

GLÁUCIA FERREIRA ANDRADE

**EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE FARINHA
INTEGRAL DE SOJA DO CULTIVAR UFVTN 105AP EM RATOS
ALIMENTADOS COM DIETAS EQUILIBRADA E OBESOGÊNICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010**

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

T

A553e
2010

Andrade, Gláucia Ferreira, 1984-
Efeitos metabólicos da ingestão de farinha integral de
soja do cultivar UFVTN 105AP em ratos alimentados com
dieta equilibrada e obesogênica / Gláucia Ferreira Andrade.
– Viçosa, MG, 2010.
xiii, 85f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui anexo.

Orientador : Hércia Stampini Duarte Martino.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Glycine max.* 2. Soja. 3. Farinha de soja. 4. Soja -
Análise. 5. Alimentos - Teor proteico. 6. Soja - Qualidade.
7. Ratos como animal de laboratório. 8. Obesidade.
9. Lipídios do sangue. 10. Stress oxidativo. I. Universidade
Federal de Viçosa. II. Título.

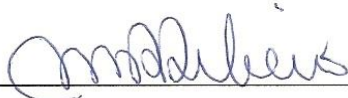
CDD 22. ed. 613.2

GLÁUCIA FERREIRA ANDRADE

**EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE FARINHA
INTEGRAL DE SOJA DO CULTIVAR UFVTN 105AP EM RATOS
ALIMENTADOS COM DIETAS EQUILIBRADA E OBESOGÊNICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

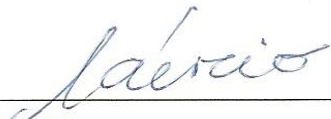
APROVADA: 04 de agosto de 2010



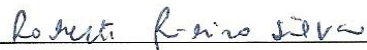
Prof.ª Sônia Machado Rocha Ribeiro
(Coorientadora)



Prof.ª Neuza Maria Brunoro Costa
(Coorientadora)



Prof. Laércio dos Anjos Benjamim



Prof.ª Roberta Ribeiro Silva



Prof.ª Hércia Stampini Duarte Martino
(Orientadora)

Dedico este trabalho...

Aos meus queridos pais, Cléber e Aidê, que sempre me estimularam
a dar este grande passo, estando sempre ao meu lado
nos momentos difíceis e me aplaudindo
nos momentos de glória.
Meu eterno agradecimento!

AGRADECIMENTOS

À *DEUS* que me concedeu o dom da vida e me deu forças para concluir essa etapa.

À Hércia Stampini, pela orientação, oportunidade, carinho, apoio e amizade. Minha mais profunda admiração e gratidão.

À Ana Cristina, que me ajudou em todas as etapas da pesquisa, compartilhando o cansaço, as dúvidas, as análises de laboratório e também pelos momentos de descontrações e risadas.

Ao Laércio dos Anjos, Sônia Machado e Neuza Brunoro, pelas contribuições, orientação, sugestões e ajuda no decorrer desse trabalho.

Às estagiárias Crislaine, Bárbara e Carla pela ajuda na realização deste trabalho.

Ao Paulo pela ajuda na histologia.

Aos técnicos de laboratório Cassiano, Eduardo e Sandra pela ajuda em algumas análises.

Aos colegas de laboratórios: Vanessa, Júlia, Damiana, Érica, Vânia, Gilson, Frederico e Bruno pelas contribuições e pela convivência.

Aos meus pais, Cléber e Aidê, que me ampararam nos momentos de desespero e nervosismo e foram fundamentais para que eu pudesse conciliar o trabalho e o estudo.

À Raquel Duarte, pela amizade e pelos momentos de descontração.

Ao Helder, por todo carinho, amor, companheirismo, incentivo, compreensão e paciência.

Ao meu irmão, Júnior, pela amizade, torcida e incentivo.

Aos funcionários da Secretaria de Saúde e Educação da Prefeitura Municipal de Paula Cândido, MG pela amizade, apoio e compreensão.

Ao CNPq pela concessão de bolsa parcial de estudos.

Aos meus avós e tios que torceram por mim.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

“De tudo, ficaram três coisas:
a certeza de que estamos sempre começando...
a certeza de que é preciso continuar...
a certeza de que seremos interrompidos antes de terminar...”
(Fernando Sabino)

BIOGRAFIA

Gláucia Ferreira Andrade, filha de Cléber Teixeira Andrade e Aidê da Silva Ferreira Andrade, nasceu em 02 de agosto de 1984, na cidade de Viçosa, Minas Gerais.

Iniciou o Curso de Nutrição na Universidade Federal de Viçosa - MG em março de 2003, concluindo-o em janeiro de 2008.

Em agosto de 2008 iniciou o Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em agosto de 2010.

Em fevereiro de 2009, foi contratada como nutricionista da Secretaria Municipal de Saúde de Paula Cândido, MG, sendo, em março de 2010, transferida, como concursada, para a Secretaria Municipal de Educação do mesmo município onde trabalha atualmente.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS E SIGLAS	viii
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. Referências bibliográficas	3
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Geral	5
2.2. Específicos.....	5
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Histórico da soja	6
3.2. Estrutura e composição da soja	7
3.2.1. Proteína de soja	8
3.2.2. Lipídios e ácidos graxos	8
3.2.3. Carboidratos e fibras alimentares.....	9
3.2.4. Isoflavonas	9
3.2.5. Vitamina E	11
3.2.6. Ácido fítico	11
3.3. Compostos antinutricionais presentes na soja	12
3.4. Compostos bioativos da soja e fatores de risco para DCNT.....	13
3.4.1. Dislipidemia	13
3.4.2. Peroxidação de lipídios	16
3.4.3. Controle glicêmico	17
3.5. Dieta de Cafeteria	18
3.6. Farinha de soja do cultivar UFVTN 105AP	19
3.7. Referências bibliográficas.....	21
4. ARTIGOS	
4.1. ARTIGO 1: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E VALOR NUTRICIONAL DE FARINHA INTEGRAL DE SOJA DO NOVO CULTIVAR UFVTN 105AP	31
Resumo	31
4.1.1. Introdução	32
4.1.2. Materiais e métodos	33
4.1.3. Resultados	39

4.1.4. Discussão	42
4.1.5. Conclusão	44
4.1.6. Referências Bibliográficas	45
4.2. ARTIGO 2: EFEITO METABÓLICO DA INGESTÃO DE FARINHA INTEGRAL DE SOJA DO CULTIVAR UFVTN 105AP EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETAS EQUILIBRADA E OBESOGÊNICA	48
Resumo	48
4.2.1. Introdução	50
4.2.2. Materiais e métodos	51
4.2.3. Resultados	62
4.2.4. Discussão	68
4.2.5. Conclusão	73
4.2.6. Referências Bibliográficas	74
5. CONCLUSÃO GERAL	82
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
7. ANEXO	84
7.1. Aprovação do projeto pelo comitê de ética na experimentação animal (CETEA) da UFMG.....	85

ABREVIATURAS E SIGLAS

- AIN-93M: Dieta da *American Institute of Nutrition para animais adultos (em fase de manutenção) for maintenance*
- ALT: Alanina aminotransferase
- ANOVA: Análise de Variância
- AOAC: *Association of Official Analytical Chemists*
- AST: Aspartato aminotransferase
- AV: Altura das vilosidades do duodeno
- BHT: Butilhidroxitoluol
- BIOAGRO: Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária
- CAF: Dieta de cafeteria
- CAFS: Dieta de cafeteria com farinha integral de soja
- CEA: Coeficiente de Eficiência Alimentar
- CETEA: Comitê de Ética para Animais de Experimentação
- CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência
- DCNT: Doenças crônicas não transmissíveis
- DCV: Doenças cardiovasculares
- DP: Desvio padrão
- EME: Espessura da camada muscular externa do duodeno
- EMI: Espessura da camada muscular interna do duodeno
- EUA: Estados Unidos da América
- GH: Gordura hepática
- HbG: Hemoglobina glicada
- HDL-c: Lipoproteína de alta densidade
- HMG-CoA-redutase: 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase
- HPLC: Cromatógrafo líquido de alta eficiência
- IHS: Índices hepatossomático
- IOM: *Institute of Medicine*
- IP3: Inositol trifosfato
- IP4: Inositol tetrafosfato
- IP5: Inositol Pentafosfato
- IP6: Inositol Hexafosfato
- LDL-c: Lipoproteína de baixa densidade
- LOX: Lipoxigenase

MDA: Malondialdeído

NPR: Razão Protéica Líquida

PC: Profundidade das criptas do duodeno

PDCAAS: Escore químico corrigido pela digestibilidade

PER: Razão da Eficiência Protéica

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

SAEG: Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas

TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

UI: Unidade internacional

α – T: alfa - tocoferol

γ – T: delta - tocoferol

δ – T: gama - tocoferol

RESUMO

ANDRADE, Gláucia Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto, 2010.
Efeitos metabólicos da ingestão de farinha integral de soja do cultivar UFVTN 105AP em ratos alimentados com dieta equilibrada e obesogênica.
Orientadora: Hércia Stampini Duarte Martino. Co-orientadores: Sônia Machado Rocha Ribeiro e Neuza Maria Brunoro Costa.

