Departamento de Nutrição, ICB, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil

Recebido: 26.05.2010 – Aceito para publicação: 29.12.2010

RESUMO

O efeito do calor seco sobre índices de urease, a solubilidade proteica e a desfosforilação de ácido fítico foram avaliados em grãos de diferentes cultivares de soja. Os grãos foram submetidos à temperatura de 130°C, 150°C e 170°C por 30 minutos e, posteriormente, triturados. Foram realizadas as análises de urease, da solubilidade proteica e dos teores de hexafosfato, pentafosfato, tetrafosfato e trifosfato de inositol. O tratamento a 130°C foi insuficiente para inativar a atividade da urease e a temperatura de 170°C ultrapassou o limite adequado; os valores desejáveis foram obtidas a 150°C. A solubilidade da proteína diferiu entre as temperaturas aplicadas ($p < 0,05$). O processamento térmico sob temperatura de 150°C indicou ser adequado por apresentar valores de solubilidade proteica entre 70% a 85%. O teor de hexafosfato de inositol foi 46% menor no cultivar convencional. Ocorreu redução média de 37,7% de IP6 no tratamento dos grãos de soja a 150°C, quando comparado a de 130°C. O tratamento térmico a 150°C por 30 minutos foi o melhor para processar a soja, proporcionar adequada solubilidade proteica na redução da atividade de urease, além de reduzir a concentração de inositolis hexa e penta-fosfatos, sem afetar a concentração dos inositolis tetra e trifosfato.

Palavras chaves. soja, urease, solubilidade proteica, ácido fítico.

ABSTRACT

The present work analyzed the effect of dry heat on grains from different soybean cultivars, and the indices of urease, protein solubility and dephosphorylation of phytic acid were determined. The grains were exposed to temperatures at 130°C, 150°C and 170°C for 30 minutes, and then powdered. Analyses of urease, protein solubility, and inositol hexaphosphate, pentaphosphate, tetraphosphate and triphosphate were carried out. The treatment of grains at 130°C was insufficient to inactivate the urease activity, while the temperature at 170°C exceeded the appropriate limit; at 150°C desirable values were observed. The protein solubility differed among the employed temperatures ($p < 0.05$). Heating processing at 130°C was not appropriate, but at 150°C indicated to be suitable temperature, as the protein solubility values were between 70% and 85%. Inositol hexaphosphate content was 46% lower in the conventional cultivar. An average reduction of 37.7% for the IP6 was observed in treating the soybean grains at 150°C, in comparison with 130°C. The heating treatment at 150°C for 30 minutes was the most adequate for processing the soybean, and for providing appropriate protein solubility, reduced urease activity and reduced concentration of inositol penta- and hexaphosphates, without affecting the inositol tetra- and tri-phosphates concentrations.

Key words. soybean, urease, protein solubility, phytic acid.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L) Merrill) é uma leguminosa muito valorizada economicamente devido à sua composição de nutrientes e fitoquímicos que a classifica como um alimento de alto valor nutricional e com alegação funcional¹. A proteína e o óleo correspondem a cerca de 40% e 20%, respectivamente, do grão de soja. A proteína é o maior bioproduto processado da soja². O consumo da soja tem sido verificado em diferentes grupos etários, uma vez que está associado à redução dos riscos de doenças crônicas não transmissíveis, como: diabetes mellitus, câncer, enfermidades cardiovasculares, osteoporose, dentre outras^{3,4}.

Entretanto, a soja contém componentes fitoquímicos com ação antinutricional, que podem influenciar a sua qualidade nutricional, como: fitato, inibidores de protease, lipoxigenases, oxalato, saponinas, hemaglutininas, entre outros⁵. O tratamento térmico tem sido utilizado como um método físico para inativar esses fatores, porém deve ser controlado para evitar a destruição de aminoácidos indispensáveis, o escurecimento de subprodutos de soja e favorecer a biodisponibilidade de minerais⁶.

Algumas análises específicas podem ser utilizadas para monitorar o processamento térmico da soja. A análise de atividade de urease indica a presença de fatores antinutricionais, como os inibidores de tripsina, sendo um bom indicador da adequabilidade do processamento térmico de produtos de soja. Os valores recomendados por alguns autores para atividade ureática em soja são de 0,05 a 0,3 unidades de pH^{7,8,9}.

