

BIOQUÍMICA EXPERIMENTAL PARA O MELHORAMENTO DO VALOR NUTRICIONAL DE GRÃO DE SOJA, *Glycine max* (L) MERRIL

Fábio Portela ⁽¹⁾
J.E. Dutra de Oliveira ⁽²⁾

INTRODUÇÃO

No Brasil, a soja, *Glycine max* (L) Merrill, apresenta um grande potencial como fonte proteica para a alimentação humana e assim sendo torna-se necessário o estudo das variedades nacionais alienígenas aqui aclimatadas visando o melhoramento genético quanto ao valor nutricional.

Em geral o esforço maior dos nossos órgãos e instituições de pesquisas fitotécnicas está voltado para os problemas agrônômicos e pouco interesse existe em relação ao melhoramento das características bromatológicas e nutricionais.

Níveis proteicos apesar de considerados em alguns trabalhos (FONTES & Col., 1974; SILVA, 1970) apresentam baixa correlação com valor biológico (BAJAJ & Col., 1971). Assim é que o valor biológico deve ser considerado em programas de melhoramento desta leguminosa como alimento humano.

O desenvolvimento de linhagens e variedades cujo valor nutritivo e especialmente proteico seja de melhor qualidade constitui um programa de bioquímica.

⁽¹⁾ Escola Superior de Agricultura de Lavras, MG.

⁽²⁾ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.

Desta maneira, estudos foram realizados baseando-se em variedades cultivadas na região da Alta Mogiana do Estado de São Paulo, procurando conhecer suas características químicas, bioquímicas, correlacionando-as com valores biológicos visando subsídios agrônômicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Usamos grãos das variedades Hardee, Davis, Viçoja, F-61-2926, L-652-8, L-652-3, Mineira, L-2006, Pelicano, Ia-6191, Santa Rosa e Industrial obtidas no Departamento de Agricultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia de Jaboticabal de experimentos de caráter agrônômico (LAM-SANCHEZ & DUTRA DE OLIVEIRA, 1972).

As seguintes análises foram feitas: determinação de proteína (AOAC, 1965) aminogramas de acordo com SPACHMAN e col. (1958) e MOORE & STEIN (1951) usando-se analisador Beckman, modelo 120 C, sendo que realizamos hidrólise com ácido clorídrico 6 N por 20 horas a 105°C, cuidando que para a determinação de metionina e cistina prévia oxidação peróxica foi realizada (MOORE, 1963). Quanto ao triptofano realizamos hidrólise alcalina (HUGLI & MOORE, 1972) e quantificação de acordo com a técnica B de SPIES & CHAMBERS (1949). Inibidores proteolíticos foram determinados de acordo com KAKADE & col. (1969) para a tripsina e KAKADE & col. (1970) para a quimiotripsina.

Avaliação biológica constituiu na determinação do coeficiente de eficácia proteica, CEP (AOAC, 1965) considerando também as precauções enumeradas por CAMPBELL (1963).

Todos os sais usados eram reagentes químicos.

RESULTADOS

Os dados obtidos relativamente às variedades estudadas são mostrados no quadro I (PORTELA, 1977). Os dados do CEP foram corrigidos (CAMPBELL, 1963). Este mostrou que as diferenças existentes entre linhagens de ratos, laboratórios, níveis proteicos na dieta, bem como tempo de duração do ensaio biológico influem no valor do CEP e que a padronização destes

resultados era possível se o valor 2,5 fosse arbitrariamente ajustado para a caseína e todos os valores observados corrigidos à razão de 2,5/CEP para a dieta de caseína que se realiza paralelamente às demais dietas do experimento.

DISCUSSÃO

Constantemente enfatiza-se a necessidade do melhoramento do valor bioquímico nutricional de grãos por meios genéticos, principalmente após o trabalho de MERTZ e col. (1964).

A soja deve ser incluída neste programa. O conhecimento de dados químicos, bioquímicos e biológicos são necessários para o desenvolvimento de novas variedades de soja.

A observação do quadro I mostra que as variedades apresentam teores proteicos de 34,19 a 41,25 gramas por cento.

Entretanto nem sempre o teor proteico reflete uma maior ou menor disponibilidade de aminoácidos. As leguminosas são deficientes em aminoácidos sulfurados, para a metionina temos uma ampla faixa de variação de 1,17 a 2,98 gramas por cem gramas de proteína, uma avaliação que conforme JOHNSON & BERNARD (1963) permite o surgimento de variedades com níveis mais altos deste aminoácido.

O valor biológico (quadro I) mostra a existência de variedades com altos CEP no território nacional.

Em nosso trabalho podemos verificar que as variedades nomeadas inicialmente pela letra L, como a L-2006, apresentam altos valores biológicos, bem como níveis altos de metionina. Podemos supor que as variedades de nomeação L apresentam a característica de altos níveis de metionina e devem ser estudadas com maiores detalhes.