Com o melhoramento genético, surgem novos cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com sabor melhorado e com composição química modificada, conduzindo à necessidade de estudos para avaliar a concentração de nutrientes e seus efeitos metabólicos no organismo. Nesse estudo avaliou-se a composição centesimal, o perfil de ácidos graxos, a concentração de inositolis fosfato, de isoflavonas, de vitamina E e isômeros da farinha integral de soja. O seu efeito metabólico foi avaliado em ratos machos *Wistar* adultos distribuídos em cinco grupos (n=10), durante 56 dias. O grupo controle recebeu dieta AIN-93M, os grupos testes receberam dietas com substituição de 100% (100% PS) e 50% (50% PS) da caseína por proteína da farinha integral de soja, dieta de cafeteria (CAF) e dieta de cafeteria com farinha integral de soja (CAFS). Foram avaliados o ganho de peso dos animais e o consumo alimentar; a concentração sérica de triglicerídeos, colesterol total, HDL-c, hemoglobina glicada, aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferase; a concentração de TBARS no soro, fígado, pulmão, testículo e rins; o teor de lipídios nas fezes e o peso do fígado. Foi calculada a quantidade de gordura por área no fígado e a histomorfometria do duodeno. A farinha integral de soja apresentou 43,1% de proteína, 18,6% de lipídios, 12,9% de carboidratos e 9,9% de fibra alimentar, sendo 8,5% da fração insolúvel. Foi encontrado em maior concentração ácido graxo linoléico, mioinositol hexafosfato e γ -tocoferol. Dentre as isoflavonas, observou-se maior concentração de genistina e daidzina na forma de malonil e glicosídeos e menor concentração das agliconas. Não foi observado diferença ($p < 0,05$) no ganho de peso entre os grupos experimentais, mas o consumo alimentar foi menor ($p < 0,05$) nos grupos CAF e CAFS. O nível sérico de colesterol total no grupo AIN-93M não diferiu ($p > 0,05$) dos grupos 50% PS e CAFS e foi menor ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAF. Porém o grupo CAF não diferiu ($p < 0,05$) dos grupos 50% PS e CAFS. Os níveis séricos de HDL-c foram menores ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS, CAF e CAFS, e maiores ($p < 0,05$) nos grupos AIN-93M e 50% PS. Os níveis de triglicerídeos sanguíneos foram menores ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAFS. Porém, o grupo CAFS não diferiu ($p > 0,05$) dos grupos AIN-93M, 50% PS e CAF. Os grupos CAF e CAFS apresentaram maiores ($p < 0,05$) níveis séricos de hemoglobina glicada. A excreção fecal de lipídios foi maior

($p < 0,05$) nos grupos CAF e CAFS, e menor ($p < 0,05$) no grupo AIN-93M. O grupo 100% PS apresentou aumento da excreção fecal de lipídios comparado aos grupos AIN-93M e 50% PS. A porcentagem de gordura no fígado foi maior ($p < 0,05$) no grupo 100% PS e menor ($p < 0,05$) no grupo CAFS. Os níveis séricos de AST não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais e de ALT foram maiores ($p < 0,05$) nos grupos CAF e CAFS. A concentração de TBARS no soro foi menor ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAF e maior ($p < 0,05$) nos grupos AIN-93M e CAFS. Os grupos CAF e CAFS apresentaram maior ($p < 0,05$) concentração de TBARS no fígado. A concentração de TBARS no pulmão foi maior ($p < 0,05$) no grupo CAFS. A concentração de TBARS no testículo foi maior ($p < 0,05$) nos grupos 50% PS, CAFS e CAF e menor ($p < 0,05$) nos grupos AIN-93M e 100% PS. A concentração de TBARS no rim foi maior ($p < 0,05$) no grupo CAF. A altura das vilosidades do duodeno foi maior ($p < 0,05$) no grupo AIN-93M e menor ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAF. A medida da profundidade das criptas foi maior ($p < 0,05$) nos grupos CAF e CAFS. A medida da espessura da camada muscular externa do duodeno foi maior ($p < 0,05$) no grupo CAFS. A medida da espessura da camada muscular interna do duodeno do grupo CAFS foi superior ($p < 0,05$) aos grupos AIN-93M, 100% PS e CAF e não diferiu do grupo 50% PS. O novo cultivar de soja apresentou elevado teor de proteína, de isoflavonas e de ácidos graxos poliinsaturados. A farinha integral de soja apresentou efeito na prevenção de alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares quando ingerida junto à dieta equilibrada, devido à sua ação hipolipidêmica, a capacidade de reduzir a peroxidação lipídica no soro e não causou danos hepáticos. Porém, não apresentou esse efeito preventivo quando ingerida com uma dieta obesogênica. A farinha integral de soja reduziu as vilosidades intestinais na dieta equilibrada indicando que ela pode causar efeitos prejudiciais sobre a absorção no intestino.

ABSTRACT

ANDRADE, Gláucia Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2010.
Metabolic effects of intake of whole soy flour from the cultivar UFVTN 105AP in rats fed a balanced and obesogenic diet. Adviser: Hércia Stampini Duarte Martino. Co-advisers: Sônia Machado Rocha Ribeiro and Neuza Maria Brunoro Costa.

New cultivars of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) with improved flavor and chemical composition have resulted from breeding. It demands studies to evaluate the concentration of nutrients and their metabolic effects on the body. In this study, assessments were carried out on the composition, fatty acid profile, and concentration of inositol phosphate, isoflavones, vitamin E and isomers of soybean flour. The metabolic effect was assessed in adult male *Wistar* rats divided into five groups (n = 10), during 56 days. The control group received AIN-93M, the test groups were fed diets with replacement of 100% (100% PS) and 50% (50% PS) of casein by protein from soybean flour, cafeteria diet (CAF) and cafeteria diet with soybean flour (CAFS). We evaluated the weight gain of animals and food intake, serum triglyceride concentration, cholesterol, HDL-c, glycated hemoglobin, aspartate (AST) and alanine aminotransferase (ALT); the concentration of TBARS in serum, liver, lung, testis and kidney; and fat content in feces and liver weight. The amount of fat in the liver area and histomorphometry of the duodenum were calculated. Soybean flour presented 43,1% of protein, 18,6% of lipids, 12,9% of carbohydrate, 9,9% of dietary fiber, and 8,5% of insoluble fraction. Higher concentrations of linoleic fatty acid, myo-inositol hexaphosphate and γ -tocopherol were found. Among the isoflavones, it was observed a higher concentration of genistein and daidzein in the form of malonyl and glucosides, and lower concentrations of aglycones. No differences were observed ($p < 0,05$) in weight gain among the groups, but food intake was lower ($p < 0,05$) for CAF and CAFS. Serum levels of cholesterol in the AIN-93M group did not differ ($p > 0,05$) from the groups 50% PS and CAFS, and it was lower ($p < 0,05$) for 100% PS and CAF. However, CAF did not differ ($p < 0,05$) from the groups and 50% PS CAFS. Serum HDL-C levels were lower ($p < 0,05$) for 100% PS, CAF and CAFS, and higher ($p < 0,05$) for AIN-93M and 50% PS. The levels of triglyceride were lower ($p < 0,05$) for 100% PS and CAFS. However, CAFS did not differ ($p > 0,05$) from the groups AIN-93M, 50% PS and CAF. The groups CAF and CAFS presented higher ($p < 0,05$) serum levels of glycated hemoglobin. Fecal excretion of fat was higher ($p < 0,05$) for CAF and CAFS, and lower ($p < 0,05$) for AIN-93M. The group 100% PS