Existe uma correlação direta da qualidade do processamento com a quantidade de proteína solúvel. A variação da solubilidade de 70 a 85% é descrita como processamento ideal, uma vez que valores abaixo de 70% e acima de 85% são indicativos de um processamento inadequado^{7,9,10}.

O fitato presente nos grãos de soja em concentrações entre 0,4 e 6,4%, constitui a principal forma de armazenamento do fosfato em sementes de leguminosas¹¹. A importância de quantificar a concentração dos diferentes compostos formados pela desfosforilação do fitato está baseada na capacidade do mioinositol penta-fosfato (IP5) e do hexa-fosfato (IP6) formarem complexos insolúveis com minerais, proteínas e amidos, biologicamente indispensáveis para seres humanos em condições fisiológicas normais,

impedindo sua absorção no trato digestório^{12,13,14}. Porém, os demais compostos formados, tetra-fosfato (IP4) e tri-fosfato (IP3), têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou são mais solúveis, podendo ter efeito positivo na saúde humana, como ação antioxidante^{14,15,16}.

O tratamento térmico de grãos de soja anterior ao seu processamento para produção de farinhas é usual. Entretanto, não existe uma recomendação do melhor tempo e temperatura a ser aplicado aos grãos para inativar e/ou reduzir seus fitoquímicos com ação antinutricional, em detrimento daqueles com efeito funcional, preservando seus nutrientes. Níveis adequados de atividade de urease têm sido demonstrados em sojas submetidas à temperatura de 98°C por 30 minutos, sob calor úmido, 60°C por 42 horas e 121°C por 15 minutos, sob calor seco^{17,18,19}, indicando desnaturação do inibidor de tripsina. Entretanto, atividade de urease não é marcador indireto para hidrólise de ácido fítico. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito do calor seco em grãos de diferentes cultivares de soja nos índices de urease, solubilidade proteica e desfosforilação de ácido fítico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados quatro cultivares de soja destinada à alimentação humana. Os cultivares Embrapa 48, BRS-155 e BRS-213, foram fornecidos pela EMBRAPA Soja de Londrina, PR, e o cultivar UFVTN 105 foi fornecido pelo Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa. A Embrapa 48 é um cultivar convencional, preferido pela indústria brasileira de extrato de soja. O cultivar BRS-155 apresenta teor reduzido de inibidor de tripsina e os cultivares BRS-213 e UFVTN 105 são isentos das enzimas lipoxigenases.

Os grãos de soja foram selecionados e submetidos ao processo de retirada de sujidades, manualmente. A seguir, quantidades iguais dos diferentes cultivares foram acondicionados em placas de petri, de tamanho padronizado, e colocados em estufa de secagem e esterilização da marca Tecnal (TE-393/2), a temperaturas de 130°C, 150°C e 170°C por 30 minutos. Os grãos foram resfriados à temperatura ambiente e acondicionados em embalagens plásticas.

Para obtenção da farinha integral de soja os grãos foram moídos em um miniprocessador e classificados em peneira de 60 mesh (0,250 mm).

Composição química centesimal

A quantificação dos teores de umidade, proteínas, lipídios, cinzas e carboidratos das farinhas de soja foi realizada segundo o método da AOAC²⁰.

Urease e Solubilidade Proteica

A determinação da atividade ureática foi realizada de acordo com o método de atividade de urease descrito pela AOCS²¹. A análise de solubilização da proteína foi baseada na solubilidade do nitrogênio em solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,2% e o resultado foi expresso em porcentagem de nitrogênio solúvel em relação ao nitrogênio total²² adaptado por Machado et al¹⁸.

Determinação de Fitatos

Para a extração dos diferentes mio-inositol fosfatos, as farinhas de soja foram liofilizadas. A quantificação de fitatos foi realizada segundo a metodologia descrita pela AOAC²³ e o método cromatográfico (Par iônico, Ultrasep ES 100 RP18, 2 x 250 mm) proposto por Sandgerg e Ahderinne²⁴.

Delineamento experimental

Utilizou-se o modelo fatorial 4 x 3, correspondente à combinação de 4 cultivares e 3 tratamentos, dispostos no delineamento inteiramente casualizados (DIC), com três repetições, em duplicata para os dados de atividade de urease e solubilidade proteica. Os dados de composição química centesimal e de ácido fítico foram apresentados

em valores médios em função das análises terem sido realizadas em replicatas.

Os dados foram interpretados por meio de variância (ANOVA) e as médias averiguadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$), utilizando o software Statistical Analysis Systems (SAS) licenciado pela Universidade Federal de Viçosa²⁵.

