UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES

URI - ERECHIM

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

KELI CRISTINA CANTELLI

CARACTERIZAÇÃO DE LINHAGENS DE SOJA *Glycine max* (L.) Merrill PARA PRODUÇÃO DE BROTOS

ERECHIM, RS - BRASIL

MARÇO DE 2016

CARACTERIZAÇÃO DE LINHAGENS DE SOJA *Glycine max* (L.) Merrill PARA PRODUÇÃO DE BROTOS

KELI CRISTINA CANTELLI

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós- Graduação em Engenharia de Alimentos da URI - Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim.

Orientadoras: Dr[a]. Juliana Steffens
Dr[a]. Clarice Steffens
Dr[a]. Mercedes C. Carrão-Panizzi

ERECHIM, RS - BRASIL

MARÇO DE 2016

CARACTERIZAÇÃO DE LINHAGENS DE SOJA *Glycine max* (L.) Merrill PARA PRODUÇÃO DE BROTOS

Keli Cristina Cantelli

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI - Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim.

Comissão Julgadora

_____

Profª Clarice Steffens, D. Sc.
(Orientadora)

_____

Profª. Juliana Steffens, D. Sc.
(Orientadora)

_____

Pesquisadora. Mercedes C. Carrão-Panizzi, D. Sc.
(Orientadora)

_____

Marcelo Alvares de Oliveira, D. Sc.
(Embrapa Soja- Londrina)

_____

Jamile Zeni, D. Sc.
(URI- Erechim)

Erechim, Março de 2016

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por me abençoar e caminhar sempre comigo, nunca me deixando desistir.

Em especial, aos meus pais Dejair e Geraldo e meus irmãos, Éder e Joel pelo amor e apoio depositado em mim.

Às professoras Juliana Steffens e Clarice Steffens muito obrigada pela orientação e contribuição para o enriquecimento deste estudo.

A pesquisadora Mercedes C. Carrão-Panizzi, pela orientação, diponibilidade, confiança e apoio na realização deste trabalho.

Ao Marcelo e Rodrigo da Embrapa Soja, pela atenção e pelos ensinamentos.

As amigas Aline, Adriana, Jéssica e Vanessa obrigada por estarem sempre ao meu lado, pela amizade, pelo apoio e pelas diversas vezes que me ajudaram. Cats vocês ficarão para sempre em meu coração.

Agradeço aqueles que me ajudaram direta ou indiretamente: Sandi, Rose, Vera, Débora, Marci e Ju, que sempre estiveram à disposição para qualquer dúvida.

A Embrapa trigo, por ter fornecido a matéria-prima deste estudo.

Agradeço aos funcionários da central de materiais e prestação de serviço do prédio 9, pelos ensinamentos e compreensão nos dias de experimentação e pela amizade.

Aos colegas de mestrado pela amizade, apoio e incentivo na realização deste trabalho.

E por fim, a URI, CAPES, CNPq, Embrapa Trigo, Embrapa Soja pelos auxílios concedidos.

“Oportunidades se apresentam quando você tem coragem de abandonar a segurança do conhecido para explorar o desconhecido”.

Stephen Hawking

Resumo da dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

CARACTERIZAÇÃO DE LINHAGENS DE SOJA *Glycine max* (L.) Merrill PARA PRODUÇÃO DE BROTOS

Keli Cristina Cantelli
Março/2016

Orientadores: Dra. Juliana Steffens
Dra. Clarice Steffens
Dra. Mercedes C. Carrão-Panizzi

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma oleaginosa de importância comercial e nutricional. O seu consumo na alimentação humana tem sido incentivado pela diversidade de produtos a base de soja e por apresentar uma série de benefícios potenciais para a saúde. Porém, seus produtos ainda sofrem restrições por parte dos consumidores, devido ao seu sabor característico e presença de fatores antinutricionais. Uma alternativa de uso da soja na alimentação humana é o seu consumo como brotos, os quais são alimentos saudáveis e nutritivos. Para a produção de brotos de soja, são necessárias cultivares especiais que apresentem sementes pequenas como principal característica. Esse trabalho teve como objetivo a produção e caracterização de brotos de soja a partir da cultivar BRS 216 (desenvolvida para esse tipo de produto) e de linhagens (A, B e C) provenientes do programa de melhoramento genético da Embrapa. A germinação dos grãos de soja foi avaliada antes da produção de brotos. Os brotos foram produzidos em câmara com temperatura controlada de 25°C, umidade relativa de aproximadamente 99% e dispostos em bandejas. Tanto os grãos como os brotos foram caracterizados em relação a umidade, proteínas, lipídeos, cinzas, isoflavonas, inibidor de tripsina Kunitz e ácido fítico, nos brotos também foram determinados o peso e comprimento. Quanto ao poder germinativo dos grãos, a linhagem A apresentou maior porcentagem de germinação (95 %), seguida pela cultivar BRS 216 (93 %), linhagem C (89 %) e linhagem B (87 %). Com a germinação dos grãos os teores de proteínas e isoflavonas aumentaram, em média de 8,96 % e 34,56 %, respectivamente, e os fatores antinutricionais reduziram em média 26,91 % o teor de inibidor d tripsina Kunitz e 13,78 % no teor de ácido fítico. A cultivar BRS 216 apresentou o maior teor de proteína nos grãos (41,96 $g.100g^{-1}$) e nos brotos (47,70 $g.100g^{-1}$). A linhagem A apresentou maior teor de inibidor de tripsina nos grãos (27,56 mg $IT.g^{-1}$) e nos brotos (19,62 mg $IT.g^{-1}$), porém apresentou menor teor de ácido fítico nos brotos (1,13 $g.100g^{-1}$). Essa linhagem também apresentou maior concentração de isoflavonas totais, nos grãos e nos brotos (340,10 e 406,38 $mg.100g^{-1}$, respectivamente). O menor teor de isoflavonas totais foi observado na linhagem B (119,11 $mg.100g^{-1}$ nos grãos e 153,07 $mg.100g^{-1}$ nos brotos). Quanto ao peso e comprimento, dos brotos após quatro dias de germinação, destacaram-se a linhagem A (8,03 cm e 214,36 g) e a cultivar BRS 216 (7,31 cm e 140,93 g), respectivamente. Esses resultados mostram que a linhagem A, comparada com a cultivar BRS 216, desenvolvida pela Embrapa apresenta potencial para produção de brotos e como uma alternativa para os consumidores.

Palavras-chave: Brotos de soja. Composição físico-química. Inibidor de tripsina Kunitz. Isoflavonas.

Abstract of Dissertation presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Food Engineering.

CHARACTERISATION OF SOYBEAN BREEDING LINES (*Glycine Max* (L.) Merrill FOR THE PRODUCTION OF SPROUTS

Keli Cristina Cantelli
March/2015

Advirsors: Dra. Juliana Steffens
Dra. Clarice Steffens
Dra. Mercedes C. Carrão-Panizzi

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is a crop of commercial and nutritional importance. Its use as human food has been encouraged by the diversity of soy products and provide potential health benefits. However, their products still suffer restrictions by consumers because the distinctive taste and presence of anti-nutritional factors. An alternative, is the use of soybean as food, consume it as sprouts, which are healthy and nutritious. For production of soybean sprouts are necessary special cultivars that must have small seed size, as its main characteristic. This study aimed the production and characterization of soybean sprouts from cultivar BRS 216 (developed for this type of product) and the breeding lines A, B and C from the Embrapa´s breeding program. The germination vigor of the seeds was determined in 100 seeds. The sprouts were produced in trays, in temperature of 25 °C in a controlled chamber, relative humidity of approximately 99%. Soybean grains and sprouts were characterized for moisture, proteins, lipids, ash, isoflavones, Kunitz trypsin inhibitor and phytic acid, the weight and length of sprouts, were also measured. Grains of Line A presented the highest germination vigor (95%), followed by BRS 216 (93%), line C (89%) and line B (87%). With the germination process, protein and the isoflavones content increased in average, 8.96% and 34.56%, respectively, and the antinutritional factors were reduced in 26,91% average activity of the Kunitz trypsin inhibitor and 13,78% in the phytic acid content. The cultivar BRS 216 presented the highest protein content in grains (41,96 $g.100g^{-1}$) and in sprouts (47,70 $g.100g^{-1}$). The line A showed higher content of trypsin inhibitor in grains (27,56 mg $IT.g^{-1}$) and in sprouts (19,62 mg $IT.g^{-1}$), however it showed lower content of phytic acid in sprouts (1,13 $g.100g^{-1}$). This line also showed a higher concentration of total isoflavones in grains and in sprouts (340.10 and 406,38 $mg.100\ g^{-1}$, respectively). The lower content of total isoflavones was observed in line B (119,11 $mg.100\ g^{-1}$ in the grains and 153,07 $mg.100\ g^{-1}$ in the sprouts). The weight and length of the sprouts, after four days of germination, were higher for line A (8,03 cm and 214,36 g) and for cultivar BRS 216 (7,31 cm and 140,93 g), respectively. These results show that the lineage A, compared with BRS 216, developed by Embrapa has the potential to produce buds and as an alternative for consumers.

Keywords: Soybean sprouts. Physical and chemical composition. Kunitz trypsin inhibitor. Isoflavones.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14

2 OBJETIVOS 16

2.1 OBJETIVO GERAL 16

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 16

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 17

3.1 ASPECTOS GERAIS DA SOJA 17

3.2 GERMINAÇÃO DE SEMENTES 20

3.2.1 Brotos de soja 21

3.3 COMPOSIÇÃO DE GRÃOS E BROTOS DE SOJA 23

3.3.1 Composição físico-química 23

3.3.2 Teor de Isoflavonas 24

3.3.3 Fatores antinutricionais 26

3.3.3.1 Inibidor de tripsina 26

3.3.3.2 Ácido fítico 27

3.4 ESTADO DA ARTE 28

4 MATERIAL E MÉTODOS 30

4.1 MATERIAL 30

4.2 ANÁLISES 30

4.2.1 Análise da qualidade dos grãos 31

4.2.2 Composição físico-química 31

4.2.3 Determinação e quantificação das isoflavonas 32

4.3.4 Quantificação do inibidor de tripsina Kunitz 33

4.3.5 Extração e quantificação cromatográfica de troca iônica para ácido fítico 34

4.3 PARÂMETROS PARA A PRODUÇÃO DOS BROTOS 35

4.4.1 Peso e comprimento 38

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA 38

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 39

5.1 QUALIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DOS GRÃOS DE SOJA 39

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS GRÃOS E BROTOS 40

5.2.1 Peso e comprimento dos brotos 40

5.3 ANÁLISE DOS GRÃOS E BROTOS DE SOJA 44
5.3.1 Análises físico-químicas 44
6 CONCLUSÕES..... 51
6.1 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS..... 53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura típica de uma semente de leguminosa 18

Figura 2. Estimativa de produção total de grãos por cultura: trigo, feijão, algodão em caroço, milho, soja, demais produtos. 19

Figura 3. Fluxograma da produção de brotos de soja..... 37

Figura 4. Tamanho dos grãos de soja, (1) Linhagem A, (2) cultivar BRS 216, (3) Linhagem B e (4) Linhagem C..... 40

Figura 5. Desenvolvimento dos grãos de soja durante a germinação por 4 dias, (1) Linhagem A, (2) cultivar BRS 216, (3) Linhagem B e (4) Linhagem C. 42

Figura 6.Tamanho dos brotos de soja após 4 dias de germinação, (1) Linhagem A, (2) cultivar BRS 216, (3) Linhagem B e (4) Linhagem C. 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estrutura química das 12 isoflavonas presentes na soja. 25

Tabela 2. Poder germinativo e peso de 100 grãos da cultivar BRS 216 e das Linhagens de soja, A, B e C. 39

Tabela 3. Peso e comprimento de brotos viáveis de soja da cultivar BRS 216 e das Linhagens A, B e C.....41

Tabela 4. Teores de proteína, cinzas e lipídeos dos grãos e brotos da cultivar BRS 216 e Linhagens A, B e C. 44

Tabela 5. Teor do inibidor de tripsina Kunitz e de ácido fítico dos grãos e brotos da cultivar BRS 216 e nas Linhagens A, B e C. 46

Tabela 6. Teor de isoflavonas (mg.100g-1) nos grãos e nos brotos das cultivar BRS 216 e nas linhagens de soja A, B e C. 48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF – Ácido Fítico

A.O.A.C – Association of Official Analytical Chemists

BBI- Bowman-Birk

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

HPLC – High performance liquid chromatography

IKT– Inibidor de Tripsina Kunitz

PCS - Peso de cem sementes

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo, perdendo apenas para os Estados Unidos. A soja é umas das mais importantes *commodities* brasileira, com crescimento constante. Na safra 2013/14 foram colhidas 86.120,8 milhões de toneladas do grão, já na safra (2014/15) a produção foi de 96.222,1 milhões de toneladas de grão, representando um incremento de 11,7% em relação ao montante produzido no ano de 2014 (CONAB, 2015).

A soja é um grão muito versátil quanto ao uso, dando origem a produtos e co-produtos muito usados pela agroindústria, indústria química, alimentos e biocombustíveis (SILVA et al., 2006; CONAB, 2009). O consumo de soja como alimento para população tem aumentado devido aos benefícios para a saúde, por possuir alta qualidade proteica, e isoflavonas (CARRÃO-PANIZZI; SILVA, 2011) e também devido ao melhoramento genético dos cultivares que proporcionam características diferenciais (CARRÃO-PANIZZI et al., 2012).

Dependendo das características do grão da soja, o mesmo pode ser utilizado para diferentes finalidades, sendo que a soja pode ser classificada em dois grupos principais: soja tipo grão e soja tipo alimento. A soja tipo grão apresenta sementes de tamanhos médios, com peso de 100 sementes (PCS) entre 12 e 19 g, utilizada principalmente para atender às indústrias de farelo e óleo, devido a seu sabor característico não é muito agradável ao paladar humano. A soja tipo alimento apresenta sabor mais suave e agradável ao paladar humano, está dividida em: sementes grandes, com PCS igual ou maior do que 20 g, destinada como soja hortaliça, e sementes pequenas, com PCS menor do que 10 g, utilizadas para produção de brotos e de *natto* (YOKOMIZO et al., 2000).

Os brotos de soja são altamente nutritivos, são produzidos sem agroquímicos, sendo, portanto alimentos naturais. Utilizam as reservas armazenadas na semente para germinarem até o tamanho para serem consumidos. Apresentam altos teores de minerais, vitaminas e proteínas, e baixos teores calóricos (VIEIRA; LOPES, 2001).

Os brotos são obtidos de grãos germinados pelo estimulo do contato com a água, ar e calor, os quais crescem, formando caule e folhas. Segundo Vieira; Lopes (2001) e

Lima (2006), o processo de germinação apresenta várias vantagens, entre elas ocupam pouco espaço, pois é feita em bandejas, ou em recipientes que contenham furos para escoar a água excedente; não necessita luz solar direta; são produzidos em pouco tempo, com até seis dias colhem-se brotos com tamanho adequado ao consumo; o rendimento é compensatório; pode ser realizada a qualquer época do ano sem a necessidade de solos, fertilizantes ou agrotóxicos; utiliza-se mão de obra simplificada e não requer região específica para produzir os brotos. Os grãos devem ser de qualidade, apresentarem alta pureza física e não estarem contaminados com grãos de outras espécies. Para garantir a qualidade dos brotos são necessários grãos com alto vigor de germinação.