presented increased fecal excretion of lipids compared to AIN-93M and 50% PS. The percentage of liver fat was higher ($p < 0,05$) in PS and 100% and lower ($p < 0,05$) in CAFS. Serum levels of AST did not differ ($p > 0,05$) among the experimental groups, while serum ALT levels were higher ($p < 0,05$) for CAF and CAFS. The concentration of TBARS in serum was lower ($p < 0,05$) for 100% PS and CAF, and higher ($p < 0,05$) for AIN-93M and CAFS. The groups CAF and CAFS presented higher ($p < 0,05$) TBARS concentration in the liver. The concentration of TBARS in the lungs was higher ($p < 0,05$) in CAFS. The TBARS concentration in the testis was higher ($p < 0,05$) for 50% PS, CAF and CAFS, and lower ($p < 0,05$) for AIN-93M and 100% PS. The concentration of TBARS in kidney was higher ($p < 0,05$) for CAF. The height of the villi of the duodenum was higher ($p < 0,05$) for AIN-93M and smaller ($p < 0,05$) for 100% PS and CAF. The measurement of crypt depth was higher ($p < 0,05$) for CAF and CAFS. The measurement of the thickness of the outer muscle layer of the duodenum was higher ($p < 0,05$) in CAFS. The measurement of the thickness of the inner muscular layer of duodenum group CAFS was higher ($p < 0,05$) for the groups AIN-93M, 100% PS and CAF and did not differ from 50% PS. The new cultivar presented high levels of protein, isoflavones and polyunsaturated fatty acids. Soybean flour was effective in preventing some risk factors for cardiovascular diseases when ingested with the diet, due to its hypolipidemic action and the ability to reduce lipid peroxidation in serum. Besides, it did not cause liver damage. However, this preventive effect was not observed when it was ingested with a obesogenic diet. Soybean flour in the balanced diet reduced the intestinal villi, indicating that it may have detrimental effects on the absorption in the intestine.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os hábitos de vida modernos afetam vários países que vivenciam uma transição dos padrões nutricionais, inclusive o Brasil. A desnutrição dá lugar à obesidade, que é um dos principais fatores de risco para inúmeras doenças prevalentes na sociedade moderna, incluindo dislipidemias e diabetes mellitus tipo 2, duas condições intimamente relacionadas com doenças cardiovasculares (PEREIRA *et al.*, 2003; DINELLI & MORAIS-PINTO, 2008). Contrariamente a esse aumento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), associado à obesidade, tem-se observado um aumento na expectativa de vida da população e uma maior preocupação da sociedade com a saúde e a estética, o que tem aumentado o interesse mundial pelos alimentos que possam causar benefícios à saúde (PENHA *et al.*, 2007).

É nessa perspectiva que a soja tem sido amplamente estudada como um alimento funcional, pois além da elevada concentração e qualidade de sua proteína, contém compostos bioativos que apresentam efeitos biológicos benéficos à saúde humana (DEMONTY *et al.*, 2002; WILSON *et al.*, 2007; XIAO, 2008), contribuindo para a redução dos fatores de risco de doenças cardiovasculares (DCV), diabetes mellitus tipo 2 e aterosclerose.

Vários estudos têm investigado o efeito da substituição da proteína animal por proteína de soja, e têm encontrado efeito positivo, especialmente no metabolismo de lipídios (ROSELL *et al.*, 2004; HOIE *et al.*, 2005; CHAGAS *et al.*, 2006; SAWASHITA, 2006; WILSON *et al.*, 2007; SIRTORI *et al.*, 2009). Algumas evidências mostraram-se favoráveis à ação direta da proteína e, ou peptídeos em lugar de outros componentes químicos presentes na soja (FUKUI *et al.*, 2004; SACKS *et al.*, 2006), e outras mostraram que o efeito hipocolesterolemizante da proteína de soja está associado à presença da isoflavonas (DEMONTY *et al.*, 2002; WILSON *et al.*, 2007), que também tem ação antioxidante, auxiliando na redução da peroxidação de lipídios (HENEMAN *et al.*, 2007; CEDERROTH & NEF, 2009; NAGARAJAN, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Os efeitos da proteína da soja e da isoflavona, têm sido investigados de forma isolada ou associados entre si, o que, muitas vezes, não demonstra a realidade do consumo da soja de forma integral, uma vez que a soja também contém fibras alimentares e ácidos graxos poliinsaturados, assim como fitatos, inibidores de proteases e lipoxigenase que apresentam propriedades antinutricionais e, ao mesmo tempo, funcionais.

O novo cultivar de soja UFVTN 105AP, destinado a alimentação humana, oferece elevada concentração de proteína e é isento das enzimas lipoxigenases com o intuito de melhorar as características sensoriais e nutricionais da soja. Com o desenvolvimento desse novo cultivar, surge a necessidade de avaliar os seus efeitos, benéficos ou adversos, no organismo associados à uma dieta equilibrada e obesogênica.

1.1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CEDERROTH, C.R.; NEF, S. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.304, p.30-42, 2009.

CHAGAS, C.M.A.; ABDALLA, D.S.P.; LIMAVERDE, S.M.M.; DAMASCENO, N.R.T. Influência do isolado protéico da soja e da caseína sobre a peroxidação lipídica. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.3, p.309-316, 2006.

DEMONTY, I.; LAMARCHE, B.; DESHAIES, Y.; JACQUES, H. Role of soy isoflavonas in the hypotriglyceridemic effect of soy protein in the rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, n.11, p.671-677, 2002.

DINELLI, M.I.S.; MORAIS-PINTO, M.I. Seroconversion to hepatitis B vaccine after weight reduction in obese non-responder. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.50, n.2, p.129-130, 2008.

FUKUY, K.; KOJIMA, M.; TACHIBANA, N.; KOHNO, M.; TAKAMATSU, K.; HIROTSUKA, M.; KITO, M. Effects of soybean β -conglycinin on hepatic lipid metabolism and fecal lipid excretion in normal adult rats. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.68, n.5, p.1153-1155, 2004.

HENEMAN, K.M.; CHANG, H.C.; PRIOR, R.L. STEINBERG, F.M. Soy protein with and without isoflavones fails to substantially increase postprandial antioxidant capacity. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, p.46-53, 2007.

HOIE, L. M.; GRAUBAUM, H. J.; HARDE, A.; GRUENWALD, J.; WERNECKE, K. D. Lipid-Lowering Effect protein soybean in human. **Advances In Natural Therapy**, v.22, n.2, p.175-189, 2005.

NAGARAJAN, S. Mechanisms of anti-atherosclerotic functions of soy-based diets. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v.21, p.355-260, 2010.

OLIVEIRA, T.T.; SILVA, R.R.; DORNAS, W.C.; NAGEM, T.J. Flavonóides e Aterosclerose. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.42, n.1, p.49-54, 2010.

PENHA, L.A.O.; FONSECA, I.C.B.; MANDARINO, J.M.; BENASSI, V.T. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.25, n.1, p.91-102, 2007.

PEREIRA, L.O.; FRANCISCHI, R.P.; JÚNIOR, A.H.L. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v.47, n.2, 2003.

ROSELL, M.S.; APPLEBY, P.N.; SPENCER, E.A.; KEY, T.J. Soy intake and blood cholesterol concentrations: a cross-sectional study of 1033 pre- and postmenopausal women in the Oxford arm of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. **American Journal Clinical Nutrition**, v.80, p.1391-1396, 2004.

SACKS, F.M.; LICHTENSTEIN, A.; VAN HORN, L.; HARRIS, W.; KRISTHERTON, P.; WINSTON, M. Soy Protein, Isoflavones, and Cardiovascular Health an American Heart Association Science Advisory for Professionals from the Nutrition Committee. **Circulation**, v.113, p.1034-1044, 2006.

SAWASHITA, N. Effect of dietary vegetable and animal proteins on atherothrombosis in mice. **Nutrition**, v.22, p.661-667, 2006.