Níveis de inibidores (quadro I) quando ativos atuam negativamente na digestibilidade dos alimentos (LIENER, 1976) e daí a necessidade de sua inativação pelo calor tornando possível o aproveitamento metabólico de tais moléculas, bem como aumentando a digestibilidade total da fração proteica. Sem dúvida que o tratamento pelo calor inativa tais moléculas, mas sendo os processos passíveis de falhas torna-se necessário que sabendo-se da existência destes peptídeos sejam eles geneticamente eliminados conforme observações de HYMOWITZ (1973) e HYMOWITZ & HADLEY (1972).

QUADRO I - Resultados de dados químicos-bioquímicos e de avaliações biológicas de variedades de soja cultivadas na área da Alta Mogiana - Estado de São Paulo.

Variedade	Proteína	Matéria seca	Metionina	Meia Cistina	UTI*	UQI**		CEP***
						grama aminoácido/100gr de proteína	ml extrato aquoso	
Hardee	38,31	92,36	1,65	2,02	30,3	6,2	1,60	
Davis	34,19	93,19	1,90	2,19	48,9	14,7	2,32	
Viçosa	38,81	92,83	1,89	2,02	38,0	28,1	2,16	
F-61-2926	39,44	92,10	1,91	2,23	42,7	12,8	2,27	
L-652-8	36,88	92,38	2,41	2,17	31,4	9,5	2,08	
L-652-3	40,38	92,09	1,92	1,65	38,4	10,2	2,16	
Mineira	41,25	92,24	1,66	1,26	44,8	0,6	1,83	
L-2006	38,12	91,81	2,98	3,00	47,2	17,9	2,88	
Pelicano	39,38	92,58	2,08	1,97	32,5	17,1	2,03	
la-6191	38,75	92,14	1,74	1,69	55,8	16,9	2,54	
Santa Rosa	38,44	92,07	2,17	1,52	40,5	13,4	2,57	
Industrial	38,75	92,18	1,12	1,27	36,0	18,7	2,49	

* Unidade de tripsina inibida

** Unidade de quimiotripsina inibida

*** Coeficiente de eficácia protéica

Observamos que uma de nossas variedades praticamente não possui inibidor quimiotróptico; provavelmente poderão existir outras sem inibidores trópticos, e assim devem ser extensivamente procuradas.

Análise de variância do valor biológico (CEP) indica uma diferença significativa ($P < 0,01$) entre os valores observados para as variedades estudadas (quadro II).

A aplicação do teste de Tukey mostra que entre as variedades estudadas, a L-2006, a Santa Rosa, Ia-6191 e a Industrial se destacam das demais quanto ao valor nutricional.

QUADRO II - Análise de variância dos coeficientes de eficácia proteica das variedades estudadas.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.	Significância*
Tratamento	12	10,78	0,89	7,03	$p < 0,01$
Resíduo	64	8,19	0,13		
TOTAL	76	18,97			

* Nível de 5%.

Visto procurarmos obter uma visão de dados químicos, bioquímicos em relação ao valor nutricional procuramos obter correlação entre estes dados (quadro III). Os dados químicos (níveis de aminoácidos, proteínas, níveis de inibidores) apresentam baixa correlação com valores biológicos.

QUADRO III - Correlação do CEP com níveis de aminoácidos sulfurados e com enxofre-aminoacídico.

r*	t	Correlação	Considerada
0,3876	1,3298	CEP Vs. metionina	
0,2853	0,9413	CEP Vs. meia cistina	
0,3550	1,2009	CEP Vs. metionina + meia cistina	
0,3865	1,3253	CEP Vs. S – metionina	
0,2849	0,9399	CEP Vs. S – meia cistina	
0,3483	1,1749	CEP Vs. S (metionina + meia cistina)	

A proposição inicial deste trabalho foi de conhecer características bromatológicas de variedades de soja cujos resultados possam ser usados como subsídios aos trabalhos de melhoramento genético.

O valor biológico (CEP) destaca-se como item mais importante dos que foram estudados.

O nível de metionina não apresenta uma correlação alta com valor biológico, entretanto algumas variedades com altos níveis deste aminoácido também apresentam altos CEP. Como observado por SHORROCK (1976) após autoclavagem toda a metionina é possível de uso metabólico. Se altos CEP nem sempre são observados provavelmente algum fator está influenciando.

É possível que outros parâmetros também sejam úteis para estudos desta natureza como a determinação da digestibilidade «in vitro»; o uso de técnicas microbiológicas para a determinação do valor biológico: eletroforese em gel de amido, de poliacrilamida. Um conhecimento mais detalhado das proteínas de modo que no futuro, conforme observação de POMERANZ & col. (1976) possamos ter a alteração do perfil do aminograma, isto é, o aumento das proteínas mais interessantes sob aspecto nutricional em detrimento daquelas menos úteis.