Com a germinação dos grãos é proporcionada uma redução dos fatores antinutricionais, como os inibidores de tripsina e ácido fítico e aumento da digestibilidade proteica dos mesmos, além de aumentar a atividade da enzima fitase, disponibilidade de minerais e vitaminas, principalmente vitamina C (BAU; DEBRY, 1979).

Ainda é muito restrita a produção de brotos no Brasil, pois são necessárias tecnologias que proporcionem uma produção de qualidade, bem como cultivares de soja com características especificas para este fim. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a cultivar BRS 216 e as linhagens A, B e C de soja, para a obtenção de brotos e analisar suas características físico-químicas, teor de isoflavonas, atividade de inibidor de tripsina e ácido fítico.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo geral produzir brotos de soja e caracterizar físico-quimicamente os grãos e os brotos da cultivar BRS 216 e de linhagens do programa de melhoramento da Embrapa, linhagens A, B e C.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a qualidade física e fisiológica dos grãos da cultivar BRS 216 e das linhagens A, B e C:
  - Determinar o peso de 100 grãos;
  - Avaliar o poder germinativo dos grãos.

- Caracterizar os grãos de soja da cultivar BRS 216 e das linhagens A, B e C:
  - Determinar o teor de umidade, cinzas, lipídeos e proteína bruta;
  - Determinar o teor das diferentes formas de isoflavonas;
  - Quantificar o inibidor de trispina Kunitz;
  - Verificar o teor de ácido fítico;

- Produzir brotos de soja da cultivar BRS 216 e das linhagens A, B e C.

- Caracterizar os brotos de soja:
  - Verificar comprimento e peso dos brotos viáveis;
  - Analisar o teor de umidade, cinzas, lipídeos, proteína bruta;
  - Determinar o teor das diferentes formas de isoflavonas;
  - Quantificar o inibidor de trispina Kunitz;
  - Verificar o teor de ácido fítico.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste item será apresentado um referencial teórico abordando a origem da soja, formas de comercialização, sua importância na alimentação humana, também sobre a melhoria nas cultivares de soja, tornando-as mais adequadas para o consumo humano e uso em diferentes produções, bem como a germinação de sementes, as vantagens e melhoria na qualidade nutricional.

3.1 ASPECTOS GERAIS DA SOJA

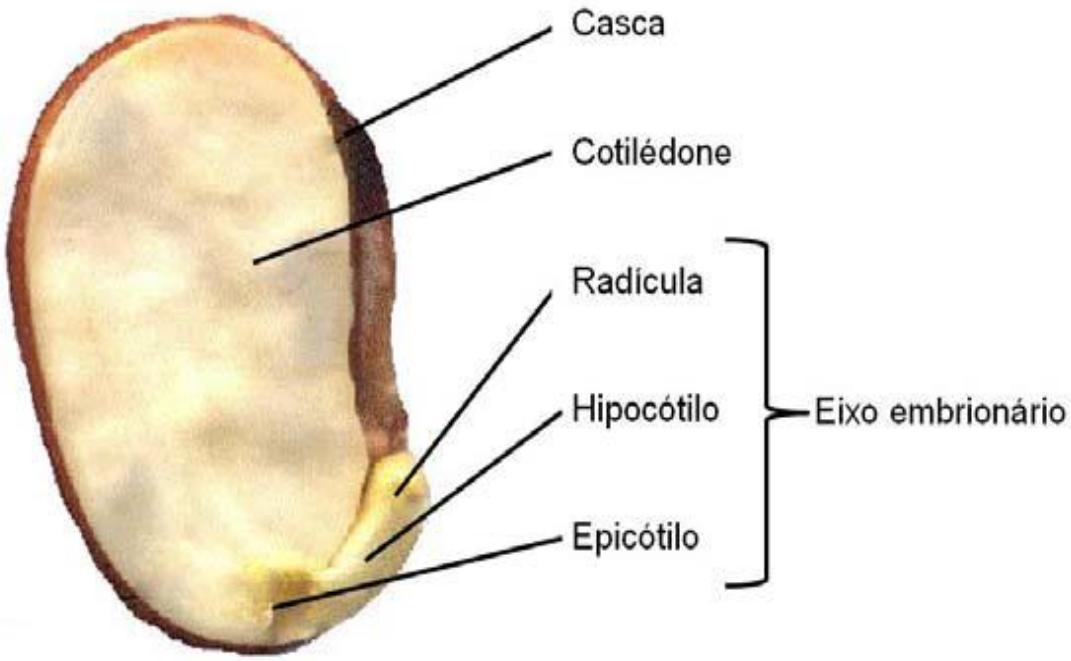
A soja teve origem no Continente Asiático na região da antiga Manchúria, localizada na China. Foi plantada há pelo menos cinco mil anos, sendo uma das culturas mais antigas. Espalhou-se pelo mundo através dos viajantes ingleses e por imigrantes japoneses e chineses. O desenvolvimento da soja no Brasil iniciou-se na Bahia, em 1882, porém não teve êxito devido às condições de baixa latitude daquela região. Uma década mais tarde novos testes foram realizados em São Paulo, onde a produção de grãos teve êxito , e assim a soja foi sendo introduzida nos demais estados, sendo que no Rio Grande do Sul foi introduzida por volta de 1914, na cidade de Santa Rosa e tem grande importância até os dias atuais (EMBRAPA, 2005; PAIVA, et al., 2006).

A soja pertence à família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoidae* e o gênero *Glycyne, L*. A forma cultivada *Glycine max* (L.) Merrill, cresce anualmente e é uma das culturas de maior importância econômica no mundo (VILLALVA, 2008). A soja é uma planta anual, herbácea, ereta, apresentando variabilidade para as características morfológicas, que ainda podem ser influenciadas pelo ambiente, como a altura que pode variar de 30 a 200 cm, apresentando mais ou menos ramificações. Quanto ao ciclo, pode variar de 75 dias, para as mais precoces e 200 dias para as mais tardias (SEDIYAMA, 2009).

A semente de leguminosa apresenta aparência típica da semente de soja (Figura 1). É composta por um embrião bem desenvolvido e pela casca. O embrião apresenta dois cotilédones e o eixo embrionário, o qual pode ainda ser subdividido em radícula, hipocótilo e epicótilo.

A função dos cotilédones é armazenar substâncias de reserva. As partes do eixo embrionário são difíceis de serem diferenciadas, por isso frequentemente o conjunto radícula, hipocótilo e epicótilo é chamado de eixo embrionário radícula-hipocótilo ou eixo embrionário (FILHO, 2005).

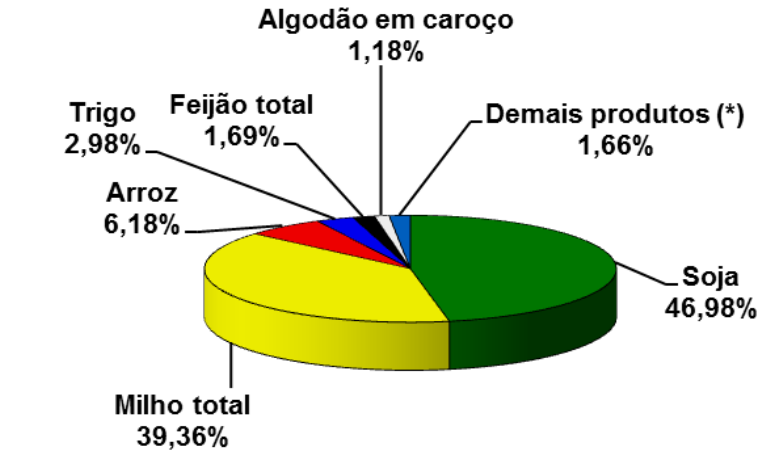
Figura 1. Estrutura típica de uma semente de leguminosa.



Fonte: Adaptado de Tnau Agritech Portal (2012)

A produção de grãos no Brasil atualmente é estimada em 200,68 milhões de toneladas é 3,6% superior à obtida na safra 2013/14, quando atingiu 193,62 milhões de toneladas. Esse resultado representa um aumento de 7,06 milhões de toneladas, sendo que a soja representa 46,98% da produção grãos no país conforme dados apresentados no Figura 2 (CONAB, 2015). Sendo assim a soja representa aproximadamente a metade da produção de grãos do país.

Figura 2. Estimativa de produção total de grãos por cultura: trigo, feijão, algodão em caroço, milho, soja e demais produtos.



:

Fonte: CONAB, (2015).

Segundo o levantamento de produção de soja realizado pela CONAB, dentre os estados brasileiros com maior produção de soja tem-se em primeiro lugar o Mato Grosso com 28.133,8 mil ton, seguido pelo Paraná com 17.147,0 mil ton e o Rio Grande do Sul com 14.787,4 mil ton (CONAB, 2015).

A maior parte da soja produzida, em torno de 85% é utilizada para obtenção do óleo vegetal e farelo de soja, onde o farelo é usado principalmente para alimentação animal. Aproximadamente 3% da soja produzida mundialmente é usada diretamente para a alimentação humana e 5% são usados para outras finalidades como sementes, alimentação animal ou, ainda é desperdiçado (RIAZ, 2006; PERINI, 2012; EMBRAPA, 2015).

A soja por ser classificada em tipo grão e tipo alimento. A soja tipo grão tem sido cultivada, no Brasil, principalmente para atender às indústrias brasileira e estrangeira de farelo e óleo, possuindo sementes de tamanhos médios, onde o peso de 100 sementes é de 12 a 19 g; e, quando consumida diretamente o seu sabor característico não é muito agradável ao paladar humano. Os maiores obstáculo ao

consumo de soja são os *off flavors*, sabor característico da soja, causado pela lipoxigenase e os fatores antinutricionais, como por exemplo, o inibidor de tripsina Kunitz, que são capazes de impedir a ação de algumas enzimas digestivas de animais monogástricos e humanos (BARROS et al., 2008; MANDARINO, 2010). A soja tipo alimento, com sementes grandes, com peso de 100 sementes igual ou maior que 20 g é utilizada como hortaliça, e sementes pequenas, com peso de 100 sementes menor que 10 g, é destinado ao consumo na forma de brotos ou "natto" (VELLO, 1992; PERINI, 2012).

No Brasil existem mais de 300 cultivares de soja disponíveis, as quais apresentam diferentes características de produtividade, ciclo de produção, tamanho de grão, adaptação às mudanças climáticas regionais e presença de lipoxigenases, dentre outras. Visando atender a necessidade de produtos de soja com sabor mais agradável e com alto valor nutritivo a Embrapa Soja, por meio do seu programa de melhoramento genético, desenvolveu algumas cultivares que apresentam características especiais para o consumo humano, com sabor mais agradável e redução na atividade do inibidor de trispina Kunitz (CARRÃO-PANIZZI et al., 2009b, EMBRAPA 2015). Uma destas é a BRS 216, a qual possui sementes pequenas, onde a cada 100 sementes tem-se 10,4g, no entanto possui alto teor de proteína (43,6%), podendo ser utilizada para a produção de brotos (CARRÃO-PANIZZI et al. 2003a).

3.2 GERMINAÇÃO DE SEMENTES

A germinação é um processo biológico natural em que as sementes saem de seu estágio de latência. Em uma semente em repouso metabólico, para que ocorra a germinação da mesma, é necessário que se tenha temperatura ambiente desejável, segundo Borges; Rena (1993) a temperatura ótima para germinação de diferentes espécies de sementes está entre 20°C a 30°C. Também é importante o fornecimento adequado de água, oxigênio e luminosidade. Para alguns tipos de sementes, a germinação pode ser inibida pela luz, enquanto em outras, a germinação é promovida pela presença de luz (VILAS BOAS et al., 2002; SANGRONIS; MACHADO, 2007; LOURES et al., 2009).

A primeira etapa da germinação é a absorção de água pelo grão, ocorrendo a reidratação dos tecidos, o aumento da respiração e outras atividades metabólicas, que

culminam no fornecimento de energia e nutrientes necessários para o crescimento do eixo embrionário (PEREIRA, 2004).

Depois da germinação da semente (2 ou 3 dias), o gérmen começa a transformar a reserva nutritiva dormente em alimento vivo para ser assimilado pela nova planta. Após 5 a 7 dias, a semente já é um broto, apresentando raiz, haste e clorofila (FILHO, 2005).

A germinação é a fase mais completa de nutrientes no desenvolvimento vegetal, durante essa etapa ocorrem várias mudanças na composição do grão. As quais correspondem em suas características fisiológicas a um processo pré-digestivo pelo qual as proteínas são decompostas em aminoácidos, os carboidratos complexos em açúcares simples e as gorduras em ácidos graxos, ajudam na melhoria da qualidade nutricional, através da prevenção da oxidação lipídica, redução dos fatores antinutricionais, como inibidores de tripsina, lecitina e ácido fítico e provoca a hidrólise de oligossacarídeos do tipo estaquiose e rafinose (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; ZHU et al., 2005).

Os fatores como o genótipo, vitalidade, longevidade, viabilidade, maturidade e potencial fisiológico das sementes, podem influenciar a germinação, bem como a composição química e os constituintes bioquímicos (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

3.2.1 Brotos de soja

O consumo humano de sementes germinadas, os denominados “brotos”, é uma prática milenar no Oriente, bem difundido e apreciado na China, Japão e Coréia. Os chineses em busca de outras formas de consumo dessa leguminosa, gradualmente transformaram as sementes de soja, em várias formas de alimentos mais versáteis, saborosos e digestíveis, dentre eles estão, o tofu, molho (“shoyo”), pasta (miso) e brotos de soja (LIU, 2008). O aumento da demanda desse tipo de alimento é cada vez maior, devido ao interesse renovado da população pelos alimentos nutritivos e funcionais (KIM et al., 2005).

Brotos são alimentos riquíssimos nutricionalmente, leves e de fácil digestão, possíveis de serem produzidos rapidamente e que contribuem para a manutenção da saúde. Podem ser consumidos de várias formas: *in natura*, no preparo de saladas,

sanduíches ou em pratos refogados, sopas e assados (VIEIRA et al., 1992; BONGIOLO, 2008).

No Brasil, o feijão-mungo é a espécie mais utilizada para a produção de brotos, porém várias plantas podem ser usadas para essa finalidade, como olerícolas (brócolis, rabanete, cebola, mostarda, etc.), leguminosas (feijão moyashi, alfafa, soja, lentilha, etc.). A produção de brotos é rápida, cerca de 3 a 7 dias, e pode ser realizada em qualquer época do ano (VIEIRA; LOPES, 2001).

No início da germinação o processo pode ser completamente anaeróbico; no entanto, após o rompimento do tegumento pela radícula, a semente passa a realizar respiração aeróbica (RAVEN et al., 1992). Na germinação, ocorre a transformação do amido em açúcares simples por enzimas e as proteínas são degradadas a aminoácidos. Ocorre a mobilização dos nutrientes, e pode-se dizer que a germinação é como uma prédigestão, sem que ocorra perda de nutrientes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). A maior vitalidade de uma planta é na fase do broto, por isso tantos benefícios nutricionais. Nesta fase também ocorrem a redução de fatores antinutricionais como inibidores de tripsina e o teor de fitatos (BAU et al., 2000; VILAS BOAS et al., 2002). O processo de germinação da soja também promove a ativação da β-glicosidase, que pode aumentar o teor de isoflavonas agliconas (RIBEIRO et al., 2006).