SIRTORI, C.R.; GALLI, C.; ANDERSON, J.W.; ARNOLDI, A. Nutritional and nutraceutical approaches to dyslipidemia and atherosclerosis prevention: Focus on dietary proteins. **Atherosclerosis**, v.203, n.1, p.8-17, 2009.

WILSON, T.A.; NICOLOSI, R.J.; KOTYLA, T.; FLECKINGER, B. Soy protein without isoflavonas reduces aortic total and cholesterol ester concentrations. **Nutrition Research**, v.27, p.498-504, 2007.

XIAO, C.W. Health Effects of Soy Protein and Isoflavones in Humans. **The Journal of Nutrition**, v.138, p.1244S-9S, 2008.

2. OBJETIVOS

2.1 – GERAL

Avaliar os efeitos metabólicos da ingestão de farinha integral de soja do cultivar UFVTN 105AP em ratos alimentados com dieta equilibrada e obesogênica.

2.2 – ESPECÍFICOS

- Caracterizar a composição química centesimal, o valor nutricional e os compostos bioativos da farinha integral de soja;
- Avaliar os efeitos da ingestão da farinha integral de soja no ganho de peso e consumo alimentar de ratos alimentados com dietas equilibrada e obesogênica;
- Avaliar os efeitos da ingestão da farinha integral de soja no metabolismo de lipídios e de carboidratos, na peroxidação de lipídios e na histomorfometria intestinal e hepática de ratos alimentados com dietas equilibrada e obesogênica.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Histórico da soja

A soja (*Glycine Max. (L) Merrill*) é uma leguminosa, originária da China, domesticada há cerca de cinco mil anos (PAULA, 2007) e só foi introduzida na Europa no final do século XV. Nos Estados Unidos (EUA) a soja passou a ser cultivada no século XX, sendo que seu processamento visava apenas à obtenção de óleo. Após a Segunda Guerra Mundial, quando uma deficiência mundial de proteínas para a alimentação humana foi detectada, deu-se atenção especial a soja, ocorrendo grandes avanços em novas tecnologias para a viabilização e aceitação de suas proteínas na alimentação humana (SILVA, 2007). Atualmente, os EUA ocupa o primeiro lugar no *ranking* dos maiores produtores de soja (EMBRAPA, 2010).

Já no Brasil, a soja chegou com os imigrantes japoneses, em 1908, mas foi inserida oficialmente no Rio Grande do Sul apenas em 1914 (SGARBIERI, 1996). Porém, a ampliação do cultivo ocorreu apenas nos anos 70, com o aumento da produção e demanda internacional de óleo se tornando hoje o segundo maior produtor mundial. A partir de 1975, a produção de soja no Brasil tem sido expandida para outras regiões, além da região Sul (EMBRAPA, 2010). Em 2003, a região Centro-Oeste passa a ser destaque na produção brasileira de soja, especialmente no estado do Mato Grosso, que, atualmente, lidera o *ranking* da produção nacional, seguido do Paraná e Rio Grande do Sul (CONAB, 2010).

A soja é considerada a cultura de maior importância mundial e é o produto agrícola que sofreu maior expansão do seu cultivo no Brasil e no mundo. Porém, o consumo de seus grãos não faz parte do hábito alimentar brasileiro, mesmo apresentando essa alta produtividade e sendo considerada um alimento com várias propriedades nutricionais e funcionais. As razões para esse baixo consumo ainda são atribuídas ao sabor e odor indesejáveis ocasionados pela presença da enzima lipoxigenase que catalisa a oxidação dos ácidos graxos insaturados, também presentes na soja (CARVALHO, 2009).

Como uma alternativa para melhorar as características sensoriais dos produtos derivados de soja e aumentar sua aceitação pelo consumidor, programas de melhoramento - Programa de Melhoramento de Soja para Consumo Humano, em desenvolvimento no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária da Universidade Federal de Viçosa (BIOAGRO-UFV) - têm desenvolvido cultivares

destituídos de lipoxigenases, por meio de retrocruzamentos, uma vez que a sua eliminação genética é considerada a forma mais eficiente de reduzir o *beany flavor* (CARVALHO, 2009).

3.2. Estrutura e composição da soja

Em geral, os cultivares de soja possuem aproximadamente 8% de casca, 90% de cotilédone, onde está o maior percentual de proteínas e lipídios, e 2% de hipocotilédone. A composição da soja e de suas partes estruturais depende de muitos fatores, incluindo cultivares, estação de crescimento, localização geográfica e clima (CIABOTTI *et al.*, 2006).

A composição química da soja, em base seca, constitui-se de 30 a 45% de proteínas, de 15 a 25% de lipídios contendo ácidos graxos essenciais como o linoléico e alfa-linolênico, de 20 a 35% de carboidratos e cerca de 5% de cinzas, na qual estão presentes cobre, ferro, fósforo, zinco, potássio, manganês, magnésio, vitaminas do complexo B e vitamina E (PEREIRA & OLIVEIRA, 2004; PAULA, 2007).

Além desses nutrientes, a soja possui fibras alimentares, principalmente insolúveis, fitatos e isoflavonas, que juntamente com a boa qualidade de sua proteína, a qualificam como alimento funcional, uma vez que esses compostos produzem efeitos benéficos à saúde, auxiliando na redução dos riscos de algumas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como obesidade, dislipidemias e diabetes tipo 2 (BEHRENS & SILVA, 2004; WILSON *et al.*, 2007).

Apesar destes compostos benéficos à saúde, a soja contém fitoquímicos com efeitos antinutricionais como inibidores de proteases, lectinas, saponinas, oligossacarídeos, enzimas lipoxigenases e urease (BELLAVAR & SNIZEK, 1999, OLGUIN *et al.*, 2003) que podem prejudicar a absorção de alguns nutrientes. Porém, estes compostos podem ser inativados e, ou removidos com algum tipo de processamento e com o melhoramento genético. Martino *et al.* (2007) verificaram que o tratamento do grão de soja à 150° por 30 minutos foi eficaz na eliminação da atividade de urease, indicando redução dos inibidores de tripsina, sem prejudicar a qualidade da proteína.

3.2.1. Proteína de soja

A soja é a leguminosa que apresenta o maior teor de proteína, variando de 30 a 45% em base seca, podendo contribuir para o fornecimento de calorias, aminoácidos essenciais e nitrogênio na nutrição humana e animal (LIU, 1997).

Com base nas funções biológicas no tecido vegetal, as proteínas da soja são de dois tipos: proteínas de reserva e metabólicas. As proteínas metabólicas incluem as enzimas e as proteínas estruturais e estão envolvidas nas atividades celulares normais, incluindo a síntese das proteínas de reserva. As proteínas de reserva fornecem nitrogênio e carbono para o desenvolvimento da semente durante a sua fase de germinação. Estas proteínas apresentam-se em maior proporção na soja (LIU, 1997), destacando-se a glicinina e β -conglucina (MORAIS *et al.*, 2006).

A soja é também importante fonte de peptídeos bioativos. Vários peptídeos bioativos foram identificados, nas quais incluem as subunidades de glicinina e β -conglucina, bem como em inibidores de tripsina Kunitz e Bowman-Birk. Os peptídeos da soja contém uma sequência de aminoácidos com atividade anti-hipertensiva, antioxidante, anticolesterolêmica e preventivas contra o câncer (MEJIA & LUMEN, 2006; SARMADI & ISMAIL, 2010).

A proteína da soja possui alto valor nutricional, apresentando elevado teor de lisina. Esta característica é muito importante em virtude da possibilidade de seu uso como suplemento em dietas a base de cereais, que são pobres nesse aminoácido. Apresenta como limitação apenas a deficiência em aminoácidos sulfurados, em que a metionina é o mais limitante, seguida pela cisteína e treonina (LIU, 1997).

3.2.2. Lipídios e ácidos graxos

O teor de lipídios no grão de soja varia entre 15 e 25% (PEREIRA & OLIVEIRA, 2004), incluindo pigmentos, fosfolipídios e ácidos graxos livres em sua composição (GARCIA *et al.*, 1997). Seu teor e sua composição podem ser afetados pelas diferenças de variedade e pelos vários fatores geográficos e do meio ambiente, principalmente condições climáticas (HAMMOND *et al.*, 2005).