RESULTADOS

A composição centesimal, expressa em g.100g⁻¹ de farinha integral de soja dos quatro cultivares é apresentada na Tabela 1. O teor de proteína, entre os cultivares, variou de 36% a 39%, lipídios de 20% a 24%, umidade de 7% a 11%, cinzas de 4% a 6% e carboidrato de 23% a 29%.

Quanto à atividade de urease, não houve diferença significativa entre os cultivares (Tabela 2). No entanto, com relação ao tratamento térmico, a temperatura de 130°C diferiu ($p < 0,05$) das demais não sendo suficiente para inativar a atividade da urease em valores inferiores a 0,3 unidades de pH. Não houve diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos a 150°C e 170°C. Entretanto, o tratamento a 150°C apresentou valores desejáveis, dentro da classificação recomendada (0,3 a 0,05 unidades de pH), sendo a mais indicada neste caso. Os cultivares submetidos à temperatura de 170°C apresentaram atividade de urease inferior a 0,05 unidades de pH, indicando um possível superaquecimento (Tabela 2).

Tabela 1. Composição química dos quatro cultivares de soja, submetidos a diferentes tratamentos térmicos por trinta minutos

Temperatura (°C)	Farinha integral de soja (g.100g ⁻¹)											
	UFVTN 105			Embrapa 48			BRS-213			BRS-155		
	130	150	170	130	150	170	130	150	170	130	150	170
Umidade	10,7	7,1	8,4	10,2	7,4	9,7	9,8	7,7	9,2	7,7	7,6	7,5
Proteína	38,1	38,9	38,9	38,1	37,9	38,5	38,1	38,7	39,0	37,4	36,8	36,9
Lipídio	22,8	20,7	21,1	23,0	23,2	22,8	21,0	21,2	21,4	21,8	22,1	22,1
Cinzas	4,8	5,0	5,1	5,6	5,6	5,6	5,4	5,4	5,5	5,4	5,5	5,5
Carboidratos totais*	23,6	28,2	26,4	23,2	25,9	23,4	25,7	27,0	24,8	27,7	27,9	27,9

*Inclui a fração da fibra alimentar.

Tabela 2. Médias e desvio padrão da atividade de urease de cultivares de soja, em unidades de pH, submetidos a diferentes tratamentos térmicos por trinta minutos

Cultivares	Temperaturas (°C)		
	130	150	170
UFVTN 105	0,78 ± 0,32 ^{Aa}	0,12 ± 0,17 ^{Ba}	0,02 ± 0,005 ^{Ba}
Embrapa 48	0,67 ± 0,25 ^{Aa}	0,12 ± 0,09 ^{Ba}	0,02 ± 0,01 ^{Ba}
BRS-213	1,08 ± 0,73 ^{Aa}	0,04 ± 0,05 ^{Ba}	0,02 ± 0,01 ^{Ba}
BRS-155	1,42 ± 0,18 ^{Aa}	0,19 ± 0,28 ^{Ba}	0,01 ± 0,01 ^{Ba}

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

A solubilidade da proteína não diferiu ($p > 0,05$) entre os cultivares de soja, porém diferiu ($p < 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 3). O processamento térmico a temperatura de 130°C não foi adequado, pois a solubilidade permaneceu acima de 85%, valor de referência limite para avaliar a qualidade proteica²⁶. Na temperatura de 150°C, a solubilidade proteica dos cultivares de soja variou entre 70 a 85%, indicando processamento térmico adequado, para preservar a qualidade proteica.

Os teores de mioinositol hexafosfato (IP6), pentafofosfato (IP5), tetrafofosfato (IP4), e trifosfato (IP3) ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) dos cultivares submetidos a diferentes tratamentos térmicos em base seca são apresentados na Tabela 4. A análise de fitato não foi realizada no tratamento a 170°C, em decorrência da baixa

solubilidade proteica e da atividade ureática inferior a 0,05 unidades de pH. Observou-se redução de 37,7% na concentração de IP6 no tratamento dos grãos de soja a 150°C por 30 minutos, em relação ao tratamento a 130°C por 30 minutos.