Yoshiara et al. (2012) observaram diferenças entre o perfil de isoflavonas nas diferentes partes do grão, em soja da cultivar BSR 257 germinada por 168 h a 35 ºC e presença de luz natural. Para os hipocótilos e radículas, a máxima concentração de agliconas ocorreu após 72 h de germinação (0,55 mg g^{-1} e 1,53 mg g^{-1}, em base seca), já para os cotilédones, obteve-se a máxima concentração de agliconas (0,89 mg g^{-1}) após 120 h, e, para os epicótilos (0,96 mg g^{-1}), após 168 h de germinação.

Huang et al. (2014) observaram que, durante diferentes tempos de germinação, o teor de isoflavonas agliconas da soja aumentou de 3,10 mg g^{-1} para 3,99 mg g^{-1}. Após um dia de germinação, o conteúdo de agliconas aumentou 84% enquanto aumento de cerca de 147% foi encontrado na soja germinada por três dias.

Em relação ao grão de soja, o grão germinado (broto) apresenta maior conteúdo de umidade, proteínas e cinzas. Melhora também a digestibilidade e eficiência proteica, além de textura crocante e sabor diferenciado (MARTINEZ et al., 2011).

3.3 COMPOSIÇÃO DE GRÃOS E BROTOS DE SOJA

3.3.1 Composição físico-química

A soja pode ser considerada um alimento quase completo por conter na sua composição cerca de 40% de proteínas, 20% de lipídeos com alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados, 35% de carboidratos, teores consideráveis de vitaminas do complexo B e minerais como fósforo, zinco, magnésio e ferro (CARRÃO-PANIZZI, 2000; MORAES et al., 2006). Porém, essa composição pode variar devido às diferenças genéticas entre as cultivares de soja (SILVA, 2009; PAUCAR-MENACHO et al., 2010).

Ainda não foi verificada nenhuma fonte de proteína vegetal mais viável nutricionalmente que a soja, para a suplementação da cota proteica, deficitária em grande parte da população mundial (PAIVA et al., 2006). A soja é a leguminosa que possui maior conteúdo de proteína, em comparação com o feijão preto (21,3%), a ervilha em vagem (7,5%) e o amendoim (27,2%) (TACO, 2011).

Apresenta aminoácidos essenciais como a lisina (6,9%), leucina (5,1%), felanina (5,0%), treonina (4,3%) e, em menor quantidade, metionina, cistina e triptofano e não-essenciais como o ácido glutâmico (21%), ácido aspártico (12%) e, em menor quantidade, a arginina e a tirosina. Os carboidratos são o segundo componente mais abundante na soja e representam entre 30 e 35% dos componentes do grão (TONIOLO; MOSCA, 1991; MANDARINO et al., 2006).

Com a germinação ocorrem algumas mudanças significativas na composição centesimal em grãos de soja. Para Kumar et al. (1993) a germinação é a forma mais simples e econômica de melhorar o valor nutricional de grãos, além de reduzir os fatores antinutricionais e aumentar a digestibilidade. Segundo Ramadan (2012); Martinez et al. (2011); Ruzydi et al. (2011) há aumento do teor de proteína, vitaminas, minerais e fibras.

Oliveira et al. (2013) avaliando a cultivar BRS 216 em diferentes tempos de germinação (5, 6 e 7 dias), verificaram que com quatro horas e os sete dias de crescimento foram os parâmetros ideais para produção dos brotos de soja. Nessas

condições, obtiveram os teores mais elevados de proteínas e menores teores de inibidor de tripsina, 51,03 g.100 g^{-1} e 7,21mg. 100 g^{-1}, respectivamente.

3.3.2 Teor de Isoflavonas

A soja e os seus derivados estão sendo estudados devido não somente ao seu valor nutricional, mas também por suas propriedades funcionais na indústria alimentícia As isoflavonas, compostos fenólicos bioativos, destacam-se dentre os compostos existentes na soja. Estudos indicam que eles podem reduzir o risco de alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, osteoporose e diabetes (CIABOTTI et al., 2006; MANDARINO, 2010).

As isoflavonas que pertencem a uma classe conhecida como fitoestrógenos ou estrógenos vegetais que estão particularmente presentes em alimentos à base de soja (HE; CHEN, 2013). As isoflavonas têm efeito sobre as células, atuando na sua proliferação, crescimento e maturação e como tal, funcionam como reguladores importantes na manutenção da função do órgão. As isoflavonas também possuem propriedades antioxidantes, como a genisteína e daidzeína que protegem as células dos efeitos prejudiciais dos radicais livres, que promovem o envelhecimento (BROUNS, 2002).

As isoflavonas representam uma classe de compostos químicos conhecidos como fitoestrógenos, têm uma semelhança estrutural e funcional ao hormônio estrogênio humano. Sendo assim, as isoflavonas imitam os estrógenos, apresentando propriedades fisiológicas, com efeitos benéficos na saúde e na reposição hormonal. Também possuem atividade antifúngica, bactericida e antitumoral, ajudam a manter o coração saudável, ossos fortes, aliviam os sintomas pós-menopausa, auxiliam na diminuição do colesterol do sangue e no funcionamento do sistema imunológico reduzindo os fatores de risco de certos cânceres, tendo efeito protetor contra o desenvolvimento de câncer de mama e de próstata (AGUIAR, 2002; BROUNS, 2002; DONG et al., 2013; WADA et al., 2013).

As isoflavonas da soja e de seus produtos podem ser encontradas em quatro grupos e 12 formas distintas: agliconas (daidzeína, genisteína e gliciteína), β-glicosídeos (daidzina, genistina e glicitina), malonilglicosídeos (6”-O-malonildaidzina, 6”-O-

malonilgenistina e 6”-O-malonilglicitina) e acetilglicosídeos (6”-O-acetildaidzina, 6”-O-acetilgenistina e 6”-O-acetilglicitina) (Tabela 1) (WANG, 2000; LIU, 2004).

Tabela 1. Estrutura química das 12 isoflavonas presentes na soja.

Isoflavonas	R1	R2	R3
Genisteína	H	H	OH
Daidzeína	H	H	H
Gliciteína	H	OCH_3	H
Genistina	$C_6H_{11}O_6$	H	OH
Daidzina	$C_6H_{11}O_6$	H	H
Glicitina	$C_6H_{11}O_6$	OCH_3	H
Acetilgenistina	$C_6H_{11}O_6$ +$COCH_3$	H	OH
Acetildaidzina	$C_6H_{11}O_6$ +$COCH_3$	H	H
Acetilglicitina	$C_6H_{11}O_6$ +$COCH_3$	OCH_3	H
Malonilgenistina	$C_6H_{11}O_6$+$COCH_2COOH$	H	OH
Malonildaidzina	$C_6H_{11}O_6$+$COCH_2COOH$	H	H
Malonilglicitina	$C_6H_{11}O_6$+$COCH_2COOH$	OCH_3	H

Fonte: Adaptado de Rostagno; Palma; Barroso (2005).

O teor de isoflavonas dos alimentos a base de soja pode ser muito variável em função das características da matéria prima bem como de seu processamento. Sendo que a quantidade de isoflavonas na soja pode variar em função de diferenças genéticas entre as cultivares, a temperatura ambiental durante o desenvolvimento dos grãos, época de plantio e estocagem (CASSIDY et al., 2000; PINTO et al., 2005 CARRÃO-PANIZZI et al., 2009b).

Nos grãos de soja, dentre todas as isoflavonas presentes, os malonilglicosídeos estão presentes em maior quantidade, seguida dos β-glicosídeos, agliconas e acetilglicosídeos (HSIEH et al., 2005). Porém, quando a soja passa por algum processamento onde são utilizadas altas temperaturas e pressão, os malonilglicosídeos são convertidos em acetilglicosídeos e estes por sua vez em β- glicosídeos . E caso a soja for submetida a fermentação ou germinação, os β-glicosídeos podem ser convertidos em agliconas devido ao aumento da atividade da enzima β-glicosidase (CARRÃO-PANIZZI; BORDIGNON, 2000; ROSTAGNO et al., 2005; RIBEIRO et al., 2006; XU; CHANG, 2008).

3.3.3 Fatores antinutricionais

Fatores antinutricionais como inibidores de tripsina, ácido fítico, estão presentes em leguminosas, o que contribui com a diminuição do valor nutricional das suas proteínas e a disponibilidade dos nutrientes (RAMIREZ-CARDENAS, 2006; GENOVESE; LAJOLO, 2006).

Vários processos são aplicados na soja, com a finalidade de reduzir os problemas relacionados com os fatores antinutricionais, como maceração, uso da atmosfera controlada, trituração, tratamento enzimático, alta pressão isostática, tratamento térmico, entre outros (BENEVIDES et al., 2011). Segundo Ven et al. (2005) os fatores antinutricionais presentes em leguminosas são geralmente removidos por tratamento térmico. Porém, se for usado de forma inadequada, poderá ocasionar a redução do valor nutritivo. Para Barros et al. (2006) através do melhoramento genético também é possível reduzir os teores do inibidor de tripsina em soja.

Além dos processamentos citados, estudos vêm sendo realizados com a germinação de grãos. A germinação promove a diminuição dos fatores antinutricionais, como inibidores proteolíticos, lectinas e fitatos.Também hidrolisa os oligossacarídeos da soja, os quais causam flatulência (BAU et al., 2000; VILAS BOAS, 2002). Dentre os fatores antinutricionais encontrados na soja estão:

3.3.3.1 Inibidor de tripsina

Os inibidores de tripsina são os mais estudados por afetarem a digestibilidade das proteínas da soja, apresentando efeito negativo tanto na digestão da proteína como na perda de nitrogênio endógeno no íleo terminal, o que resulta na diminuição do coeficiente de digestibilidade aparente dos aminoácidos. Os principais inibidores que estão presentes na soja crua são: o inibidor de tripsina Kunitz (IKT) e o inibidor de tripsina e quimiotripsina Bowman-Birk (BBI) (FELIX; CANNIATTI-BRAZACA, 2008; BRUNE et al., 2010).

Em grãos de soja, o IKT é responsável por cerca de 80% da inibição da atividade tríptica (MONTEIRO et al., 2004). O tratamento térmico é bastante utilizado para eliminar a atividade dos inibidores de proteases em produtos de soja, porém esse

processo, além de ter um custo elevado, pode resultar na perda de aminoácidos essenciais, na alteração das propriedades da soja e ainda conservam cerca de 10-20% da atividade de inibição de tripsina, devido ao Bowman-Birk, que tem maior resistência ao aquecimento (JIAO et al., 1992; SIDDHURAJU et al., 2002).

Através do melhoramento genético é possível produzir grãos com baixos teores de inibidores de tripsina e oligossacarídeos, assim aumentando seu valor nutricional (BAKER et al., 2010). Kumar et al. (2006) observaram que ocorreu degradação dos inibidores de tripsina na soja germinada por 144 h a 25 ºC, sendo que a degradação aumentou quando a temperatura foi elevada a 35 ºC.

3.3.3.2 Ácido fítico

O ácido fítico encontra-se nas leguminosas na forma de ácido livre e forma um complexo com as proteínas e minerais presentes, especialmente os cátions de potássio, de magnésio, de cálcio, de ferro e de zinco, os quais não são prontamente absorvidos. Devido a sua ação quelante, o ácido fítico é considerado fator antinutricional, afetando a biodisponibilidade dos minerais e contribuindo para sua deficiência (LAZZARI, 2006; DEAK; JOHNSON, 2007).

O ácido fítico, também denominado mioinositol - 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexa-di-hidrogênio fosfato está amplamente distribuído em vegetais, sendo encontrado em altas concentrações em grãos e sementes de oleaginosas, no caso da soja, os teores variam entre 1 e 3 % do peso seco do grão (REDDY; SATHE, 2001; FEBLES et al., 2002). Representa a principal forma de armazenamento de fósforo (P) (de 50 a 70% do P total), acumulado durante a maturação e mobilizado para a germinação e crescimento da planta (LAZZARI, 2006).

Na estrutura do ácido fítico encontram-se 12 hidrogênios dissociáveis, apresentando assim alta capacidade quelante e antioxidante. Sua ação quelante de minerais está relacionada à deficiência de zinco e ferro em populações que se alimentam principalmente de fontes vegetais (WEAVER; KANNAN, 2002; FUKUJI, 2005). Também quando está na forma aniônica, pode ligar-se a minerais, proteínas e amido no trato digestivo, reduzindo a biodisponibilidade destes em legumes e cereais.

Por outro lado, alguns estudos vêm mostrando o seu valor benéfico, pode agir como antioxidante reduzindo a peroxidação de membranas e a formação de radicais

livres tem ação anticarcinogênica em vários tipos de câncer e reduz os níveis de colesterol (THOMPSON; ZHANG, 1991; REDDY; SATHE, 2001).

É fundamental conhecer os mecanismos de ação do ácido fítico e os teores presentes na soja e em seus derivados, para que assim, os efeitos benéficos possam sobrepor aos efeitos antinutricionais no organismo, afim de que os consumidores tenham garantias dos benefícios da sua inclusão na dieta (MOREIRA et al., 2012). Segundo Kumar et al. (2005), em uma concentração de ácido fítico considerada alta, acima de 10%, faz com que esse composto atue como substância antinutricional. E em casos em que as concentrações são mais baixas tem ação funcional.

Durante o processo de germinação o conteúdo de ácido fítico é reduzido, aumentando a qualidade nutricional, a biodisponibilidade de minerais e vitaminas, principalmente vitamina C (BRIGIDE; CANNIATTI-BRAZACA, 2006; LOURES et al., 2009).

3.4 ESTADO DA ARTE

A soja é a leguminosa mais plantada no mundo, sendo que se destaca devido a sua versatilidade quanto ao uso, desde produção de biodiesel, fabrico de farelo para consumo animal e até mesmo nas indústrias alimentícias e farmacêuticas devido a associação aos benefícios a saúde humana. Apesar da soja possuir um sabor adstringente e fatores antinutricionais, o que muitas vezes prejudicava o consumo humano, hoje através do melhoramento genético, isso e muitas outras propriedades da soja tem sido melhoradas, tornando-a assim cada vez mais apropriada para o uso em produtos alimentícios. Buscando atender as necessidades humanas, por alimentos com melhor qualidade nutricional e sensorial, a germinação dos grãos é um processo biológico natural complexo que pode ser utilizado na soja, visando um alimento saudável, livre de agrotóxicos e atrativo devido a praticidade para ser consumido, podendo ser obtido em cerca de 3 a 7 dias.

O consumo de brotos de soja vem aumentando a cada dia, por serem alimentos totalmente naturais, apresentarem alto teor proteico e melhor disgestibilidade, por reduzir os fatores antinutricionais, como inibidor de tripsina Kunitz e por poderem ser consumidos tanto *in natura*, saladas, conservas, refogados ou até mesmo em sanduíches, proporcionando assim uma alimentação saudável e benéfica a saúde. Estudos com

cultivares de soja adaptadas para produção de brotos (com grãos menores e características como reduzido inibidor de tripsina e com ausência de lipoxigenase) e técnicas de processamento que garantam a segurança alimentar do produto tem sido realizados, para assim, viabilizar a sua comercialização.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Foram utilizadas sementes de soja (*Glycine max (L.)* Merrill) da cultivar BRS 216 e 3 linhagens do programa de melhoramento genético da Embrapa da safra 2014/2015. As sementes foram cedidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (Embrapa Trigo), Passo Fundo/RS. A cultivar de soja BRS 216 possui características apropriadas para a produção de brotos, em função do seu tamanho (10,4 g em peso de 100 sementes) e elevado conteúdo proteico (43,6%) (CARRÃO-PANIZZI et al., 2003b).