O óleo e os produtos de soja são boa fonte de ácidos graxos essenciais ao organismo humano (LIU, 1997). Esteves *et al.* (2010) analisaram o perfil lipídico de dois cultivares de soja e encontraram, aproximadamente, 63% de ácido graxo poliinsaturado, sendo 55% de ácido linoléico e 8% de ácido linolênico; 22% de ácido

graxo monoinsaturado (ácido oléico); e 15% de ácido graxo saturado, sendo 11% de ácido palmítico e 4% de ácido esteárico.

Os ácidos graxos linoléico e linolênico, encontrados na soja, são considerados essenciais, porque não são sintetizados pelo organismo humano. Esses ácidos graxos competem pelas enzimas envolvidas nas reações de dessaturação e alongamento da cadeia. Embora essas enzimas tenham maior afinidade pelos ácidos da família ômega-3, a conversão do ácido alfa-linolênico em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoléico na dieta. Assim, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos ômega-6 e ômega-3, como a soja, assume grande importância na nutrição humana (MARTIN *et al.*, 2006).

3.2.3. Carboidratos e fibras alimentares

A porção de carboidratos do grão de soja corresponde, em média, a 35% em base seca, constituindo o segundo maior componente da soja. Entretanto, comercialmente, são menos importantes que os lipídios e as proteínas (LIU, 1997).

O principal carboidrato solúvel da soja imatura é a glicose. Com o amadurecimento do grão, este açúcar desaparece, predominando os açúcares não-redutores, como sacarose, rafinose e estaquiose (PAULA, 2007). Os carboidratos insolúveis da soja, também considerados fibras alimentares, são a celulose, hemicelulose, pectina e aproximadamente 1% de amido, os quais estão localizados nas paredes celulares e materiais intersticiais. A casca da semente corresponde a aproximadamente 8% do peso seco do grão integral e contém cerca de 86% de carboidratos complexos, contribuindo, assim com a maior proporção de carboidratos insolúveis do grão de soja (LIU, 1997).

A farinha integral de soja possui um teor total de fibra alimentar de 9,0% a 16,5% (REDONTO-CUENCA *et al.*, 2006). Destes, 75 a 85% estão na forma insolúvel, com baixa viscosidade e resistente, apenas parcialmente fermentada no cólon (SILK *et al.*, 2001).

3.2.4. Isoflavonas

As isoflavonas são uma subclasse de um grande grupo chamado flavonóides em que as sementes de soja destacam-se como principal fonte. Em função de sua atividade estrogênica em humanos, são também conhecidas como fitoestrógenos (CEDERROTH & NEF, 2009).

O grão de soja contém basicamente três tipos de isoflavonas que se apresentam normalmente em quatro diferentes formas: glicosiladas (daidzina, genistina e glicitina); acetilglicosiladas (acetildaidzina, acetilgenistina e acetilglicitina); malonilglicosiladas (malonildaidzina, malonilgenistina e malonilglicitina) e na estrutura não conjugada aglicona (daidzeína, genisteína e gliciteína) (PEREIRA & OLIVEIRA, 2004; KAO *et al.*, 2007). A quantidade de isoflavonas nos alimentos à base de soja varia muito e depende do produto, das técnicas de processamento usadas na sua produção, da variedade do grão, solo, clima e local de plantio (BENNET *et al.*, 2004).

Estão presentes no vegetal primariamente como glicosídeos: malonilglicosídeos e glicosídeos desesterificados (daidzina, genistina e glicitina), sendo que acetilglicosídeos e agliconas podem ser formados durante o processamento (PARK *et al.*, 2002). Kao *et al.* (2007) observaram um aumento de 50% do conteúdo de acetilglicosídeos e agliconas após o aquecimento de farinha de soja a 200°C por 10 minutos. No entanto, em um período de 30 minutos os acetilglicosídeos foram totalmente eliminados e as agliconas triplicaram, sugerindo que os acetilglicosídeos quando submetidos a altas temperaturas se convertem às suas respectivas formas agliconas. Esse aumento de agliconas melhora a bioatividade das isoflavonas.

A concentração de isoflavonas (genisteína, daidzeína e gliciteína) varia de 2,0 a 2,4 mg/g de produto na proteína texturizada de soja, na farinha de soja e grânulos de soja enquanto que na proteína isolada de soja variam de 0,62 a 0,99 mg/g (DWYER *et al.*, 1994). Os produtos tradicionais fermentados (miso, tempeh) contêm altas concentrações das formas agliconas, genisteína e daidzeína, resultantes da ação enzimática da β -glicosidase, enquanto produtos não-fermentados, como grãos secos, extratos hidrossolúveis de soja, farinha de soja e tofu, contêm altas concentrações dos glicosídeos, genistina e daidzina (WANG & MURPHY, 1994).

Após a ingestão, as isoflavonas glicosídicas são hidrolisadas as suas formas agliconas pelas enzimas hidrolíticas produzidas pelas bactérias intestinais, liberando as formas agliconas livres, bem como os produtos desmetilados. Antes da absorção, as bactérias intestinais podem metabolizar as isoflavonas agliconas em seus metabólitos que também são absorvidos. Após a absorção no intestino delgado, as isoflavonas são conjugadas, no fígado, com ácido glicurônico ou sulfato produzindo as formas medidas nos fluidos biológicos. Assim, como os estrógenos endógenos, as isoflavonas são excretadas através da urina e da bile (SHELNUTT *et al.*, 2002; ROWLAND *et al.*, 2003).

As isoflavonas agliconas (genisteína, daidzeína e gliciteína) são mais biodisponíveis do que as formas glicosídicas (genistina, daidzina e glicitina), pois são absorvidas diretamente ou convertidas aos seus metabólitos. A absorção intestinal varia muito entre os indivíduos e pode estar relacionada à ingestão de fibras alimentares, ao tipo de alimento (sólido ou líquido) e às condições da microflora intestinal. Estudo realizado por Cassidy *et al.* (2006) demonstrou que alimentos derivados de soja na forma líquida são mais rapidamente absorvidos do que os sólidos.

3.2.5. Vitamina E

Vitamina E é a denominação genérica de oito compostos lipossolúveis, sendo quatro tocoferóis e quatro tocotrienóis cada um dos quais com atividades biológicas específicas (AZZI & STOCKER, 2000; FERRARI, 2001; HENSLEY *et al.*, 2004; BATISTA *et al.*, 2007). Os α -, β -, γ - e δ -tocoferóis ocorrem como misturas em óleos vegetais e são os antioxidantes naturais mais importantes em gorduras (HRAS *et al.*, 2000), sendo o α -tocopherol o mais potente antioxidante (BATISTA *et al.*, 2007).

O óleo de soja contém uma mistura dos quatro homólogos de tocoferol (α , β , γ e δ -tocoferóis) cujas concentrações relativas são 4-10%, 1-3%, 60-66% e 24-29%, respectivamente. O óleo de soja bruto contém de 1300 a 1600 ppm de tocoferol antes de processado, enquanto o óleo refinado contém entre 800 e 1100 ppm (EVANS *et al.*, 2002).

3.2.6. Ácido fítico

O ácido fítico ou inositol 1,2,3,4,5,6-hexafosfato é encontrado em alimentos de origem vegetal, principalmente em cereais e leguminosos (FILGUEIRAS *et al.*, 2009). A soja apresenta cerca de 1,0 a 1,5% de fitatos, em base seca, o que representa de 51,4 a 57,1% do total de fósforo das sementes (LIU, 1997). Os fitatos podem reduzir a biodisponibilidade de alguns minerais como o zinco, cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês e molibdênio por meio de quelação. O efeito de fitatos sobre a biodisponibilidade de minerais é influenciado pela presença de outros minerais na dieta, pela associação com proteínas, pelo tratamento térmico, pela forma de processamento do alimento e pelo pH do meio (FILGUEIRAS *et al.*, 2009).

O fitato também interage fortemente com resíduos básicos de proteínas por meio de ação inibidora sobre várias enzimas importantes no sistema digestivo, como pepsina, tripsina e alfa-amilase. Por apresentar essas propriedades, o fitato foi considerado como

fator antinutricional por muito tempo. Atualmente, o fitato tem sido apontado como um potente antioxidante (FILGUEIRAS *et al.*, 2009). A ação antioxidante do fitato é devido à sua capacidade de quelar com o ferro, tornando-o cataliticamente inativo, o que impede a formação de radicais livres (ENGELMAN *et al.*, 2005; FILGUEIRAS *et al.*, 2009).