Os cultivares sem lipoxigenases, UFVTN 105 e BRS-213, apresentaram concentrações de inositóis semelhantes, com redução da concentração de IP6 de 47,4% e 33,1%, respectivamente, no tratamento a 150°C em comparação ao 130°C. A concentração de fitato foi em média 42% menor no cultivar convencional, em comparação aos cultivares sem lipoxigenases, no entanto, o cultivar convencional não apresentou IP3 e ínfimas concentrações de IP4. O cultivar sem inibidor de tripsina, BRS-155, apresentou concentração de IP6 semelhante ao cultivar UFVTN 105 tratado a 150°C.

Tabela 3. Médias e desvio padrão da solubilidade proteica de cultivares de soja, em KOH (%), submetidos a diferentes temperaturas por trinta minutos

Cultivares	Tratamento (°C)		
	130	150	170
UFVTN 105	89,62 ± 2,42 ^{Aa}	79,35 ± 6,27 ^{Ba}	52,63 ± 15,16 ^{Ca}
Embrapa 48	88,30 ± 6,27 ^{Aa}	80,63 ± 7,33 ^{Ba}	42,19 ± 7,14 ^{Ca}
BRS-213	91,97 ± 3,69 ^{Aa}	81,50 ± 0,92 ^{Ba}	41,66 ± 9,06 ^{Ca}
BRS-155	85,74 ± 5,08 ^{Aa}	80,91 ± 2,65 ^{Ba}	41,63 ± 8,43 ^{Ca}

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 4. Médias das concentrações de mioinositol hexafosfato (IP6), pentafofosfato (IP5), tetrafofosfato (IP4), e trifosfato (IP3) (g.100g-1) em base seca, para as diferentes cultivares de soja, submetidas a diferentes tratamentos térmicos

Cultivares	Tratamentos	IP6	IP5	IP4	IP3	Fitato total
UFVTN 105	130°C	1,57	0,44	0,21	0,07	2,29
	150°C	0,83	0,47	0,22	0,07	1,59
Embrapa 48	130°C	0,90	0,13	0,03	-	1,06
	150°C	0,62	0,12	0,04	-	0,78
BRS-213	130°C	1,51	0,46	0,21	0,07	2,25
	150°C	1,01	0,43	0,23	0,08	1,75
BRS-155	130°C	1,35	0,42	0,12	0,03	1,92
	150°C	0,82	0,43	0,12	0,03	1,4

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos, referente à composição química centesimal dos quatro cultivares de soja, situam-se dentro da faixa encontrada por Esteves et al²⁷ e Monteiro et al²⁸. Entretanto, Machado et al¹⁸ encontraram maior concentração de proteína e menor concentração de lipídios em cultivares de soja convencionais e cultivares livre de lecitina e do inibidor de tripsina Kunitz. Mendes et al²⁹ encontraram valores superiores de proteína e de lipídios em cultivares com e sem a presença de lipoxigenases e inibidores de tripsina Kunitz. Morais et al³⁰ estudaram o cultivar UFVTN 105 e encontraram valores semelhantes de composição química centesimal desse cultivar sem lipoxigenase. Ciabotti et al³¹ encontraram valores inferiores de proteínas e de lipídios no cultivar BRS-213, sem lipoxigenase, em relação ao presente estudo. Vale ressaltar que as diferenças na composição química das sojas podem ocorrer devido aos diferentes tipos de solo, localização geográfica, cultivares e práticas agrônômicas, dentre outros fatores.

O elevado teor de lipídio encontrado nos cultivares de soja é uma vantagem, visto que uma das principais formas de utilização da soja é para extração de óleos, aos quais podem ser amplamente utilizados na indústria de alimentos para produção de óleos e gorduras comestíveis²⁷.

O presente estudo encontrou que o tratamento térmico dos grãos de soja, em calor seco, a 150°C por 30 minutos, permitiu uma adequada atividade de urease em

farinha de soja, estando os valores dentro do recomendado por alguns autores, 0,05 a 0,3 unidades de pH. Esse resultado indica que o tratamento térmico foi adequado para inativar inibidor de tripsina^{7,8,9}. Níveis adequados de atividade de urease em sojas submetidas à temperatura de 98°C por 30 minutos, em calor úmido, 60°C por 42 horas e 121°C por 15 minutos, em calor seco, também foram observados, respectivamente, por Olguin et al¹⁷, Machado et al¹⁸ e Ramos et al¹⁹. Valores de atividade de urease inferiores a 0,12 unidades de pH indicaram adequada inativação de inibidores de tripsina¹⁸.