4.2 ANÁLISES

Primeiramente realizou-se a análise da qualidade física e fisiológica das sementes. Nos grãos e brotos de soja foi determinada a composição físico-química (umidade, proteína, cinzas e lipídios), quantificação de isoflavonas, quantificação da atividade do inibidor de tripsina e ácido fítico. Para realizar essas análises nos grãos, os mesmos foram moídos em moedor Cuisinart® (modelo DCG-20BKN) e mantidos sob refrigeração em refrigerador Cônsul (modelo Frost Free) a aproximademente 8°C e os brotos foram embalados com papel alumínio, congelados a -86 ºC em ultrafreezer Indrel@ (modelo IUT 355D), liofilizados a aproximadamente -40 ºC em liofilizador Edwards® (modelo Modulyo), moídos em moedor Cuisinart® (modelo DCG-20BKN). Estes foram colocados em frascos plásticos com tampa e mantidos sob refrigeração a aproximadamente 8°C.

As análises foram realizadas em triplicata. Procedeu-se os experimentos nos laboratórios de Análises Físico-Química e Bromatologia, Processos de Separação/Termodinâmica e Biotecnologia de Alimentos (laboratórios pertencentes ao Departamento de Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim). Somente as análises de extração e quantificação de isoflavonas foram realizadas na Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa da Soja, Londrina, Paraná.

4.2.1 Análise da qualidade dos grãos

A avaliação dos grãos quanto à qualidade para produção de brotos de soja foi realizada em triplicada, determinando-se o peso de 100 grãos e o teste de germinação (BRASIL, 1992). Para a determinação do peso de cem grãos, foram separadas aleatoriamente três amostras com 100 grãos da cultivar BRS 216 e das linhagens A, B e C., as quais foram pesadas em balança de precisão (0,001 g).

Para a avaliação do poder germinativo dos grãos seguiu-se a metodologia descrita em Brasil (1992), sendo utilizada para cada amostra de soja quatro repetições de 50 grãos cada. Os grãos foram contados manualmente, semeados em papel-toalha umedecido com água destilada, utilizando-se a quantidade de água equivalente a três vezes a massa do papel seco. A técnica utilizada foi a de rolo de papel toalha, onde os grãos foram depositadas entre folhas, depois embrulhadas na forma de rolos, identificadas e colocadas em câmara com temperatura controlada, aproximadamente 25 °C e umidade relativa do ar em aproximadamente 99%. Após quatro dias da semeadura realizou-se a contagem das plântulas normais. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

4.2.2 Composição físico-química

A composição-química das sementes e dos brotos de soja foi determinada por meio de análises de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas, utilizando os métodos descritos pela AOAC (2007). A umidade foi determinada pelo método gravimétrico em estufa (Fanem®, modelo 320-SE), a 105°C por 4 h. Os valores de umidade dos grãos e dos brotos foram padronizados em 9,75% (extrato seco de 90,25) e 5,89% (extrato seco de 94,11), respectivamente, para as análises de proteínas, lipídeos e cinzas. Para a determinação do teor de proteínas utilizou-se o método de Kjeldahl, para a quantificação de nitrogênio total o conteúdo de proteína foi calculado por multiplicação pelo fator 6,25. As cinzas foram determinadas por calcinação das amostras em mufla (Lavoisier®, modelo 400C) a 550ºC por 6 h. Os lipídeos foram determinados por extração em Soxhlet (Nova Ética®, modelo NT340), utilizando éter de petróleo

(Química Moderna® 30-60ºC) com extrator. Os resultados foram expressos em $g.100g^{-1}$, em base seca.

4.2.3 Determinação e quantificação das isoflavonas

Essa análise foi realizada na Embrapa – Centro Nacional da Pesquisa da Soja, Londrina/PR. A extração das diferentes formas de isoflavonas dos grãos de soja e dos brotos de soja liofilizados foi realizada conforme Carrão-Panizzi et al. (2002). A análise quantitativa das diferentes formas de isoflavonas foi realizada segundo metodologia preconizada por Berhow (2002).

Amostras dos grãos e dos brotos foram desengorduradas com n-hexano (Química Moderna® - Pureza 98,5%) a frio, por 16 h. Foram transferidas alíquotas de 100 mg de cada amostra para tubos tipo Falcon de 10 mL, em seguida foram adicionados 4 mL de solução extratora (etanol a 70% contendo, 1% de ácido acético). Foram fechados os tubos, homogeneizados e a extração realizada por uma hora a temperatura ambiente (25ºC). A cada 15 min os tubos foram agitados. Depois da extração as amostras foram transferidas para tubos de centrífuga tipo "eppendorff" e mantidas em geladeira (4ºC). Posteriormente, foi realizada a análise por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando o cromatógrafo líquido (Waters, modelo 2690), equipado com bombas (modelo W600) e injetor automático de amostras (modelo W717 plus). A coluna utilizada foi de fase reversa, do tipo ODS C18 (YMC Pack ODS-AM Columm), com 250 mm de comprimento x 0,4 mm de diâmetro interno e partículas de 5 μm.

Antes da análise, as amostras foram centrifugadas em microcentrífuga refrigerada (Eppendorff®, modelo 5417 R) por 4 min a 35.396 g e a temperatura de 4ºC. O sobrenadante foi então filtrado e filtros Millex – LH (0,45μm). Para a injeção direta no cromatógrafo liquido foram utilizados 20 μL de cada amostra.

Para a separação das isoflavonas, adotou-se o sistema de gradiente linear binário, tendo-se como fases móveis: metanol contendo 0,025% ácido trifluoroacético (TFA) (solvente A) e água destilada deionizada ultrapura contendo 0,025% de TFA (solvente B). A condição inicial do gradiente foi de 20% para o solvente A, atingindo-se 90% em 35 min e retornando a 20% novamente a 40 min. O tempo total de corrida foi de 50 min.

A vazão da fase foi de 1 mL min^{-1} e a temperatura durante a corrida mantida constante a 25ºC.

A detecção das diferentes formas de isoflavonas foi realizada utilizando o detector de arranjo de foto diodo (Waters, modelo W996), ajustado para o comprimento de onda de 260 nm. Para a identificação dos picos correspondentes a cada umas das diferentes formas de isoflavonas, foram utilizados padrões de daidzina, daidzeína, genistina, genisteína (Sigma®) solubilizados em metanol (grau HPLC), nas seguintes concentrações: 0,00625; 0,0125; 0,0250; 0,0500 e 0,1000 mg mL^{-1}. A quantificação das diferentes formas de isoflavonas foi realizada por padronização externa (área dos picos) e utilizados os padrões como referência. Todos os resultados foram expressos em mg.100 g^{-1}, em base seca.

4.3.4 Quantificação do inibidor de tripsina Kunitz

Para quantificação do inibidor de tripsina seguiu-se a metodologia desenvolvida por Kakade et al. (1974). A amostra moída foi desengordurada com n-hexano (Química Moderna® - Pureza 98,5%) sob agitação em agitador magnético (Velp Scientifica®) por 16 h. Para a extração, adicionou-se em erlenmeyer , 1 g de amostra desengordurada em 50 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,01 M, seguido de agitação por 3 h em temperatura ambiente (aproximadamente 25ºC). Em seguida, o pH da suspensão foi ajustado para 9,2 com HCl 1N e uma alíquota de 2 mL desta solução extratora foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com água destilada.

A quantificação inibitória foi realizada por meio de ensaio enzimático utilizando-se o benzoil-DL-arginina-*p*-nitroanilida (BAPNA) (Sigma® - Pureza ≥98%) como substrato para a tripsina de pâncreas bovino da marca Sigma, efetuado em triplicata. Alíquotas de 2 mL da solução diluída do extrato das amostras foram pipetados em 4 tubos de ensaio (3 tubos para determinação da atividade no extrato da amostra e 1 tubo para o branco) e 2 mL de água destilada no tubo para determinar o padrão de tripsina. Os tubos foram, acondicionados em banho-maria (Marconi® modelo MA126) à 37ºC, e em seguida adicionou-se 2 mL da solução de tripsina (0,02 mg mL^{-1} de HCl 0,001 N), com exceção do branco, e após 10 min foram adicionados 5 mL de BAPNA 0,4 mg mL^{-1} de tampão Trisma pH 8,2 (contendo 2,95 mg mL^{-1} de cloreto de

cálcio dihidratado ($CaCl_2$. $2H_2O$) da marca Neon - pureza 99,0-105,0%), previamente aquecidos a 37ºC, e deixou-se os tubos em banho-maria por mais 10 min. Ao final desse período adicionou-se em todos os tubos 1 mL de ácido acético 30% (v/v) da marca Dinâmica - pureza 99,7%, para interromper a reação. E no tubo do branco adicionou-se mais 2 mL da solução de tripsina. Filtrou-se em papel *Whatman* nº 3 (Jprolab®) e o filtrado foi utilizado para determinação da teor dos inibidores de tripsina em uma absorbância de 410 nm em espectrofotômetro (Spectro Vision® modelo DB-1880S).

Os resultados foram expressos como mg de inibidor de tripsina (IT) por g de amostra desengordurada, através da Equação 1.

$$\text{mg IT/g} = \frac{\text{Abs padrão} - \text{Abs amostra}}{38 \times \text{peso da amostra}} \times 2500 \quad (1)$$

4.3.5 Extração e quantificação cromatográfica de troca iônica para ácido fítico

O ácido fítico (AF) foi determinado por cromatografia de troca iônica, segundo metodologia descrita por Latta e Eskin (1980) com modificações de Ellis e Morris (1986).

Pesou-se 1g de amostra previamente moída em erlenmeyer de 125 mL e adicionou-se 10 mL de solução HCl 0,8M. Colocou-se em agitação em agitador magnético (Velp Scientifica®) durante 2 h. Após centrifugou-se (centrífuga MPW®, modelo 351R), a 2000 rpm durante 10 min para a obtenção do sobrenadante contendo ácido fítico. Pipetou-se 2 mL desse sobrenadante e transferiu-se em balão de 50mL completando esse volume com água milli-Q.

Em seguida preparou-se a coluna em seringa de vidro contendo 1cm de lã de vidro, pesou-se 0,50 g de resina (Dowex®, 1x4 chloride form) e transferiu-se essa quantidade para a coluna, lavou-se com água milli-Q até que toda a resina ficasse uniforme no fundo da coluna descartando a água que foi utilizada. Elui-se 10 mL de NaCl 0,7 M (3 segundos/gota) e 10mL de água milli-Q (3 segundos/gota).

Após, elui-se 2 mL da amostra diluída (5 s/gota), desprezando em béquer. Eluiu-se cuidadosamente 10 mL NaCl 0,1M (3 s/gota), desprezando em béquer. Eluiu-se cuidadosamente 10 mL NaCl 0,7M (5 s/gota), coletando-se em béquer, em tubos de ensaio dividiu-se esse líquido coletado em 3 alíquotas de 3 mL, adicionou-se 1 mL do

reativo de wade e agitou-se durante 5 s em agitador tipo "vórtex" (Phoenix®, modelo AP 56) e então procedeu-se a leitura em espectrofotômetro (Spectro Vision® modelo DB-1880S) a 500 nm.

Os resultados foram expressos em % ($g.100g^{-1}$), através da Equação 2:

$$\%AF = \big((ABSa - ABSw) \times Fd\big) \div (M \times F \times 10000) \quad (2)$$

Onde:

ABSa = absorbância amostra

ABSw = absorbância Wade

F = fator da curva (diferença ABS / concentração em ug)

Fd = fator de diluição

M = massa da amostra, em gramas

4.3 PARÂMETROS PARA A PRODUÇÃO DOS BROTOS

Os grãos de soja foram selecionadas visualmente retirando-se sementes com fungos, paus, pedras, sementes murchas, sementes trincadas, em fim, tudo o que pudesse atrapalhar a germinação. Pesou-se 100 g de soja para cada bandeja.

Inicialmente, os grãos foram sanitizados utilizando-se uma solução de hipoclorito de sódio a 10 %, por 4 min, sendo depois transferidas para uma peneira e enxaguadas com água corrente. Posteriormente, os mesmos foram colocados em embebição em água clorada por 4 h (Oliveira 2013, adaptado de EMATER, 2007).

Em seguida, os grãos de soja foram colocados em recipiente plástico com furos no fundo e tampado para ausência da luz. Os furos no fundo do recipiente tem a função de drenagem da água após a irrigação das sementes para garantir as condições necessárias ao processo de germinação. Em cada recipiente foram colocados 100 g de grãos embebidos.

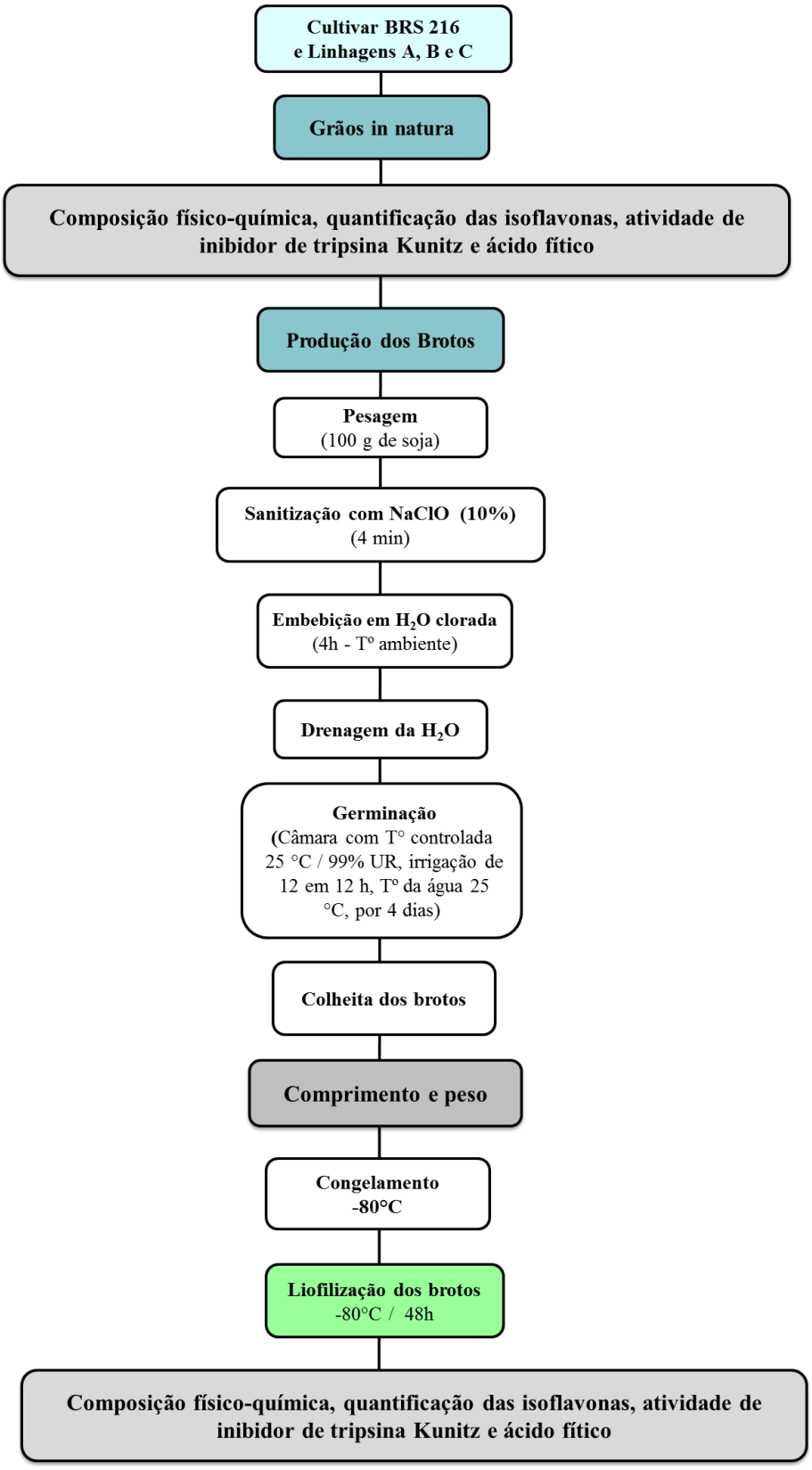
Todo o processo de germinação ocorreu em câmara com temperatura controlada (marca Menoncin@) em torno de 25 °C e 99% de umidade, a frequência de irrigação foi a cada 12 h e a temperatura da água de irrigação foi mantida a 25 °C. O tempo de germinação foi de 4 dias, sendo a colheita dos brotos realizada manualmente.