Sem dúvida que dados laboratoriais orientam no desenvolvimento de variedades melhoradas. Portanto o desenvolvimento de boas linhagens e variedades nacionais de soja melhoradas sob aspecto nutricional é basicamente um problema de bioquímica. Como observado por SMARTT & col. (1975) resolvidos os problemas químicos e bioquímicos nutricionais, o problema genético será de fácil solução.

SUMÁRIO E CONCLUSÃO

Dados químicos e bioquímicos de variedades de soja foram obtidos e comparados com respectivos valores biológicos.

Os parâmetros usados foram: determinação do teor proteico, níveis de metionina, de cistina, de inibidores proteolíticos e valores biológicos (CEP).

Salientamos que nem sempre observamos boas correlações dos dados químico-bioquímicos com valores biológicos. Porém, consideramos fundamental a realização dos ensaios biológicos.

SUMMARY

Chemical and biochemical data of twelve varieties of soybean were compared with respective biological assays.

Content of protein, levels of methionine, cysteine, proteolytic inhibitors were compared with protein efficiency ratio (PER).

Low correlations between chemical-biochemical data with biological values were observed.

We consider as fundamental to do biological assays.

AGRADECIMENTOS

Queremos agradecer ao Dr. Alfredo Lam-Sanchez, da Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia de Jaboticabal, pela gentileza em fornecer as amostras usadas neste experimento.

LITERATURA CITADA

- BAJAJ, S., O. MICKELSEN, L.R. BAKER & D. MARKARIAN, 1971. The quality of protein in various lines of peas. **Brit. J. Nutr.** 25: 207-212.
- CAMPBELL, J.A., 1963. **Methodology of protein evaluation**, Beirut, American University of Beirut.
- FONTES, L.G., J.A. FILHO & C.S. SEDIYAMA, 1974. Conteúdo de óleo e proteínas nos grãos de algumas linhagens e variedades de soja. **Revista Ceres** 21: 500-505.
- HUGLI, T.E. & S. MOORE, 1972. Determination of the tryptophan content of proteins by ion exchange chromatography of alkaline hydrolysates. **J. Biol. Chem.** 247: 2828-2834.
- HYMOWITZ, T., 1973. Electrophoretic analysis of SBTI-A₂ in the USDA soybean germplasm collection. **Crop Sci.** 13: 420-421.
- HYMOWITZ, T. & H.H. HADLEY, 1972. Inheritance of a trypsin inhibitor variant in seed protein of soybeans. **Crop Sci.** 12: 197-198.
- JOHNSON, H.W. & R.L. BERNARD, 1963. Soybean genetics and breeding. In: NORMAN, A.G. **The soybeans, breeding, physiology, nutrition, management**. New York, Academic Press.
- KAKADE, M.L., N.R. SIMONS & I.E. LIENER, 1969. An evaluation of natural Vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. **Cereal Chem.** 46: 518-526.
- KAKADE, M.L., D.H. SWENSON & I.E. LIENER, 1970. Note on the determination of chymotrypsin and chymotrypsin activity using casein. **Anal Biochem** 35: 255-258.

- LAM-SANCHEZ, A. & J.E. DUTRA DE OLIVEIRA, 1972. **Melhoramento da cultura de soja. Relatório Final do Programa Bienal de Pesquisas sobre Alimentação Humana.** Apresentado ao FUNTEC-BNDE pelo prof. J.E. Dutra de Oliveira. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.
- LIENER, I.E. & M.L. KAKADE, 1969. Protease inhibitors in LIENER, I.E. **Toxic constituents of plant foodstuffs**, New York - Academic Press.
- MERTZ, E.T., L.S. BATES & O.E. NELSON, 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. **Science** 145: 249-280.
- MOORE, S., 1963. On the determination of cystine as cysteic acid. **J. Biol. Chem.** 238: 235-237.
- MOORE, S. & W.H. STEIN, 1951. Chromatography of amino acids on sulphonated polytyrene resins. **J. Biol. Chem.** 192: 663-681.
- POMERANZ, Y., G.S. ROBBINS & J.T. GILBERTSON, 1976. Protein content and amino acid composition of tissue components in developing barley. **J. Food. Sci.**, 41: 238-285.
- PORTELA, F., 1977. Bases bioquímicas para o melhoramento de variedades de soja, *Glycine max* (L) Merrill. Tese de Doutorado, Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.
- SHORROCK, C., 1976. An improved procedure for the assay of available lysine and methionine in feedstuffs using *Tetrahymena pyriformis* W. **Brit. J. Nutr.** 35: 334-341.
- SILVA, E.R., 1970. Comportamento de variedades de soja, *Glycine max* (L) Merrill, em algumas localidades de Minas Gerais, Tese de Mestrado, Depto. de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa.
- SMARTT, J., P.J. WINFIELD & D.A. WILLIAMS, 1975. Strategy for the improvement of protein quality in pulses by breeding. **Euphytica** 24: 447-451.
- SPIES, R. & D.C. CHAMBERS, 1949. Chemical determination of tryptophan in proteins. **Anal. Chem.**, 21: 1266.