Não foi observada diferença estatística entre os cultivares, quanto à atividade de urease nos diferentes tratamentos térmicos, mesmo no cultivar com baixo teor de inibidor de tripsina (BRS-155) e com ausência de lipoxigenase (BRS-213 e UFVTN 105), indicando que o tratamento térmico adequado foi suficiente para inativar o inibidor de tripsina, independente do melhoramento genético do cultivar. Carvalho et al³² mostraram em seus estudos que a eliminação genética da lipoxigenase da semente de soja causou uma diminuição nos níveis de inibidor de tripsina nos grãos.

O presente estudo demonstrou que a inativação do inibidor de tripsina é possível, mesmo no cultivar convencional. Sabendo que estes cultivares foram desenvolvidos para a alimentação humana, todos deverão passar por um processamento físico, como o calor, para serem consumidos, tornando-os favoráveis ao consumo quando submetidos à temperatura adequada.

A temperatura de 150°C por 30 minutos também foi adequada para preservar a qualidade proteica dos cultivares de soja, uma vez que a solubilidade proteica variou entre 70 a 85%, indicando um processamento térmico adequado^{7,9,10}. Silva et al³³ avaliaram a qualidade proteica dos mesmos cultivares de soja do presente estudo, tratados também nas mesmas condições, a 130°C e 150°C por 30 minutos, em calor seco, realizando um ensaio biológico com rato *Wistar* recém-desmamados. Os autores encontraram que as farinhas de soja em que os grãos foram tratados a 150°C por 30 minutos, apresentaram melhores índices de qualidade proteica do que aqueles tratados a 130°C por 30 minutos, confirmando o resultado da análise química do presente estudo.

Perilla et al³⁴ estudaram o efeito da temperatura de processamento de extrusão úmida sobre a qualidade da proteína e constataram que a temperatura de 126°C por 20 minutos reduziu o conteúdo de fatores antitripsínicos em 97%. A temperatura de 140°C por 20 minutos destruiu por completo estes fatores antinutricionais, mas reduziu a solubilidade da proteína em KOH até 67%, nível considerado inaceitável.

No presente trabalho, foi observada redução média de 37,7% de IP6 no tratamento dos grãos de soja a 150°C por 30 minutos, em relação ao tratamento a 130°C por 30 minutos. O processamento térmico dos grãos proporcionou desfosforilação parcial do inositol hexafosfato, produzindo compostos intermediários como o penta-fosfato (IP5), tetra-fosfato (IP4), tri-fosfato (IP3), di-fosfato (IP2) e mono-fosfato (IP1) de inositol, sendo essa uma vantagem do tratamento térmico adequado, uma vez que, somente o IP5 e IP6 têm demonstrado efeito negativo na biodisponibilidade de minerais^{14,35}. Os demais compostos formados têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou são mais solúveis¹¹. Portanto, o tratamento a 150°C por 30 minutos proporcionou efeito importante do ponto de vista nutricional, redução dos fitoquímicos IP6 e IP5, especialmente nos cultivares sem lipoxigenas, e aqueles com reduzido teor de inibidor de tripsina; e manutenção dos níveis de IP3 e IP4 que apresentam alegação de propriedade funcional, como potencial antioxidante^{13,14,15,16}.

A concentração de IP6, apesar de 42% menor no cultivar convencional, em comparação aos cultivares sem lipoxigenas, se concentrou nas frações IP6 e IP5 com efeito antinutricional. Segundo Souza³⁶, a variação na concentração de fitato dos grãos de soja são devidos ao genótipo, a variação nas condições ambientais, na dose aplicada de fertilizantes, no armazenamento e nos

métodos de determinação. Analisar a concentração de fitato pelas concentrações de mioinositóis é importante para identificar as frações que têm impacto negativo na biodisponibilidade de nutrientes distinguindo das frações com potencial antioxidante.

O inibidor de tripsina, embora não tenha sido analisado neste estudo, é um fator antinutricional que afeta a digestibilidade da proteína. Ele é termicamente instável, mas o tratamento térmico excessivo pode causar perda de aminoácidos essenciais como lisina, arginina e cisteína, além de promover o escurecimento dos subprodutos de soja^{6,37}. No presente estudo, provavelmente, o calor seco a 150°C por 30 minutos inativou este composto, em função da baixa atividade de urease, sem afetar a solubilidade proteica entre os cultivares estudados. Carvalho³⁸ verificou que a atividade de urease do cultivar UFTN 105AP, tratado a 150°C por 30 minutos, inativou completamente o inibidor de tripsina, sendo a análise da atividade de urease um bom preditor da inativação do inibidor de tripsina.