Para definir o tempo de germinação testes preliminares foram realizados na cultivar BRS 216, por já ser uma cultivar estudada em outros trabalhos. Os brotos foram

colhidos com 4 dias de germinação, levando em consideração o tamanho que atingiram (aproximadamente 7 cm), sendo que um broto com 7 cm tem boa aparência para o consumo e pode ser consumido inteiro. Oliveira et al. (2013) observaram que com 5 dias de germinação os brotos atingiram uma média de comprimento de 8,06 cm. Porém como se tratam de linhagens diferentes, que podem apresentar comportamentos diferentes durante a germinação, neste trabalho foram considerados na hora da colheita como brotos viáveis para o consumo, os brotos que atingiram acima de 5 cm.

Após a colheita os brotos foram analisados fisicamente quanto ao comprimento e peso. Para a realização das análises físico-químicas os brotos foram armazenados liofilizados. Para a liofilização dos brotos, os mesmos foram colocados em sacos do tipo ziplock, congelados em ultrafreezer a - 80 ºC (Indrel IUT 355D), em seguida inseridos em liofilizador (Edwards®, modelo Modulyon) a - 40 °C por aproximadamente 48 h. Após a liofilização os brotos foram moídos em moedor Cuisinart® (modelo DCG-20BKN), e posteriormente armazenados em frascos plásticos com tampa e mantidos em câmara fria (10 ºC). O fluxograma de produção dos brotos para os diferentes grãos estudados é apresentado na Figura 3.

Figura 3. Fluxograma da produção de brotos de soja.



Fonte: autor

4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS BROTOS

4.4.1 Peso e comprimento

Determinou-se o comprimento e o peso dos brotos viáveis após a colheita dos mesmos. O comprimento dos brotos foi medido com auxílio de paquímetro (Starrett[@] modelo Universal Série 125) e o valor expresso em centímetros. Mediu-se 50 brotos, em triplicata, para cada linhagem estudada. O peso dos brotos viáveis de cada bandeja contendo 100g de grão foi determinado em balança semi-analítica e os dados expressos em gramas.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a nível de 95% de confiança, utilizando o *software Statistica* 8.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 QUALIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DOS GRÃOS DE SOJA

Os grãos de soja da cultivar BRS 216 e das linhagens de soja, A, B e C foram avaliadas quanto à qualidade essencial para produção de brotos, ou seja, a porcentagem de germinação e o peso de 100 grãos (Tabela 2).

Tabela 2. Poder germinativo e peso de 100 grãos da cultivar BRS 216 e das linhagens de soja, A, B e C.

Parâmetros	BRS 216	Linhagem A	Linhagem B	Linhagem C
Germinação (%)	93	95	87	89
Peso de 100 grãos (g)	10,51 (±0,55)[b]	10,42 (±0,48)[b]	12,13 (±0,41)[a]	11,86 (±0,34)[a]

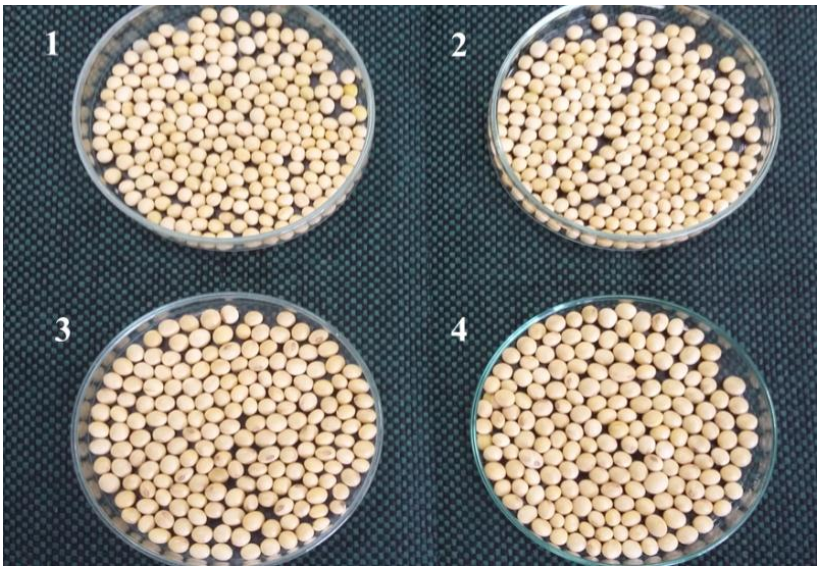
Média (três repetições) ± Desvio Padrão seguidas de letras iguais minúsculas na linha (análises) indicam não haver diferença significativa a nível de 5% (teste de Tukey).

O teste de germinação é utilizado como o objetivo de avaliar a qualidade fisiológica das sementes e permite conhecer o potencial de germinação de um lote em condições favoráveis, ou seja, condições adequadas para cada tipo de grão (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). No teste de germinação a linhagem A foi o que apresentou maior porcentagem de germinação (95%), seguido pela BRS 216 (93%), linhagem C (89%) e linhagem B (87%). Dependendo da cultivar e das condições de produção e de armazenamento o poder germinativo das sementes pode variar. O ideal é que haja alta taxa de germinação, principalmente quando o objetivo é produção de brotos.

Para os resultados do peso de 100 sementes, as linhagens B e C foram semelhantes e apresentaram maior peso (12,13 g e 11,86 g, respectivamente), o que as caracteriza com tamanho maior de sementes. Já a cultivar BRS 216 e a linhagem A apresentam valores menores de peso, não diferindo estatisticamente ($p<0,05$) entre si (Figura 4). Levando em consideração que para produção de brotos são desejáveis grãos menores, a BRS 216 e a linhagem A, apresentam-se, portanto, mais indicadas para essa finalidade. Além do tamanho menor, os grãos devem ser de qualidade, com alta pureza

física, sem contaminação com grãos de outras espécies. Também para garantir a qualidade do produto são necessários grãos com alto poder germinativo e vigor (VIEIRA; LOPES; 2001).

Figura 4. Tamanho dos grãos de soja, (1) Linhagem A, (2) cultivar BRS 216, (3) Linhagem B e (4) Linhagem C.



Fonte: autor

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS GRÃOS E BROTOS

5.2.1 Peso e comprimento dos brotos

Na Tabela 3 são apresentados os resultados do peso e comprimento dos brotos viáveis de soja da cultivar BRS 216 e das linhagens A, B e C, germinados durante 4 dias, utilizando frequência de irrigação a cada 12 h.

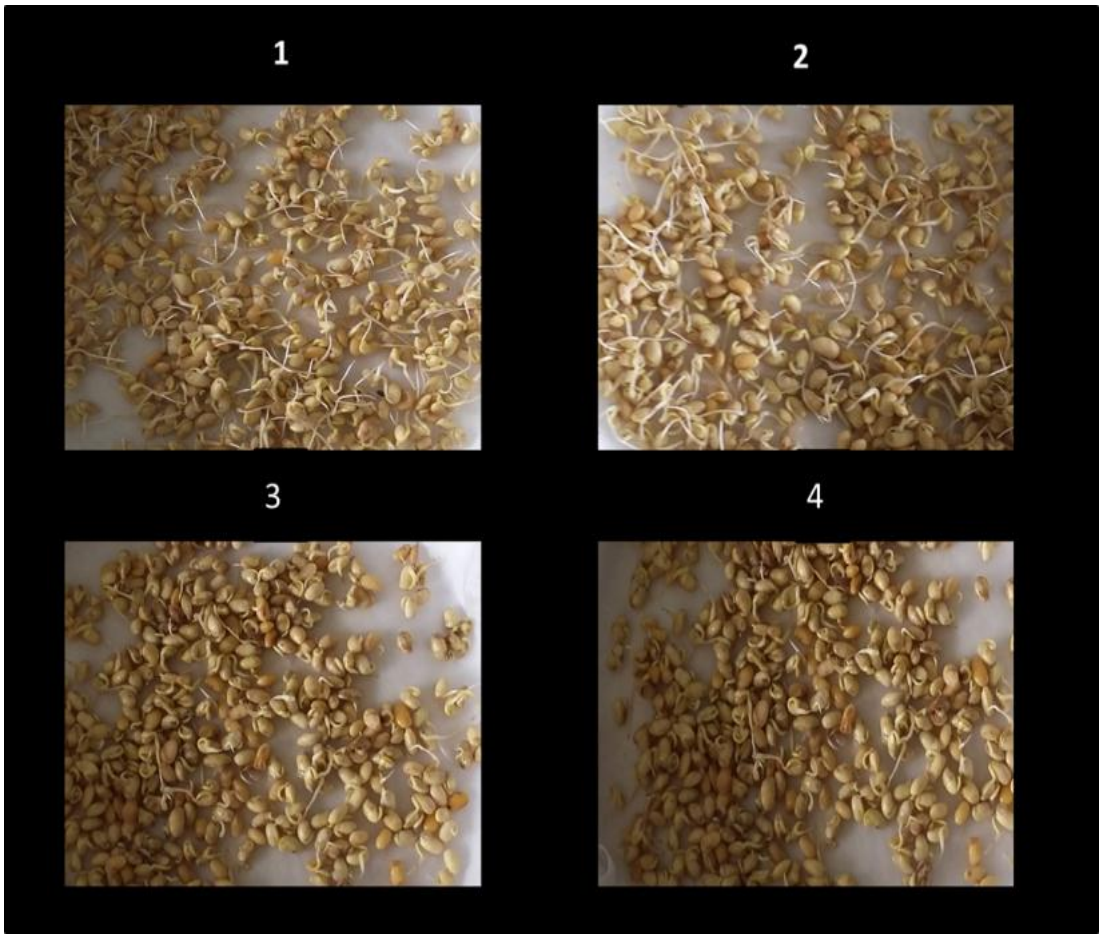
Tabela 3. Peso e comprimento de brotos viáveis de soja da cultivar BRS 216 e das linhagens A, B e C.

Parâmetros físicos	BRS 216	Linhagem A	Linhagem B	Linhagem C
Peso (g)	140,93 (±1,23)[b]	214,36 (±1,75)[a]	60,70(±2,27)[d]	67,62(±1,15)[c]
Comprimento (cm)	7,31(±0,95)[a]	8,03(±1,05)[a]	5,30(±0,45)[b]	5,98(±0,36)[b]

Médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais nas linhas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey).

De acordo com os resultados apresentados (Tabela 3), os brotos viáveis que apresentaram o maior peso, para cada 100 g de grãos de soja foram, a linhagem A, seguida pela BRS 216, linhagem C e B, com diferenças estatísticas ($p<0,05$) entre si. Nas linhagens B e C verificou-se que apesar de ter ocorrido a germinação, os brotos não apresentaram um bom desenvolvimento (Figura 5). Deste modo, para cada 100 g de soja da cultivar BRS 216 e Linhagens A, B e C a produção de brotos viáveis foi de 140,93; 214,36; 60,70 e 67,62 g, respectivamente. Oliveira et al. (2013) produziram brotos de soja com a cultivar BRS 216, utilizando 25 g de sementes de soja, onde com cinco dias de germinação, obtiveram uma colheita média de brotos viáveis de 35,73 g; com seis dias de germinação, de 43,12 g, e com sete dias de germinação, de 64,19 g, independente da frequência de irrigação, a temperatura utilizada durante a germinação foi ambiente (27,5 ± 5,1 °C) e a umidade relativa do ar (53,5 ± 16,5% UR). Assim pode-se verificar que os brotos da cultivar BRS 216 germinados durante 4 dias apresentaram peso semelhante ao obtido por Oliveira et al. (2013) com 5 dias de germinação, indicando que no presente trabalho ocorreu redução de 20% no tempo de germinação.

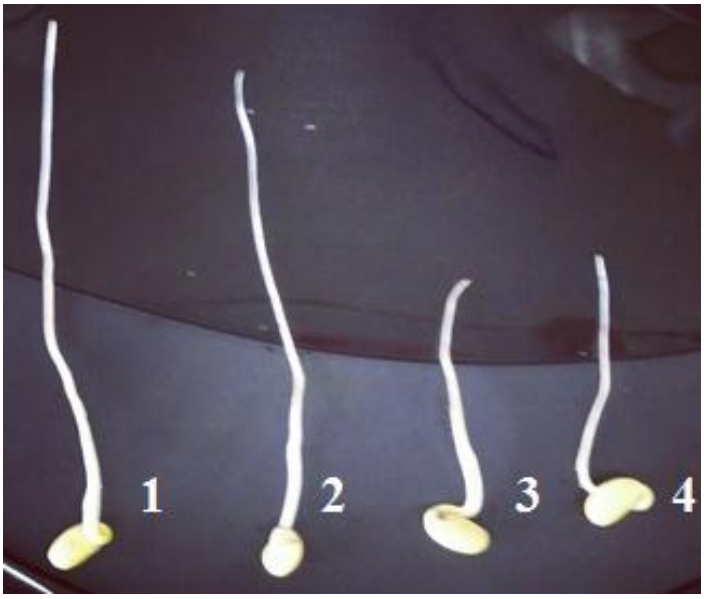
Figura 5. Desenvolvimento dos grãos de soja durante a germinação por 4 dias, (1) Linhagem A, (2) cultivar BRS 216, (3) Linhagem B e (4) Linhagem C.



Fonte: autor

O aumento no comprimento dos brotos ocorreu de forma crescente em função dos dias de germinação. Não ocorreram diferenças significativas ($p<0,05$) entre a BRS 216 e a linhagem A, e entre as a linhagens B e C. Para linhagem A, a média de comprimento foi 8,03 cm e para BRS 216 foi 7,31 cm, após 4 dias de germinação, as quais diferiram estatisticamente das linhagens B e C que apresentaram valores inferiores. Na Figura 6 é possível visualizar as diferenças de tamanho dos brotos de soja após 4 dias de germinação.

Figura 6. Tamanho dos brotos de soja após 4 dias de germinação, (1) Linhagem A, (2) cultivar BRS 216, (3) Linhagem B e (4) Linhagem C.