Além de sua atividade antioxidante, o ácido fítico tem demonstrado capacidade de reduzir os níveis sanguíneos de colesterol, triglicerídeos (JARIWALLA *et al.*, 1990; ZHOU & ERDMAN, 1995) e glicose (KIM *et al.*, 2010) em ratos.

3.3. Compostos antinutricionais presentes na soja

A soja, pelas suas qualidades nutricionais, facilidade de adaptação a quase todas as regiões do globo, alta produção e facilidade de cultivo, pode ser considerada um alimento com grande potencial de uso na alimentação humana. Entretanto, apresenta alguns fatores antinutricionais que impedem que a mesma seja utilizada *in natura* na formulação de dietas comerciais (CARVALHO, 2009).

A soja crua deve ser processada antes de sua utilização na alimentação, porque contém fatores antinutricionais que podem causar efeitos deletérios ao organismo humano. Os principais fatores antinutricionais que devem ser levados em consideração são: inibidores de tripsina e quimiotripsina (Kunitz e Bowman-Birk), lectinas, glicinina, β -conglucina, lipase e lipoxigenase (BELLAVAR & SNIZEK, 1999).

Os inibidores de tripsina e quimiotripsina, presentes na soja, são proteínas presentes em leguminosas, capazes de inibir as atividades das enzimas pancreáticas tripsina e quimiotripsina, respectivamente, impedindo a digestão protéica e, conseqüentemente, o aproveitamento das proteínas da soja pelo organismo. Essa inibição pode causar hipertrofia ou hiperplasia pancreática e inibição do crescimento em animais jovens alimentados com leguminosas cruas, devido à excessiva perda fecal de proteína secretada pelo pâncreas, visto que as enzimas pancreáticas são ricas em aminoácidos sulfurados e esta perda endógena não pode ser compensada pela ingestão de proteína de leguminosas (SILVA & SILVA, 2000).

As lectinas são encontradas em uma ampla variedade de espécies de plantas e animais; entretanto, estas substâncias estão presentes em maior quantidade em grãos de leguminosas e gramíneas (SILVA & SILVA, 2000). Elas podem interferir no metabolismo de animais e do homem. Algumas lectinas, ao contrário de outras proteínas, são resistentes à hidrólise enzimática no trato digestivo, sendo recuperadas

intactas, e ainda biologicamente ativas nas fezes dos animais. Sobrevivendo à ação das enzimas do trato digestório, estas lectinas podem reagir com as células epiteliais do intestino, e de modo cumulativo, trazer complicações a quem as consomem. As lectinas têm habilidade de se ligarem a receptores específicos do epitélio intestinal, e essa interação interfere na absorção e na utilização dos nutrientes da dieta, causando baixo desempenho no desenvolvimento de animais (RITT, 2005).

As proteínas antigênicas glicinina e β -conglucina, presentes na soja, podem provocar reações de hipersensibilidade transitória na mucosa intestinal, principalmente em animais recém-desmamados, provocando alterações na morfologia da mucosa intestinal, com encurtamento das vilosidades e aumento da profundidade da cripta, em consequência de aumento da taxa de mitose e de migração dos enterócitos para as vilosidades. Em decorrência disso, verifica-se redução do número de enterócitos maduros nas vilosidades e, portanto, redução da capacidade absorptiva no intestino (BERTOL *et al.*, 2001; CARUSO e DEMONTE, 2005).

3.4. Compostos bioativos da soja e fatores de risco para DCNT

3.4.1. Dislipidemia

O consumo de proteína da soja causa redução significativa de colesterol sérico e triglicérides em humanos (HUFF *et al.*, 1977; ANDERSON *et al.*, 1995; REYNOLDS *et al.*, 2006; SIRTORI, 2007) e em animais (DURANTI *et al.*, 2004; SIRTORI *et al.*, 2009; ESTEVES *et al.*, 2010). Esse efeito da proteína da soja sobre o metabolismo de lipídios tem sido descrito desde 1940 (MEEKER & KESTEN, 1941); porém, ainda não há evidências suficientes a respeito dos efeitos, bem como dos componentes que podem estar associados (ANTHONY *et al.*, 1996).

Durante as décadas de 70 e 80, os estudos de composição de aminoácidos foram intensificados na tentativa de explicar o efeito da ingestão de proteína da soja nos lipídios séricos (HUFF *et al.*, 1977; HUFF & CARROLL, 1980; BALOGUN, 1982; NAGATA *et al.*, 1982). Uma das hipóteses foi que os aminoácidos lisina e metionina da caseína são mais hipercolesterolemiantes do que arginina. Neste contexto, a soja, por conter baixa concentração de metionina e alta concentração de arginina, tende a reduzir este efeito adverso (WILSON *et al.*, 2007). Outra hipótese seria o fato da metionina ser um precursor da homocisteína, que é um fator de risco cardiovascular independente (TORRES *et al.*, 2006). Ratos alimentados com dieta contendo proteína de soja

apresentaram menor concentração sérica de homocisteína do que aqueles alimentados com dieta de caseína (TOVAR *et al.*, 2002). Da mesma forma, em humanos, a ingestão de soja é inversamente associada com níveis séricos de homocisteína, indicando que a substituição de proteína animal pela proteína de soja pode resultar em níveis mais baixos de homocisteína, reduzindo potencialmente o risco de doença coronariana (TORRES *et al.*, 2006).

No entanto, Kern *et al.* (2002) avaliaram o efeito do isolado protéico de soja suplementado com metionina e obteve efeito hipolipidêmico em relação à caseína que continha quantidade equivalente de metionina. Estes resultados indicam a possibilidade de que não só a proteína, mas também as isoflavonas associadas às proteínas estariam envolvidas no mecanismo para reduzir as concentrações de lipídios séricos (KOTSOPOULOS *et al.*, 2000; DEWELL *et al.*, 2002).

A partir dos anos 90, muitos estudos têm sido realizados com compostos de isoflavona (BALMIR *et al.*, 1995; ANTHONY *et al.*, 1996). Estes componentes químicos mostraram efeitos hipocolesterolêmicos quando associados à proteína da soja (ADAMS *et al.*, 2002; DOUGLAS *et al.*, 2006). Entretanto, diferentes estudos com suplementação da isoflavona em humanos (SIMONS *et al.*, 2000; HOWES *et al.*, 2000; MEINERTZ *et al.*, 2002) e em animais (GREAVES *et al.*, 1999; GREAVES, 2000), não demonstraram redução significativa da concentração sérica do colesterol total ou LDL-c. Por outro lado, a remoção destes compostos do isolado protéico da soja alterou os resultados observados pelo efeito de ingestão nos níveis de colesterol total e triglicerídios (FUKUI *et al.*, 2002; DURANTI *et al.*, 2004).

O número de estudos foi intensificado nos últimos anos, o que resultou em evidências sobre os efeitos benéficos do consumo da proteína da soja no metabolismo de lipídios. Os efeitos observados inicialmente em animais hipocolesterolêmicos foram confirmados em diversos estudos conduzidos em humanos (TONSTAD *et al.*, 2002; ROSELL *et al.*, 2004; REYNOLDS *et al.*, 2006).

Um possível mecanismo deste efeito hipocolesterolêmico de proteínas da soja seria a formação de peptídios não digeríveis no trato gastrointestinal que aumenta a excreção fecal de esteróides, aumentando a síntese hepática de ácidos biliares e conseqüentemente os receptores de LDL-c, aumentando a captação e oxidação de colesterol no fígado (BELLEVILLE, 2002). Uma segunda hipótese, sugerida em estudos com animais, seria a relação entre os aminoácidos lisina/arginina, que alterariam a relação insulina/glucagon quando alimentados com proteínas de soja, já que o aumento na proporção insulina/glucagon provoca eventual aumento do risco de DCV,

resultado da ação hiperlipidêmica e aterogênica desta relação (SANCHEZ & HUBBARD, 1991; DEMONTY *et al.*, 2002; TORRES *et al.*, 2006). Além disso, aminoácidos das proteínas da soja e isoflavonas parecem exercer ação sinérgica sobre a melhoria do metabolismo de lipídios e ativação de receptores de LDL-c (SANTANA *et al.*, 2008).