CONCLUSÃO

O tratamento térmico dos cultivares de soja, utilizando calor seco na temperatura de 150°C por 30 minutos, foi o mais apropriado para o processamento de farinhas de soja, pois proporcionou adequada solubilidade proteica e redução da atividade de urease, indicando inativação do inibidor de tripsina. Além disso, promoveu a desfosforilação do ácido fítico, reduzindo a concentração de inositóis hexa e penta-fosfatos que têm ação antinutricional, sem afetar a concentração dos inositóis tetra e tri-fosfato, que são fitoquímicos com propriedade antioxidante.

Este achado foi de grande importância na área de processamento da soja, uma vez que, independente do melhoramento genético, o tratamento térmico adequado proporcionou melhoria na qualidade nutricional entre os cultivares de soja para o consumo humano.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica (PIBIC/CNPq/UFV). Ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e a Dra. Mercedes C. Carrão-Panizzi da Embrapa soja de Londrina, Paraná pela disponibilização dos cultivares de soja.

REFERÊNCIAS

1. Wilson TA, Nicolosi RJ, Kotyla T, Fleckinger B. Soy protein without isoflavones reduces aortic total and cholesterol ester concentrations greater than soy protein with isoflavones compared with casein in hypercholesterolemic hamsters. *Nutr Res*. 2007;27(8):498-504.
2. Bolon YT, Joseph B, Cannon SB, Graham MA, Diers BW, Farmer AD et al. Complementary genetic and genomic approaches help characterize the linkage group I seed protein QTL in soybean. *BMC Plant Biol*. 2010;3:10-41.
3. Lee SJ, Ahn JK, Khanh TD, Chun SC, Kim SL, Ro HM et al. Comparison of isoflavone concentrations in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) sprouts grown under two different light conditions. *J Agric Food Chem*. 2007;55:9415-21.
4. Xiao CW. Health effects of soy protein and isoflavones in humans. *J Nutr*. 2008;138:1244S-9S.
5. Martino HSD, Martins BR, Weaver CM, Bressan J, Esteves EA, Costa NMB. Zinc and iron bioavailability of genetically modified soybeans in rats. *J Food Sci*. 2007;72(9):689-95.
6. Huang H, Kwok KC, Liang HH. Inhibitory activity and conformation changes of soybean trypsin inhibitors induced by ultrasound. *Ultrasonics Sonochem*. 2008;15:724-30.
7. Mendes WS, Silva IJ, Fontes DO, Rodriguez NM, Marinho PC, Silva FO et al. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2004;56(2):207-13.
8. Wiriyaumpaiwong S, Soponronnarit S, Prachayawarakorn S. Comparative study of processes for full-fat soybeans. *J Food Engin*. 2004;65:371-82.
9. Brito CO, Albino LFT, Rostagno HS, Gomes PC, Dionizio MA, Carvalho DCO. Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de pintos de corte. *Rev Bras Zootec*. 2006;35(2):457-61.
10. Oliveira FN, Costa FGP, Silva JHV, Brandão PA, Júnior VSA, Nascimento GAJ et al. Desempenho de frangos de corte nas fases de crescimento e final alimentados com rações contendo soja integral extrusada em diferentes temperaturas. *Rev Bras Zootec*. 2005;34(6):1950-5.
11. Oliveira AC, Reis SMPM, Carvalho EM, Pimenta FMV, Rios KR, Paiva KC et al. Adições crescentes de ácido fítico à dieta não interferiram na digestibilidade da caseína e no ganho de peso em ratos. *Rev Nutr Campinas*. 2003;16(2):211-7.
12. Martinez-Valverde I, Periago M, Ros G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch Latinoam Nutr*. 2000;50(1):5-18.
13. Martinez-Dominguez B, Gomes MVI, León FR. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Arch Latinoam Nutr*. 2002;52(3):219-31.
14. Kumar V, Sinha AK, Makkar HPS, Becker K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chem*. 2010;120:945-59.
15. Quirrenbach HR, Kanumfre F, Rosso ND, Carvalho Filho MA. Comportamento do ácido fítico na presença de Fe(II) e Fe (III). *Ciênc Tecnol Alim*. 2009;29(1):24-32.