Fonte: autor

Oliveira et al. (2013) encontraram valores médios de comprimento de 7,74; 11,11 e 13,77 cm para brotos de soja da cultivar BRS 216, germinados durante cinco, seis e sete dias, respectivamente, com frequência de irrigação a cada 12 h. Vilas Boas et al. (2002), estudando média do comprimento de brotos de soja, observaram valores variando de 4,30 cm (3 dias de germinação) a 9,80 cm (6 dias de germinação). Em comparação com o presente estudo, pode-se observar que o cultivar BRS 216 e a linhagem A, alçaram um comprimento médio superior aos de Oliveira et al. (2013) em menos tempo, ou seja, 4 dias de germinação. Está diferença observada pode ser devido a uma série de fatores, tais como, a genética das cultivares, condições ambientais, locação, safra de produção, época de plantio, regionalidade e também pelas condições de colheita e armazenamento (HOECK et al., 2000; KARR-LILIENTHAL et al., 2005; SANTOS et al., 2007; MINUZZI et al., 2009; SILVA, et al., 2010).

As diferenças de massa e tamanho encontradas entre os brotos de soja estudados é esperada, por se tratar de linhagens diferentes, que apresentam características genéticas diferentes.

5.3 ANÁLISE DOS GRÃOS E BROTOS DE SOJA

5.3.1 Análises físico-químicas

Os teores de proteína, cinzas e lipídeos nos grãos e brotos de soja da cultivar BRS 216 e linhagens A, B e C, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Teores de proteína, cinzas e lipídeos dos grãos e brotos da cultivar BRS 216 e linhagens A, B e C.

Análises ($g.100g^{-1}$)		BRS 216	Linhagem A	Linhagem B	Linhagem C
Proteína	Grãos	$41,96(\pm0,25)^{aB}$	$38,72(\pm0,05)^{bB}$	$37,63(\pm0,57)^{cB}$	$36,27(\pm0,28)^{dB}$
	Brotos	$47,70(\pm0,05)^{aA}$	$40,29(\pm0,50)^{bcA}$	$40,80(\pm0,19)^{bA}$	$39,79(\pm0,21)^{cA}$
Cinzas	Grãos	$4,91(\pm0,30)^{aA}$	$4,89(\pm0,16)^{aB}$	$4,96(\pm0,04)^{aB}$	$4,71\ (\pm0,17)^{aB}$
	Brotos	$5,35(\pm0,04)^{cA}$	$5,67\ (\pm0,19)^{bcA}$	$6,16\ (\pm0,20)^{abA}$	$6,36\ (\pm0,29)^{aA}$
Lipídeos	Grãos	$19,45(\pm0,32)^{dB}$	$20,66(\pm0,27)^{cB}$	$21,98(\pm0,08)^{bB}$	$22,61(\pm0,18)^{aA}$
	Brotos	$24,75(\pm0,12)^{aA}$	$23,38(\pm0,14)^{bA}$	$23,47(\pm0,40)^{bA}$	$22,78(\pm0,14)^{cA}$

Média (três repetições) ± Desvio Padrão seguidas de letras iguais minúsculas/maiúsculas na linha/coluna (análises) indicam não haver diferença significativa a nível de 5% (teste de Tukey).

O teor de proteína e lipídeos nos grãos apresentaram diferença estatística ($p<0,05$) entre si (Tabela 4), com valor maior de proteína na cultivar BRS 216 e lipídeos na linhagem C. Essas diferenças nos teores de proteínas e lipídeos podem ser atribuídas às diferenças genéticas entre as cultivares de soja, ao estádio de desenvolvimento em que os grãos foram colhidos e às condições climáticas (SILVA, 2009). Ainda, segundo Carrão-Panizzi; Mandarino (1998), os teores de lipídios nos grãos de germoplasma de soja podem variar entre 13 a 25%. Benassi et al. (2011), avaliando os teores de lipídeos nos grãos das cultivares BRS 257 e BRS 267, constataram um teor lipídico de 20,19 e 18,55 $g.100g^{-1}$, respectivamente. Sendo assim, pode-se observar que os teores lipídicos encontrados nesse trabalho foram similares aos encontrados na literatura. Segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO (2011) a soja possui em torno de 36% de teor proteico, o feijão preto (21,3%), a ervilha em vagem (7,5%) e o

amendoim (27,2%), desta forma a soja se destaca em relação as outras leguminosas quanto ao conteúdo de proteína.

Em relação ao teor de cinzas não foi verificada diferença significativa (p>0,05) entre os grãos. Resultados similares foram obtidos por Martinez et al. (2011), que obtiveram valores para cinzas de 5,11 g.100g^{-1} para grãos de soja antes da germinação. Benassi et al. (2011), obtiveram valores de 6,04 g.100g^{-1} para a BRS 257 e 7,69 g.100 g^{-1} para a BRS 267. Para Rigo et al. (2015) que avaliaram três cultivares de soja, BRS 267, Vmax e BRS 257, com e sem casca, as cultivares de soja analisadas não apresentaram diferenças em relação ao teor de cinzas, o conteúdo médio de cinzas foi de 4,89 g.100g^{-1}.

A cultivar BRS 216 foi a que apresentou maior teor proteico nos brotos, diferindo (p>0,05) estatisticamente das demais. Valores similares foram encontrados por Oliveira et al. (2013) para brotos da cultivar BRS 216 (47,90 g.100g$^{-1)}$, em 5 dias de germinação e irrigação a cada 12 h.

Para todas as cultivares o maior conteúdo de proteína encontrou-se no broto. Esse maior teor proteico encontrado na soja germinada era esperado, pois durante a germinação ocorre a síntese enzimática proteica ou a mudança na composição que segue a degradação de outros constituintes (BAU et al., 1997; BARCELOS et al., 2002).

Com a germinação os teores de lipídeos aumentaram para BRS 216, linhagem A e B em relação aos grãos. Donangelo et al. (1995), estudando o efeito de germinação, por 48 h, verificaram aumento dos lipídios, onde para o *Lupinus albus L.*cv. Multolupa foi de 7,4% grãos e 7,6% nos brotos. Já para a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) foi de 21,1% de lipídios nos grãos e 22,4% nos brotos e para o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) foi de 1,4% nos grãos e 1,8% nos brotos.

Porém resultados diferentes e contraditórios também são observados. O teor de lipídios nas sementes diminui com a evolução do tempo de germinação. Para Oliveira et al. (2013) quanto maior o número de dias de crescimento e menor a frequência de irrigação, ocorreu uma tendência para a diminuição nos teores de lipídios dos brotos, explicado pelos autores pela mobilização das reservas nutricionais das sementes durante o processo germinativo. Os autores verificaram que com 5 dias de germinação, os teores de lipídios nos brotos foram mais elevados e se reduziram com o passar do tempo. Vilas Boas et al. (2002) relataram uma redução de 18 para 10 g.100 g^{-1} de massa seca nos

teores de lipídios dos brotos de soja, com o aumento no tempo de crescimento de 3 para 6 dias.

Para os brotos houve em aumento nas cinzas em comparação com grão, sendo que o menor valor encontrados na soja germinada foi de 5,35 g.100g^{-1} e o maior foi 6,36 g.100g^{-1}, para a BRS 216 e a linhagem C, respectivamente. Oliveira et al. (2013) obtiveram valores mais elevados para cinzas após germinação da BRS 216, com irrigação a cada 12 h, obtendo valores de 6,53, 7,55 e 7,06 g.100g^{-1}, com 5, 6 e 7 dias de germinação, respectivamente.

O teor do IKT e do ácido fítico nos grãos e brotos de soja da cultivar BRS 216 e nas Linhagens A, B e C estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Teor do inibidor de tripsina Kunitz e de ácido fítico dos grãos e brotos da cultivar BRS 216 e nas Linhagens A, B e C.

Análises		**BRS 216**	**Linhagem A**	**Linhagem B**	**Linhagem C**
Inibidor de Tripsina (mg IT.g^{-1})	Grãos	21,68(±0,52)^{bA}	27,56(±0,28)^{aA}	18,35(±0,34)^{dA}	20,29(±0,32)^{cA}
	Brotos	15,68(±0,35)^{bB}	19,62(±0,16)^{aB}	14,55(±0,08)^{cB}	14,10(±0,08)^{cB}
Ácido Fítico (g.100g^{-1})	Grãos	1,53(±0,06)^{abA}	1,30(±0,03)^{cA}	1,60(±0,04)^{aA}	1,44(±0,01)^{bA}
	Brotos	1,17(±0,06)^{cB}	1,13(±0,04)^{cB}	1,47(±0,01)^{aB}	1,29(±0,01)^{bB}

Média (três repetições) ± Desvio Padrão seguidas de letras iguais minúsculas/maiúsculas na linha/coluna (análises) indicam não haver diferença significativa a nível de 5% (teste de Tukey).

Para melhorar a qualidade nutricional da soja e utilizá-la como alimento, há necessidade de remover ou inativar alguns constituintes indesejáveis, como por exemplo, os fatores antinutricionais. A germinação vem se mostrando como uma boa alternativa, pois podem ocorrer mudanças na composição do grão e no seu valor nutricional, as quais podem variar dependendo da variedade da semente e das diferentes condições da germinação (SANGRONIS; MACHADO, 2007).

Para o teor do IKT houve diferença ($p<0,05$) estatística para os grãos de soja analisados, onde o menor valor encontrado foi para a linhagem B (18,35 mg IT.g^{-1}) e o maior para linhagem A (27,56 mg IT.g^{-1}). Rigo et al. (2015) analisando grãos de soja da cultivar BRS 267 observaram um teor de IKT de 16,57 mg IT.g^{-1}. Essas diferenças entre as cultivares é normal, pois diversos fatores pode influenciar nos teores de IKT. Segundo Silva (2009) as diferenças genéticas podem causar variações nos teores desse composto na soja, assim como estádio de desenvolvimento em que os grãos foram colhidos e às condições climáticas durante a produção da soja. A cultivar e as linhagens

analisadas nesse trabalho, portanto, apresentaram teores mais elevados nos grãos, os quais diminuíram em média 26,91%, com o processo germinativo.

Após o processo de germinação os valores de IKT foram reduzidos cerca de 27,6 % para a BRS 216; 28,8 % para a linhagem A; 20,7 % para a linhagem B; e 30,5 % para a linhagem C. Sendo assim a germinação pode ser considerada uma alternativa para a redução de fatores antinutricionais. Em estudo realizados por Oliveira et al. (2013), em diferentes tempos de germinação e com frequência de irrigação a cada 4 h, os valores IKT também reduziram com a germinação, obtendo 13,06, 11,82 e 7,21 mg $IT.g^{-1}$, para 5,6 e 7 dias de germinação, respectivamente.

Quanto ao teor de ácido fítico nos grãos, o maior valor encontrado foi para o Genótipo B (1,60 $g.100g^{-1}$) e o menor para o Genótipo A (1,30 $g.100g^{-1}$). Segundo Moreira et al. (2012) vários fatores podem influenciar para que haja diferença nos teores de ácido fítico encontrados nos grãos de soja, tais como: a variabilidade genética das cultivares de soja, o local de cultivo e os fatores climáticos. Os mesmos autores analisaram diferentes cultivares de soja, cultivadas em quatro regiões distintas, e verificaram que houve diferenças entre cultivares e entre locais de semeadura. Os teores de ácido fítico nos grãos de soja variaram de 1,13 a 2,43 $g.100g^{-1}$, para BRS 217, cultivada em Londrina (PR) e Candido Mota (SP), respectivamente.

Para os brotos, os valores de ácido fítico foram menores em relação aos grãos diferindo ($p<0,05$) estatisticamente. O ácido fítico é um dos fatores responsáveis pela redução da biodisponibilidade de minerais, porém com a germinação esse fator tem efeito reduzido proporcionando aumento na qualidade nutricional (BRIGIDE; CANNIATTI-BRAZACA, 2006). Martinez et al. (2011), analisaram a cultivar de soja M. SOY RR, antes e após germinação por 48 horas e verificaram que apesar de ter havido redução no teor de ácido fítico, não houve diferença estatística entre as amostras, sendo que os valores foram 1,36 $g.100g^{-1}$ antes da germinação e 1,27 $g.100g^{-1}$ após a germinação por 48 h.

Na Tabela 6 são apresentados os teores das diferentes formas de isoflavonas obtidas nos grãos e nos brotos das cultivar BRS 216 e nas linhagens de soja A, B e C.

Tabela 6. Teor de isoflavonas (mg. 100g-1) nos grãos e nos brotos das cultivar BRS 216 e nas linhagens de soja A, B e C.

Isoflavonas (mg. 100g^{-1})		**BRS 216**	**Linhagem A**	**Linhagem B**	**Linhagem C**
Glicosiladas	Grãos	19,72(±0,24)^{cB}	66,39(±0,58)^{aB}	20,67(±1,70)^{cB}	32,03(±1,27)^{bB}
	Brotos	41,84(±1,49)^{cA}	77,56(±2,51)^{aA}	35,11(±0,95)^{dA}	51,24(±2,99)^{bA}
Malonil-Glicosiladas	Grãos	119,57(±2,48)^{bB}	253,98(±1,78)^{aB}	89,25(±3,57)^{cB}	91,87(±5,44)^{cB}
	Brotos	148,63(±0,70)^{bA}	289,03(±0,33)^{aA}	96,75(±0,79)^{dA}	121,42(±1,12)^{cA}
Agliconas	Grãos	14,00(±2,38)^{bB}	19,73(±1,83)^{aB}	9,19(±1,54)^{cB}	8,15(±3,28)^{cB}
	Brotos	34,89(±1,04)^{bA}	39,79(±1,28)^{aA}	21,21(±1,63)^{cA}	16,54(±1,85)^{dA}
Isoflavonas Totais	Grãos	153,29(±0,33)^{bB}	340,10(±3,03)^{aB}	119,11(±6,82)^{dB}	132,05(±5,62)^{cB}
	Brotos	225,36(±3,24)^{bA}	406,38(±4,94)^{aA}	153,07(±0,85)^{dA}	189,20(±7,07)^{cA}

Média (três repetições) ± Desvio Padrão seguidas de letras iguais minúsculas/maiúsculas na linha/coluna (análises) indicam não haver diferença significativa a nível de 5% (teste de Tukey).

O teor de isoflavonas totais nos grãos apresentaram diferença (p>0,05) significativa entre os genótipos estudados. Os teores de isoflavonas dos grãos de soja podem diferir de acordo com a cultivar, época de plantio, condições climáticas e do solo, local de cultivo e carga de patógenos no local de plantio (WEGULO et al., 2005; BERGER et al., 2008).

Carrão-Panizzi et al. (2009a), analisaram 233 cultivares de soja semeadas em Ponta Grossa, PR, na safra de 2001/2002, e sementes de 22 cultivares plantadas em diferentes locais das regiões Nordeste, Sudeste e Sul, quanto ao teor total de isoflavonas, incluindo todas as formas de isoflavonas. O total de isoflavonas variou entre 12 mg. 100 g^{-1} (Embrapa 48) e 461 mg. 100 g^{-1} (CS 305) entre as 233 cultivares plantadas em Ponta Grossa, e essas diferenças são devidas aos efeitos genéticos, pois todas foram cultivadas e colhidas no mesmo local e ano.

Analisando 210 cultivares de soja plantados em Dakota do Sul (E.U.A.), Wang et al. (2000), observaram diferentes níveis de isoflavonas, variando de 116 a 274 mg. 100 g^{-1}.

Pode-se verificar os brotos apresentaram maiores valores para todas as formas de isoflavonas, com diferenças (p>0,05) significativas entre genótipos e entre grãos e brotos. As formas glicosiladas aumentaram com a germinação, sendo que a média encontrada nos grãos de soja foi de 34,70 mg. 100 g^{-1} e para os brotos foi 51,43 mg.100 g^{-1}, onde pode-se verificar que ocorreu um aumento de 48,21% após a germinação. Kim et al. (2006) observaram um aumento médio de 179 vezes na concentração de β-

glicosídeos em sete cultivares de soja, germinadas por 5 dias a 25 °C e com presença de luz, condição, pela qual os autores justificam esse aumento tão elevado.