A atuação das isoflavonas sobre o receptor β -estrogênico presente no fígado, tem como consequência a melhora do perfil lipídico sérico, possibilitado pelo incremento no número de receptores hepáticos de LDL-c, favorecendo o catabolismo de colesterol. As isoflavonas também estimulam a β -oxidação dos ácidos graxos em várias espécies animais, incluindo o homem (TORREZAN *et al.*, 2008). Banz *et al.* (2004) mostraram que ratos *Zucker*, geneticamente obesos, após o tratamento com isoflavona, apresentaram redução do peso corporal e do conteúdo de gordura, reduzindo o risco de lipotoxicidade hepática e, conseqüentemente, diminuição do risco de esteatose (TOVAR *et al.*, 2005).

As proteínas de reserva β -conglucina e glicinina, presentes na soja (MORAIS *et al.*, 2006), também tem apresentado efeito hipolipemiante. Fukuy *et al.* (2004) encontraram que a β -conglucina promoveu redução na síntese de ácidos graxos no fígado e maior excreção fecal de ácidos graxos em ratos e Moriyama *et al.* (2004) encontraram que a β -conglucina induziu a β -oxidação diminuindo a síntese hepática de ácidos graxos e inibiu a absorção de triglicerídeos em camundongos normais e geneticamente obesos em condições de restrição energética. Duranti *et al.* (2004) também encontraram efeito hipocolesterolêmico da proteína glicinina em ratos *Sprague-Dawley*.

As fibras alimentares presentes na soja também têm importante papel na redução do colesterol sanguíneo, uma vez que elas aumentam a excreção de ácidos biliares e colesterol da dieta, fazendo com que o fígado remova colesterol do sangue para a síntese de novos ácidos biliares. E embora ainda haja controvérsias no mecanismo exato da síntese de ácidos biliares, triglicerídeos e LDL-c em relação às fibras alimentares, o papel de diferentes fibras alimentares na redução do colesterol plasmático vem-se confirmando cada vez mais. As fibras alimentares também são conhecidas como coadjuvantes no controle do sobrepeso, devido à sensação de saciedade e contribuição de baixa ingestão energética que promovem. Mas o consumo de suplementos à base de fibras alimentares parece não proporcionar os mesmos benefícios que uma dieta rica neste componente (GALISTEO *et al.*, 2008; PAPATHANASOPOULOS & CAMILLERI, 2010).

3.4.2. Peroxidação de lipídios

A peroxidação de lipídios é decorrente da presença de radicais livres que podem ser eliminados por substâncias antioxidantes da dieta. Sua iniciação, propagação e terminação dependem de fatores como estresse oxidativo e a presença de ácidos graxos poliinsaturados, podendo variar entre os diferentes órgãos e tecidos (LIMA & ABDALLA, 2001).

As isoflavonas, principalmente a genisteína, possuem ação antioxidante, por eliminar os radicais livres no organismo, defendendo-o contra ação maléfica desses compostos. Este efeito deve-se à capacidade das isoflavonas em doar átomos de hidrogênio para os radicais livres, tornando-os menos reativos. Outro possível mecanismo de eliminação desses radicais livres pelas isoflavonas é por aumentar as concentrações das enzimas antioxidantes, melhorando a defesa do organismo (ENGELMAN *et al.*, 2005; RIOS *et al.*, 2008).

Com relação aos efeitos benéficos sobre a aterogênese, acredita-se que uma dieta rica em isoflavonas torna as LDL-c resistentes à oxidação, impedindo a geração de uma cascata de eventos que produz placas ateroscleróticas, tornando o consumo de soja um fator protetor contra a aterosclerose (SACKS *et al.*, 2006; MATEOS-APARICIO *et al.*, 2008). O mecanismo proposto para a redução da peroxidação de lipídios pelas isoflavonas está relacionado ao possível efeito deste composto na eliminação dos radicais peróxido lipídio-dependente e inibição da oxidação de LDL-c cobre-dependente (DAMASCENO *et al.*, 2007).

A composição de ácidos graxos dos lipídios de soja também é um fator a ser considerado na associação entre a ingestão de soja e benefícios à saúde. Vários autores ressaltam os benefícios da ingestão de gordura poliinsaturada (AGUILLERA *et al.*, 2001; CARVALHO *et al.*, 2003; CORSINI *et al.*, 2008) devido à sua importância na fluidez das membranas celulares (CARVALHO *et al.*, 2003), enquanto outros autores questionam, uma vez que eles são facilmente oxidados podendo causar lesões ateroscleróticas (ARAUJO, 2007; MACQUEEN *et al.*, 2007).

Os fitatos, presentes nos grãos de soja, apresentam efeitos positivos sobre a saúde devido à sua ação antioxidante (MARTINEZ DOMINGUEZ *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2007), por meio da quelação com o ferro. Assim há supressão da catálise desse íon nas reações oxidativas e gera uma forte função antioxidante na preservação de sementes. O ácido fítico pode inibir a peroxidação de lipídios acelerando a auto-

oxidação de íons ferrosos para íons férricos, formando quelatos férricos, inativando-os cataliticamente (QUIRRENBACH *et al.*, 2009).

3.4.3. Controle glicêmico

As isoflavonas têm mostrado efeito no controle do diabetes, uma vez que ela apresenta papel modulador no metabolismo de glicose, devido à sua semelhança estrutural ao hormônio estrogênio (CEDERROTH & NEF, 2009). Em estudos realizados com ratas ovariectomizadas, que receberam dietas suplementadas com isoflavonas, foi observada redução na glicemia, mostrando que as isoflavonas presente na soja também contribuem para controle glicêmico (TORREZAN *et al.*, 2008; RAMOS *et al.*, 2008). O efeito das isoflavonas na redução da glicemia pode ser explicado pelo estímulo na produção de insulina pelas células β do pâncreas, causados pela genisteína, aumentando assim, a captação de glicose pelas células e, conseqüentemente, sua redução na corrente sanguínea (ESTEVEES & MONTEIRO, 2001). Jonas *et al.* (1995) avaliaram os efeitos agudos da genisteína no estímulo à secreção de insulina em células β do pâncreas de camundongos e observaram que a genisteína provocou aumento na liberação de insulina.

As fibras alimentares, também presentes nos grãos de soja, são efetivas no controle da glicemia (PENHA *et al.*, 2007). Elas podem reduzir a taxa de esvaziamento gástrico, aumentar o peristaltismo do intestino curto e tornar lenta a velocidade de absorção de glicose e, conseqüentemente, podem causar efeitos benéficos na prevenção e tratamento de diabetes (TAKAHASHI *et al.*, 2003).

Estudo clínico realizados com dois grupos de estudantes na qual o primeiro recebeu solução concentrada de glicose e ingeriu, em seguida, fibras de soja e o segundo recebeu somente a solução concentrada de glicose; observou-se que o grupo que recebeu as fibras de soja não apresentou aumento significativo nos níveis de glicose sanguínea quando comparados com o outro grupo. Assim, as fibras de soja adsorveram a glicose ingerida, tornando mais lenta sua liberação para ser absorvida e passar para a corrente sanguínea (MESSINA *et al.*, 1994).

Em outro estudo clínico, os pacientes receberam duas dietas diferentes, uma contendo 7 gramas de fibras de soja e a outra contendo a mesma quantidade de celulose (fibra insolúvel). Três horas após a ingestão das dietas, os pacientes que haviam recebido a dieta com fibras de soja apresentaram níveis sanguíneos de glicose muito menores do que os que receberam a dieta contendo celulose como fonte de fibra

alimentar, confirmando o papel da fibra de soja no controle da glicemia (MESSINA *et al.*, 1994).

O fitato, também presente em grãos de soja, tem sido investigado quanto ao seu efeito benéfico no controle do diabetes sendo demonstrado efeito hipoglicêmico em camundongos diabéticos (LEE *et al.*, 2005; LEE *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2010). Lee *et al.* (2006) avaliaram o efeito do consumo de dietas contendo fitato na concentração de glicose sanguínea e mostraram que a administração de fitato reduziu os altos níveis de glicose sanguínea e de hemoglobina glicosilada em camundongos diabéticos.