16. Filgueiras CT, Soares AL, Shimokomaki M, Ida EI. Avaliação da atividade antioxidante do ácido fítico de germe de milho. *Quím Nova*. 2009;32(7):1787-91.
17. Olguin MC, Hisano N, D'Ottavio AE, Zingale MI, Revelant GC, Calderari SA. Nutritional and antinutritional aspects of fan Argentinian soy flour assessed on weanling rats. *J Food Composit Anal*. 2003;16:441-9.
18. Machado FPP, Queiróz JH, Oliveira MGA, Piovesan ND, Peluzio MCG, Costa NMB et al. Effects of heating on protein quality of soybean flour devoid of Kunitz inhibitor and lectin. *Food Chem*. 2008;107(2):649-55.
19. Ramos N, Lúquez J, Eyherabide G. Calidad de la harina de soja sometida a distintos tratamientos térmicos para inactivar los factores antinutricionales. *Tecnol Proces*. 2006:681-3.
20. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC International. 16th ed. Maryland, 1997.
21. AOCS. American Oil Chemists Society. Tentative method Ba 9-58 - Urease activity. In: Smith AK, Circle SJ. Soybeans: chemistry and technology. 1978; 1:454-5.
22. Brasil. Diário Oficial da União. Portaria de 4 de setembro de 1991 que estabelece os Métodos Analíticos para Controle de Alimentos para uso Animal. DOU número 108 de 17 de setembro de 1991. 1991; 19813.
23. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC International. 15th ed. Washington, DC. 1990.
24. Sandberg A, Ahderinne R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, hexaphosphates in foods and intestinal contents. *J Food Sci*. 1986;51:547-50.
25. SAS. System for Windows. Version 9.00. Cary, North Carolina: SAS Institute, 2002.
26. Araba M, Dale NM. Evaluation of protein solubility as an indicator of overprocessing of soybeans meal. *Poult Sci*. 1990;69: 76-82.
27. Esteves EA, Martino HSD, Oliveira FCE, Bressan J, Costa NMB. Chemical composition of a soybean cultivar lacking lipoxygenases (lox2 and lox3). *Food Chem*. 2010;122(1):238-42.
28. Monteiro MRP, Costa NMB, Oliveira MGA, Pires CV, Moreira MA. Qualidade proteica de linhagens de soja com ausência do Inibidor de Tripsina Kunitz e das isoenzimas Lipoxygenases. *Rev Nutr*. 2004;17(2):195-205.
29. Mendes FQ, Oliveira MGA, Cardoso LR, Costa NMB, Sant'ana RCO. Digestibilidade proteica e caracterização bromatológica de linhagens de soja com ausência ou presença do inibidor de tripsina kunitz e das isozimas lipoxygenases. *Biosci J*. 2007;23(1):14-21.
30. Moraes RMA, José IC, Ramos FG, Barros EG, Moreira MA. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. *Pesq Agropec Bras*. 2006;41(5):725-9.
31. Ciabotti S, Barcellos MFP, Mandarino JMG, Tarone AG. Avaliação química e bioquímica dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de lipoxygenase. *Ciênc Agrotéc*. 2006;30(5):920-9.
32. Carvalho WL, Oliveira MGA, Barros EG, Moreira MA. Lipoxygenases affect protease inhibitor levels in soybean seeds. *Plant Physiol Biochem*. 1999;37:497-501.
33. Silva OC, Andrade GF, Dantas MIS, Costa NMB, Peluzio MCG, Martino HSD. Influência do processamento na qualidade proteica de novos cultivares de soja destinados à alimentação humana. *Rev Nutr*. 2010; 23(3):389-97.

34. Perilla NS, Cruz MP, de Belalcázar F, Diaz GJ. Effect of temperature of wet extrusion on the nutritional value of full-fat soybeans for broiler chickens. *Brit Poultry Sci*. 1997;3(4)8:412-6.
35. Silva MR, Silva MAAP. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. *Rev Nutr*. 1999;12(1):5-19.
36. Souza CMMCA. 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: 2003. Universidade de São Paulo.
37. Kumar V, Rani A, Pandey V, Chauhan GS. Changes in lipoxygenase isozymes and trypsin inhibitor activity in soybean during germination at different temperatures. *Food Chem*. 2006;99:563-8.
38. Carvalho AW. Caracterização nutricional, biodisponibilidade de ferro e qualidade protéica de novo cultivar de soja sem lipoxigenases e de elevado teor protéico. [dissertação de mestrado]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009.