Com relação a forma Malone-glicosiladas, houve predominância destas isoflavonas nos grãos (74,21%) e nos brotos (67,33%) em média para as quatro cultivares, em relação ao total de isoflavonas. No trabalho realizado por Tsukamoto et al. (1995) em sete cultivares de soja, foram observados resultados similares, sendo que o percentual de malonilglicosídeos variou entre 67% a 93% em relação ao total de isoflavonas.

A forma aglicona está presente em menor quantidade em relação às outras formas de isoflavonas em todos os brotos de soja estudados. Entretanto, com quatro dias de germinação o teor de agliconas aumentou 49,21% para a cultivar BRS 216; 49,58% para a linhagem A; 43,32% para a linhagem B e 49,27% para a linhagem C. Huang et al. (2014) observaram que durante a germinação, o teor isoflavonas agliconas da soja de 1,615 $g.100g^{-1}$ inicial, atingiu o máximo de 3,99 $g.100g^{-1}$ em 3 dias e reduziu para 3,20 $g.100g^{-1}$ em 4 dias.

As agliconas são compostos mais biodisponíveis que as outras formas de isoflavonas, por esse motivo são muito importantes (FERREIRA et al., 2011). Segundo Carrão-Panizzi et al. (2003b), visando maior desenvolvimento de isoflavonas agliconas, para assim proporcionar uma matéria prima mais adequada para processamentos de alimentos funcionais à base de soja, deve-se levar em consideração a escolha de cultivares que geneticamente apresentam teores elevados de isoflavonas, a utilização de temperaturas e períodos de tempo adequados e locais de cultivo, onde a temperatura média é menor durante o período de enchimento de grão.

Chiarello et al. (2006) investigaram a influencia da germinação, sobre o perfil de isoflavonas e observaram uma redução de 1,1 vezes no teor total de isoflavonas e aumento de 7,0 vezes no teor de agliconas após sete dias de germinação, a 22 °C e ausência de luz. Nestas mesmas condições, também observaram um aumento de 1,4 vezes na extração de proteína, indicando que a germinação melhora o valor nutricional.

O teor de isoflavonas totais dos brotos foi maior do que nos grãos, sendo que a linhagem A apresentou maior valor, seguida pela cultivar BRS 216, e as linhagens C e B. Houve um aumento médio de 34,56% no teor de isoflavonas totais após o processo de germinação. Galão et al. (2009), verificaram diferenças nos teores de isoflavonas totais nos grãos de soja, entre cultivares e locais de semeadura. Para semeaduras em

Londrina e Ponta Grossa (Paraná), respectivamente, a cultivar BRS 267 apresentou uma variação de 271,82 a 319,14 mg. $100g^{-1}$, e a cultivar BRS 257 de 431,33 a 319,14 $mg.100g^{-1}$. Assim, os valores de isoflavonas nos grãos e brotos de soja podem variar dependendo das diferentes cultivares e a germinação alterou o perfil de isoflavonas das sementes, aumentando o teor das diferentes formas das mesmas. A linhagem A, portanto, foi o que apresentou a maior teor de isoflavonas em todas as formas analisadas, sendo, portanto a mais indicada para o consumo humano na forma de brotos.

A germinação é um processo de baixo custo, que utiliza pouca mão de obra e equipamentos, podendo ser uma alternativa de consumo nutritivo e saudável da soja. O grande diferencial desse trabalho, foi a avaliação de linhagens de soja especificamente desenvolvidas para usos como brotos, as quais apresentam a característica especial de sementes de tamanho pequeno para produção de brotos. Os resultados do trabalho subsidiam, a possibilidade de recomendação para cultivo comercial da linhagem A, conforme projeto de melhoramento genético de soja da Embrapa. Atualmente, somente a cultivar BRS 216, apresenta características adequadas para produção de brotos.

6 CONCLUSÕES

As linhagens de soja estudadas na forma de grão e broto apresentaram composições físico-químicas variadas.

- **Cultivar BRS 216**
  - Maior conteúdo proteico no grão e no broto, podendo melhorar o valor nutricional de alimentos de soja;
  - Menor teor de lipídeos no grão;
  - Maior teor de lipídeos no broto;
  - Bom desenvolvimento durante a germinação.

- **Linhagem A (ausência de lipoxigenase)**
  - Maior atividade do inibidor de tripsina no grão e broto;
  - Menor teor de ácido fítico;
  - Maior peso de brotos viáveis;
  - Bom desenvolvimento durante a germinação;
  - Maior teor de isoflavonas totais.

- **Linhagem B (Reduzido inibidor de tripsina)**
  - Não apresentou-se como uma boa alternativa para produção de brotos;
  - Peso e comprimento inferiores a BRS 216 e Genótipo A;
  - Maior teor de ácido fítico no grão e broto;
  - Menor nível de isoflavonas totais.

- **Linhagem C**
  - Não apresentou-se como uma boa alternativa para produção de brotos;
  - Peso e comprimento inferiores a BRS 216 e Genótipo A;
  - Menor conteúdo proteico no grão e broto;
  - Maior teor de lipídeos no grão;
  - Maior teor de ácido fítico.

- **Germinação**
  - O processo de germinação alterou a composição físico-química e fatores antinutricionais, aumentando o valor nutricional da soja;
  - O teor de proteínas e isoflavonas aumentaram para todas as linhagens e em geral;
  - Os lipídeos também aumentaram;
  - Já os fatores antinutricionais se reduziram, o que torna os brotos ainda mais atrativos;
  - Dentre as linhagens avaliadas quanto ao peso e comprimento dos brotos, observou-se que após quatro dias de germinação a linhagem A se destacou, seguida pela cultivar BRS 216, sendo que essas duas linhagens apresentaram-se como boas alternativas para a produção de brotos. Quanto ao Genótipo B e C, nas condições desse trabalho, não apresentaram um bom desenvolvimento para produção de brotos.
  - A linhagem A apresenta boas características físico-químicas, o que podem subsidiar recomendação comercial dessa cultivar pela Embrapa.

6.1 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Efetuar estudos sobre metodologias de conservação de brotos (conservas e uso de diferentes embalagens), devido ao broto ser um alimento bem perecível, que deve ser consumido em poucos dias.
- Determinar a composição centesimal dos brotos em diferentes dias de armazenamento.
- Realizar análises de ácidos graxos, vitamina C cor e sensorial dos brotos produzidos da cultivar BRS 216 e das linhagens de soja A, B e C.
- Verificar a eficácia do uso de ultrassom na quebra dormência dos grãos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, C. L. **Isoflavonas de soja e propriedades biológicas**. B. CEPPA, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 323-334, 2002.

A.O.A.C (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists** 18. ed. Washington: AOAC, 3000p, 2007.

BAKER, K. M.; KIM; B. G.; STEIN, H. H. **Amino acid digestibility in conventional, high protein, or low oligosaccharide varieties of full-fat soybeans and in soybean meal by weanling pigs.** Animal Feed Science Technology, v. 162, p. 66-73, 2010.

BARCELOS, M. F.P.; VILAS BOAS, E.V. B.; LIMA, M. A. C. **Aspectos nutricionais de brotos de soja e de milho combinados.** Ciência e Agrotecnologia, v. 26, n. 4, p. 817-825, 2002.

BARROS, J. G. A.; MORAES, R. M. A.; PIOVESAN, N. D.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. **Efeito do inibidor de protease Kunitz sobre níveis de lipoxigenases em sementes de soja**. Ciência e agrotecnologia. v.32 n.04, p. 1126-1132, Lavras, 2008.

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

BAU, H. M.; VILLAUME, C.; NICOLAS, J. P; MEJEAN, L. **Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds.** Journal Science Food Agriculture, v. 73, p. 1-9, 1997.

BAU, H. M.; VILLAUME, C. H.; MÉJEAN, L. **Effects of soybean (*Glycine max*) germination on biologically active components, nutritional values of seeds, and biological characteristics in rats**. Nahrung, v. 44, n. 1, p. 02-06, 2000**.**

BENASSI, V. T.; BENASSI, M. T.; PRUDENCIO, S. H. **Cultivares brasileiras de soja: características para a produção de tofu e aceitação pelo mercado consumidor.** Semina: Ciências Agrárias, v. 32, n. 1, p. 1901-1914, 2011.

BENEVIDES, C. M. J.; SOUZA, M. V.; SOUZA, R. D. B.; LOPES, M. V. **Fatores antinutricionais em alimentos: revisão**. Segurança Alimentar e Nutricional, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.

BERGER, M.; RASOLOHERY, C. A.; CAZALIS, R.; DAYDÉ, J. **Isoflavone accumulation kinetics in soybean seed cotyledons and hypocotyls: distinct pathways and genetic controls.** Crop Science, v. 48, p. 700-708, 2008.

BERHOW, M. A. **Modern analytical techniques for flavonoid determination**. In: BUSLIG, B. S.; MANTHEY, J. A. (Ed.). Flavonoids in the Living Cell. New York: Klusher Academic, p. 61-76, 2002.

BONGIOLO, G. T. **Produção de Brotos Comestíveis com Fonte Alternativa de Água no contexto da Agricultura Urbana.** Relatório de estágio curricular (Programa de Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. **Germinação de sementes. Sementes florestais tropicais.** Brasílica: ABRATES, 83p., 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992.

BRIGIDE, P.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. **Antinutrients and *in vitro* availability iron of irradiated common beans (*Phaseolus vulgaris* L.)** Food Chemistry, v. 98, n. 1, p. 85-89, 2006.

BROUNS, F. **Soya isoflavones: a new and promising ingredient for the health foods sector**. Food Research International. v. 35, p. 187-193, 2002.

BRUNE, M. F. S. S.; PINTO, M. O.; PELUZIO, M. C. G.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G**. Avaliação bioquímico-nutricional de uma linhagem de soja livre do inibidor de tripsina Kunitz e de lectinas.** Ciência e Tecnologia de Alimento, v. 30, n. 3, p. 657-663, 2010.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G. **Soja: potencial de uso na dieta brasileira**. In: EMBRAPA SOJA. Documento 113. Londrina: Embrapa Soja, 1998.

CARRÃO-PANIZZI, M. C. **Melhoramento genético da soja para a obtenção de cultivares mais adequados ao consumo humano**. Revista brasileira de nutrição clínica. v. 15, n. 2, p .330-340, 2000.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; GÓES-FAVONI, S. P.; KIKUCHI, A**. Extraction time for soybean isoflavone determination.** Brazilian Archives of Biology and Technology: An International Journal, v. 45, p. 515-518, 2002.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S; MIRANDA, L. C.; MANDARINO, J. M. G.; DOMIT, L. A.; VIEIRA, O. V. **Indicação da cultivar de Soja BRS 216 para o estado de São Paulo.** In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, Londrina, p. 51-52, 2003a.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; SIMÃO, A. S.; KIKUCHI, A. **Efeitos de genótipos, ambientes e de tratamentos hidrotérmicos na concentração de isoflavonas**

agliconas em grãos de soja. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 38, n. 8, p. 897-902, 2003b.

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; BERHOW, M., MANDARINO, J.M.G., OLIVEIRA, M.C.N. **Environmental and genetic variation of isoflavone content of soybean seeds grown in Brazil.** Pesquisa Agropecuária Brasileira , Brasília, v.44, n.11, p.1444-1451, 2009a.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; PIPOLO, A.; MANDARINO, J. M. G.; ARANTES, N. E.; BENASSI, V. de T.; ARIAS, C. A.; KASTER, M.; OLIVEIRA, M. F.; TOLEDO, J. F. F.; CARNEIRO, G.; **Breeding specialty soybean cultivars for processing and value-added utilization at Embrapa in Brazil**. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 8. 2009, Beijing. Abstracts for oral presentations and posters...Beijing: The Chinese Academy of Agricultural Sciences, 113p., 2009b.

CARRÃO-PANIZZI, M.C.; SILVA, J.B. **Soja na alimentação humana: qualidade na produção de grãos com valor agregado.** In: CONGRESO DE LA SOJA DEL MERCOSUR - MERCOSOJA, 5., 2011, Rosário. Resumos. Rosário: Asociacións de la Cadena de la Soja Argentina (ACSOJA), p. 1-3, 2011.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; BERTAGNOLLI, P. F.; STRIEDER, M. L.; COSTAMILAN, L. M.; MOREIRA, J. U. V. **Melhoramento de Soja para Alimentação Humana na Embrapa Trigo – Safra Agrícola 2011/2012**. Passo Fundo/RS. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Trigo. ISSN 1516-5582, p. 27-31, 2012.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4. ed. Jaboticabal: Funep, 588p., 2000.

CASSIDY, A; HANLEY, B; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. **Isoflavones, lignans and stilbenes: origins, mettabolism and potencial importance to human health.** Journal Science Food Agrícola, v. 80, p. 1044-1062, 2000.

CHIARELLO, M. D.; CUERROUÉ, J. L.; CHAGAS, C. M. N.; FRANCO,O. L.; BIANCHINI, E.; JOÃO, M. J. **Influence of heat treatment and grain germination on the isoflavone profile of soy milk.** Journal of Food Biochemistry, Westport, v. 30, n. 2, p. 234-247, 2006.

CIABOTTI, S.; BARCELOS, M. F. P.; PINHEIRO, A. C. M.; MANDARINO, J. M. G.; TARONE. **Avaliações químicas e bioquímicas dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de lipoxigenase.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 30, n. 5, p. 920-929, 2006.

CONAB – Companhia Nacional de Abastacimento. Grãos, Safra 2014/2015 . Décimo levantamento, julho 2015. Diponível em: <http://www.conab.gov.br> Acesso em: 13 de setembro, 2015.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Grãos, Safra 2008/2009 sétimo levantamento. Diponível em: <http://www.conab.gov.br> Acesso em: 12 de novembro, 2015.

DEAK, N. A.; JOHNSON, L. A. **Fate of Phytic Acid in producing soy protein ingredients.** Journal of American Oil Chemistry Society**,** v. 84, p. 369-376, 2007.

DONANGELO, C. M.; TRUGO, L. C.; TRUGO, N. M. F.; EQQUM, B. O. **Effect of germination of legume seeds on chemical composition and on protein and energy utilization in rats**. Food Chemistry, v. 53, p. 23-27, 1995.

DONG, X.; XU, W.; SIKES, R. A.; WU, C. **Combination of low dose of genistein and daidzein has synergistic preventive effects on isogenic human prostate cancer cells when compared with individual soy isoflavone.** Food Chemistry, v. 141, p. 1923- 1933, 2013.

ELLIS, R.; MORRIS, R. **Appropriate resin selection for rapid phytate analysis by ion-exchange chomatography.** Cereal Chemistry, v. 63, p. 58-59,1986.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivares de soja 2004/2005: Região Centro-Sul.** Embrapa Soja: Fundação Meridional, Londrina, Paraná, n. 249, 2005.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Soja. **Soja: Diferentes usos grãos**, Londrina, Paraná. Disponível em: < http://www.cnpso.embrapa.br> Acesso em 09 de fevereiro de 2015.

EMATER – Empresa Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural. **Cultivo de Brotos.** Curitiba: Emater/Seab, Apostila técnica, 48p., 2007.

FEBLES, C. I.; ARIAS, A.; HARDISSON, A.; RODRIGUEZ-ALVAREZ, C.; SIERRA, A. **Phytic acid level in wheat flours.** Journal of Cereal Science, v. 36, p. 19-23, 2002.

FELIX, M. A.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. **Disponibilidade de ferro *in vitro* de grãos de soja tostados por diferentes tratamentos.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 28, p. 78-83, 2008.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 323 p.,2004.

FERREIRA, M. P.; OLIVEIRA, M. C. N.; MANDARINO, J. M. G.; SILVA, J. B.; IDA, E. I.; CARRÃO-PANIZZI, M. C. **Changes in the isoflavone profile and in the chemical composition of tempeh during processing and refrigeration**. Pesquisa agropecuária brasileira, v. 46, n. 11, p. 1555-1561, 2011.

FUKUJI, T. S. **Ácido fítico de germe de milho híbrido e produtos derivados: processo de purificação e caracterização química parcial.** Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-Paraná, 2005.

GALÃO, O. F.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G.; LEITE, R. L. **Teor de isoflavonas em vinte cultivares de soja semeadas em Londrina e Ponta Grossa**. In: V Jornada Acadêmica da Embrapa Soja. Documentos, 323, Embrapa Soja, p. 127-129, 2009.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. **Fatores antinutricionais da soja.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 27, n. 230, p. 28-33, 2006.

HE, F. J.; CHEN, J. Q.; **Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms.** Food Science and Human Wellness, v. 2, p.146–161, 2013.

HOECK, J. A.; FEHR, W. R.; MUHRPHY, P. A.; WELKE, G. A**. Influence of genotype and environment on isoflavone contents of soybean**. Crop Science, v. 40, n. 1, p. 48-51, 2000.

HSIEH, H. C.; KAO, T. H.; CHEN, B. H. A. **Fast HPLC Method for Analysis of Isoflavones in Soybean.** Journal of Liquid Chromatography e Related Technologies, v. 27, n. 2, p. 315-324, 2005.

HUANG, X.; CAI, W.; XU, B. **Kinetic changes of nutrients and antioxidant capacities of germinated soybean *(Glycine max L.)* and mung bean *(Vigna radiata L.)* with germination time.** Food Chemistry, v. 143, p. 268-276, 2014.

JIAO, J.; YEE, B. C.; KOBREHEL, K.; BUCHANAN, B. B**. Effect of thioredoxin-linked reduction on the activity and stability of the Kunitz and bowman-birk soybean trypsin inhibitor proteins.** Journal Agricultural and Food Chemistry, Easton, v. 40, n. 12, p. 2333-2336, 1992.

KAKADE, M. L.; RACKIS, J.J.; MCGHEE, J.E.; PUSKI, G. **Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of na improved procedure.** Cereal Chemistry, v. 51, p. 376-383, 1974.

KARR-LILIENTHALA. L. K.; KADZEREB, C. T.; GRIESHOPC, C. M.; FAHEY JR, G. C. **Chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants: a review**. Livestock Production Science, v. 97, n. 1, p. 1-12, 2005.

KIM, W. J.; LEE, H. Y.; WON, M. H.; YOO, S. H**. Germination effect of soybean on its contents of isoflavonas and oligosaccharides**. Food Science and biotechnology, v. 14, n. 4, p. 498-502, 2005.

KUMAR, A.; CHAUHAN, B. M. **Chemical composition and utilization of pearl millet sprouts.** Nahrung, v. 37, n. 4, p. 356-363, 1993.

KUMAR, V.; RANI, A.; RAJPAL, S.; SRIVASTAVA, G.; RAMESH, A.; JOSHI, O. P. **Phytic acid in Indian soybean: genotypic variability and infl uence oh growing location**. J. Sci. Food Agric., London, v. 86, n. 9, p. 1523-1526, 2005.

KUMAR, V.; RANI, A.; PANDEY, V.; CHAUHAN, G. S. **Changes in lipoxygenase isozymes and trypsin inhibitor activity in soybean during germination at different temperatures.** Food Chemistry, v.99, p. 563-568, 2006.

LATTA, M.; ESKIN, M. **A simple and rapid method for phitate determination.** Journal Agriculture Food Chemistry, v. 28, p. 313-315, 1980.

LAZZARI, E. N. **Análise de ácido fítico e minerais nos processos de maceração e cocção de soja**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2006.

LIU, K. **Soybeans as functional foods and ingredients**, Champaign: AOCS Press, 331p., 2004.

LIU, K. **Food use of whole soybeans**. In: LAWRENCE, A. J.; WHITE, P. J.;GALLOWAY, R. Soybeans Chemistry, Production, Processing, and Utilization, Urbana: AOCS Press, p.441-482, 2008.

LIMA, A. L. **Produção de brotos de fabaceae para o consumo humano.** Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2006.

LOURES, N. T. P.; NÓBREGA, L. H. P.; COELHO, S. R. M**. Análise físico-química, microbiológica e sensorial de brotos de lentilha da variedade PRECOZ.** Acta Scientiarum. Agronomy, Maringá, v. 31, n. 4, p. 599-606, 2009**.**

MANDARINO, J. M. G. **Compostos antinutricionais da soja: caracterização e propriedades funcionais.** In: COSTA, Neuza. M. B.; ROSA, Carla. O. B. Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos. Rio de Janeiro: Rubio, p. 177-192, 2010.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 495p., 2005.

MARTINEZ, A. P. C.; MARTINEZ, P. C. C.; SOUZA, M. C.; BRAZACA, S. G. C. **Alterações químicas em grãos de soja durante a germinação.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 31, n. 1, p. 23-30, 2011.

MINUZZI, A.; RANGEL, M. A. S.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; MORA, F.; ROBAINA, A. D. **Rendimento de teores de óleo e proteínas de quatro cultivares de soja, produzidas em dois locais no estado do Mato Grosso do Sul**. Ciência e Agrotecnologia, v. 33, n. 4, p. 80-93, 2009.

MONTEIRO, M. R. P.; COSTA, N. M. B; OLIVEIRA, M. G. A.; PIRES, C. V.; MOREIRA, M. A. **Qualidade proteica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina kunitz e das isoenzimas lipoxigenases**. Revista de Nutrição, v. 17, n. 2, p. 195-205, 2004.

MORAES, 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.** Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v. 41, n. 5, p. 725-729, 2006.

MOREIRA, A. A; MANDARINO, J. M. G.; NEVES-SOUZA, R. D.; LEITE, R. S.; OLIVEIRA, M .A. **Teor de ácido fítico em cultivares de soja cultivados em diferentes regiões dos estados do Paraná e São Paulo.** Alimentos e Nutrição, Araraquara v. 23, n. 3, p. 393-398, 2012.

OLIVEIRA, M. A.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G. ; LEITE, R. S. **Produção de brotos de soja utilizando a cultivar BRS 216: racterização físico-química e teste de aceitabilidade. Revista Food Technology,** Campinas, v. 16, n. 1, p. 34-41, 2013.

PAIVA, B. M.; ALVES, R. M.; HELENO, N. M. **Aspecto socioeconômico da soja.** Revista Informe Agropecuário, v.27 n.230, p.7-14, Belo Horizonte-MG, 2006.

PAUCAR-MENACHO, L. M.; BERHOW, M. A.; MANDARINO, J. M. G.; CHANG, Y. K.; MEJIA, E. G. **Effect of time and temperature on bioactive compounds in germinated Brazilian soybean cultivar BRS 258.** Food Research International, p. 1856-1865, 2010.

PEREIRA NETO, L. G. **Germinação de sementes de soja armazenadas em bancos de germoplasmas.** Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 2004.

PERINI, L. J**. Caracterização agronômica e seleção de linhagens de soja destinadas ao consumo humano.** Dissertação (Programa de pós-graduação em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

PINTO, M. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I**. Effect of storage temperature and water activity on the content and profile of isoflavones, antioxidant activity, and in vitro protein digestibility of soy protein isolates and defatted soy flours.** Journal of Agricultural Food Chemistry, v. 53, p. 6340-6346, 2005.

RAMADAN, E. A. **Effect of processing and cooking methods on the chemical composition, sugar and phytic acid of soybeans**. Food and Public Health, v. 2, n. 1, p. 11-15, 2012.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L. L. A. **Biodisponibilidade de zinco e de ferro, valor nutricional e funcional de diferentes cultivares de feijão comum submetidos a tratamentos domésticos**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biology of plants.** 6.ed. New York, Freeman and Company, 1999.

RIAZ, M. N. **Soy Applications in Foods**. London: CRC Taylor and Francis, p. 39-226, 2006.

REDDY, N. R.; SATHE, S.K. **Occurence, distribution, content, and dietary intake of phytate.** Food Phytates, Florida: CRC Press, 280p., 2001.

RIGO, A. A.; DAHMER, A. M.; STEFFENS, C.; STEFFENS, J. **Characterization of Soybean Cultivars Genetically Improved for Human Consumption.** International Journal of Food Engineering, v. 1, n. 1, 2015.

RIBEIRO, M. L. L.; MANDARINO, J. M. G.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; OLIVEIRA, M. C. N.; CAMPO, C. B. H.; NEPOMUCENO, A. L.; IDA, E. I. **β-glucosidase activity and isoflavone content in germinated soy bean radicles and cotyledons.** Journal of Food Biochemistry, v. 30, p. 453-465, 2006.

ROSTAGNO, M. A.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. **Short-term stability of soy isoflavones extracts: Sample conservation aspects.** Food Chemistry, v. 93, n. 3, p. 557-564, 2005.

RUZYDI, M. R.; NORALIZA, C. W.; AZRINA, A.; ZULKHAIRI, A. **Nutritional changes in germinated legumes and rice varieties.** International Food Research Journal, v. 18, p. 705- 713, 2011.

SANGRONIS, E.; MACHADO, C. J. **Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan***. Food Science and Tecnology, v. 40, p. 116-120, 2007.

SANTOS, E. L.; PÓLA, J. N.; BARROS, A. S. R.; PRETE, C. E. C. **Qualidade fisiológica e composição química das sementes de soja com variação na cor do tegumento.** Revista Brasileira de Sementes, Londrina, v. 29, n. 1, p. 20-26, 2007.

SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina, Paraná: Mecenas, v. 1, 314p., 2009.

SIDDHURAJU, P.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER. K. **The effect of ionizing radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food.** Food Chemistry, v. 78, n. 2, p.187-205, 2002.

SILVA, M. S.; NAVES, M. M. V.; OLIVEIRA, R. B.; LEITE, O. S. M**. Composição química e valor proteico de resíduo de soja em relação ao grão de soja.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, n. 3, p. 571-576, 2006.

SILVA, J. B. **Características de cultivares de soja convencionais e para consumo humano: análises físicas, químicas e sensoriais (sentidos humano e sensores eletrônicos).** Tese de Doutorado (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina/Paraná, 2009.

SILVA, C. O.; ANDRADE, G. F.; DANTAS, M. I. S.; COSTA, N. M. B.; PELUZIO, M. C. G.; FONTES, E. A. F.; MARTINO, H. S. D. **Influência do processamento na qualidade proteica de novos cultivares de soja destinados à alimentação humana**. Revista de Nutrição, Campinas, v. 23, n. 3, p. 389-397, 2010.

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – 4ª edição revisada e ampliada, Campinas – São Paulo, 2011.

THOMPSON, L. U.; ZHANG, L. **Phytic acid and minerals: effect on early markers of food products of cereals and colon carcinogenesis.** Carcinogenesis, New York, v. 12, p. 2041-2045, 1991.

TONIOLO, L.; MOSCA, G. **O cultivo da soja**. Lisboa: Presença, 95p., 1991.

TSUKAMOTO, C.; SHIMADA, S.; IGITA, K.; KUDOU, S.; KOKUBUN, M.; OKUBO, K. **Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: changes in isoflavones, saponins, and composition of fatty acids at different temperatures during seed development.** Journal of Agricultural and Foo Chemistry, v. 43, p. 1184-1192, 1995.

VELLO, N. A. **Ampliação da base genética do germoplasma e melhoramento da soja na ESALQ-USP**. In: SIMPÓSIO SOBRE CULTURA E PRODUTIVIDADE DA SOJA, 1., 1991, Piracicaba. Anais. Piracicaba : FEALQ, p.60-81, 1992.

VEN, C.; MATSER, A. M.; BERG, R. W. **Inactivation of Soybean Trypsin Inhibitors and Lipoxygenase by High-Pressure Processing**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, n. 4, p. 1087-1092, 2005.

VIEIRA, R. F.; LOPES, J. D. S. **Produção de Brotos Comestíveis: Feijão Moyashi, Alfafa, Trevo, Rabanete e Brócolis**. Viçosa: CPT, 108p., 2001.

VIEIRA, R. F. **Cultura do feijão-mungo**. Informe Agropecuário**,** v. 16, n. 174, p. 37-46, 1992.

VILAS BOAS, E. V. B.; BARCELOS, M. F. P.; LIMA, M. A. C. **Tempo de germinação e característica físicas, químicas e sensoriais dos brotos de soja e de milho combinado nas formas isoladas e combinadas.** Ciência e Agrotecnologia, v. 26, n. 1, p. 148-156, 2002.

VILLALVA, M. M. H. **Modificação química para obtenção de um isolado proteico de soja com solubilidade semelhante à da caseína humana.** Dissertação (Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Campus de Viçosa, 2008.

WADA, K.; NAKAMURA, K.; TAMAI, Y.; TSUJI, M.; KAWACHI, T.; HORI, A.; TAKEYAMA, N.; TANABASHI, S.; MATSUSHITA, S.; TOKIMITSU, N.; NAGATA, C**. Soy isoflavone intake and breast cancer risk in Japan: from the Takayama study.** International Journal of Cancer, v. 133, p. 952-960, 2013.

WANG, C. Y.; SHERRAND, M.; PAGADALA, S.; WIXON, R.; SCOTT, R. A. **Isoflavone content among maturity group 0 to II soybeans.** Journal of the American oil Chemists Society, v. 77, n. 5, p. 483-487, 2000.

WEAVER, C. M.; KANNAN, S. **Phytate and mineral bioavailability**. In: REDDY, N. R.; SATHE, S. K. (Eds.). Food phytates Florida: CRC, p. 211-223, 2002.

WEGULO, S. N.; YANG, X.-B.; MARTINSON, C. A.; MURPHY, P. A. **Effects of wounding and inoculation with Sclerotinia sclerotiorumon isoflavone concentrations in soybean.** Canadian Journal of Plant Science, v. 85, p. 749-760, 2005.

XU, B. J.; CHANG, S. K. C. **Total phenolics, phenolic acids, isoflavonas, and anthocyanins and antioxidant properties of yellow and black soy beans as affected by thermal processing.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 56, p. 7165-7175, 2008.

YOKOMIZO, G. K.; DUARTE, J. B.; VELLO, N. A. **Correlações fenotípicas entre tamanho de grãos e outros caracteres em topocruzamentos de soja tipo alimento com tipo grão.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 35, n. 11, p. 2235-2241, 2000.

YOSHIARA, L. Y.; MADEIRA, T. B.; RIBEIRO, M. L. L.; MANDARINO, J. M. G.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; IDA, E. I. **β-glucosidase activity of soybean (*Glycine max*) embryonic axis germinated in the presence or absence of light.** Journal of Food Biochemistry, v. 36, p. 699-705, 2012.

ZHU, D.; HETTIARACHCHY, N. S.; HORAX, R.; CHEN, P. **Isoflavone contents in germinated soybean seeds.** Plant Foods for Human Nutrition, Dordrecht, v. 60, n. 3, p. 147-151, 2005.