3.5. Dieta de cafeteria

O consumo de dietas desequilibradas com elevada densidade energética e a diminuição do gasto energético, associados aos estilos de vida modernos, têm contribuído para o aumento da obesidade. Assim, os fatores ambientais, e em particular, os hábitos alimentares estão associados com o desequilíbrio do metabolismo energético. A dieta ocidental é caracterizada por ser de alta densidade energética, rica em gordura e, ou carboidratos e pobre em fibra alimentar (POPKIN *et al.*, 2001).

A dieta de cafeteria tem sido utilizada em pesquisa experimental com o objetivo de aproximar o consumo alimentar de animais ao consumo da sociedade moderna, uma vez que grande parte das refeições é realizada em cafeterias, *fast foods*, caracterizando a dieta ocidental (PEREIRA *et al.*, 2003). Esse modelo experimental vem sendo denominado dieta de cafeteria, ocidentalizada ou do tipo *fast food*. Neste contexto, animais alimentados com esse tipo de dieta representam um modelo útil para estudos de obesidade humana e da síndrome metabólica, uma vez que uma alta ingestão de gordura e, ou de açúcares parece ser um fator chave no rompimento da homeostase metabólica determinante no desenvolvimento da obesidade humana (CAMPIÓN & MARTINÉZ, 2004).

Este é um modelo de indução de obesidade exógena, onde é oferecido ao animal dieta com alta densidade calórica, por meio de uma sobrecarga de carboidratos e de gordura, isoladamente ou em associação (CESARETTI *et al.*, 2006). Os componentes da dieta de cafeteria incluem patê, bacon, batata chips, biscoito, chocolate e ração comercial nas proporções 1:1:1:1:1:2 (MARGARETO *et al.*, 2000; CAMPIÓN & MARTINÉZ, 2004; MILAGRO *et al.*, 2006). Porém, a composição destas dietas podem diferenciar entre os estudos, mas sempre levando em consideração um aporte calórico maior.

O estudo de Milagro *et al.* (2006) com animais alimentados com dieta de cafeteria por 56 dias, mostrou que a dieta de cafeteria não só é caracterizada pelo acúmulo de lipídios no tecido adiposo, mas também pelo aumento do estresse oxidativo no fígado.

Pérez-Matute *et al.* (2007) verificaram significativo aumento no peso final e no ganho de peso de ratos machos *Wistar* que receberam dieta de cafeteria ao final de 35 dias quando comparado com o grupo controle. Estudo realizado por Li *et al.* (2008) também demonstraram que camundongos fêmeas C57BL/6JOLaHsd quando receberam dieta de cafeteria por 14 semanas apresentaram ganho de peso maior do que o controle.

Alguns estudos também mostram relações do consumo de dietas hiperlipídicas nos níveis séricos dos animais experimentais. Nesse sentido, Margareto *et al.* (2001) estudaram o efeito da dieta de cafeteria em ratos e encontraram aumento da glicemia, enquanto Pérez-Matute *et al.* (2007) não verificaram alterações nos níveis de glicose plasmática. Segundo Campión & Martinez (2004) após 42 dias de experimento com dieta de cafeteria não foi verificada alteração nos triacilgliceróis e na glicemia em ratos *Wistar*. Macqueen *et al.* (2007) verificaram que não houve diferença estatística para o colesterol sérico, entretanto ocorreu redução de HDL-colesterol e aumento dos triacilgliceróis em ratos.

3.6. Farinha integral de soja do cultivar UFVTN 105AP

Carvalho (2009) estudou os fatores antinutricionais, a qualidade protéica e a biodisponibilidade de ferro da farinha integral de soja com e sem casca do novo cultivar, UFVTN 105AP, sem lipoxigenases e com elevado teor de proteínas. Foi encontrado que o tratamento dos grãos a 150° C por 30 minutos inativou completamente o inibidor de tripsina. As farinhas com e sem casca apresentaram boa biodisponibilidade de ferro, sendo que a farinha com casca contribuiu com 35% a mais de ferro. O melhoramento genético proporcionou equilíbrio qualitativo e quantitativo dos aminoácidos essenciais, ao contrário dos aminoácidos sulfurados, que são usualmente reportados na literatura. Os índices de qualidade protéica, razão da eficiência protéica (PER) e razão protéica líquida (NPR), indicaram que as farinhas foram adequadas para promover o crescimento e o desenvolvimento dos animais. A digestibilidade verdadeira e escore químico corrigido pela digestibilidade (PDCAAS) foram elevados, quando comparados a outros estudos com soja. O processamento da soja favoreceu o aproveitamento biológico das proteínas e a biodisponibilidade de ferro, indicando que o

grão de soja pode ser utilizado de forma integral, para produção de farinhas. Portanto, é necessário explorar os efeitos da ingestão da farinha integral de soja para complementar o conhecimento sobre os benefícios e os riscos da farinha de soja integral oriunda deste novo cultivar.

3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M.R.; GOLDEN, D.L.; ANTHONY, M.S; REGISTER, T.C.; WILLIAMS, J.K. The Inhibitory effect of soy protein isolate on atherosclerosis in mice does not require the presence of LDL receptors or alteration of plasma lipoproteins. **The Journal of Nutrition**, v.132, p.43-49, 2002.

AGUILLERA, C.M.; RAMIREZ-TORTOSA, M.C.; MESA, M.D.; GIL, A. Protective effect of monounsaturated and polyunsaturated acids on the development of cardiovascular disease. **Nutrición Hospitalaria**, v.16, n.3, p.78-91, 2001.

ANDERSON, J. W; JOHNSTONE, B. R; COOK-NEWELL, M. E. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. **New England Journal of Medicine**, v.333, p.276-282, 1995.

ANTHONY, M. S.; CLARKSON, T. B.; HUGRES, C. L.; MORGAN, T. M.; BURKE, G. L. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. **The Journal of Nutrition**, v.126, p.43-50, 1996.

ARAÚJO, A.L. Correlação entre dieta lipídica polinsaturada e aterogênese. **Revista de Angiologia e Cirurgia Vascular**, n.5, 2007.

AZZI, A.; STOCKER, A. Vitamin E: non-antioxidant roles. **Progress in Lipid Research**. v.30, p.231-255, 2000.

BALMIR, F.; STAACK, R.F.; JEFFERY, E.H.; POTTER, S.M. Soy bean isoflavones influence serum lipid levels in rats. **The Journal of Nutrition**, v.125, p.805S, 1995.

BALOGUN, E.A. Arginine: lysine ratio as a contributory factor to the hypocholesterolemic effect of plant protein sources. **Journal of Medicine Science**, v.10, p.643-644, 1982.

BANZ, W.J.; JEREMY, D.; MUHAMMAD, J.I. Gene expression and adiposity are modified by soy protein in male Zucker diabetic fatty rats. **Obesity Research**, v.12, p.1907-1913, 2004.

BATISTA, E.S.; COSTA, A.G.V.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Adição da vitamina E aos alimentos: implicações para os alimentos e para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, v.20, n.5, p.525-535, 2007.

BEHRENS, J.H.; SILVA, M.A.A.P. Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.3, p.431-439, 2004.

BELLAVER, C.; SNIZEK, P.N.Jr. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de suínos e aves. Congresso Brasileiro de Soja, 1999 - cnpsa.embrapa.br

BELLEVILLE, J. Hypocholesterolemic Effect of Soy Protein. **Nutrition**, v.18, n.7/8, p.684-686, 2002.

BENETT, J.O.; KRISHNAN, A.H.; WEBOLD, W.J.; KRISHNAN, H.B. Positional effect on protein and oil content and composition of soybeans. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.51, p.6882-6886, 2003.

BERTOL, T.M.; MORES, N.; FRANKE, M.R. Substituição Parcial do Farelo de Soja por Soja Integral Extrusada na Dieta de Leitões Desmamados. **Revista brasileira de zootecnia**, v.30, n.3, p.744-752, 2001.

CAMPIÓN, J.; MARTINÉZ, J.A. Ketoconazole and Obesity Prevention. **Hormone and Metabolic Research**, v.36, p.485-491, 2004.

CARUSO, M.; DEMONTE, A. Histomorphometry of the small intestine of rats submitted to different proteic sources. **Alimentos e Nutrição**, v.16, n.2, p.131-136, 2005.

CARVALHO, A.W. **Caracterização nutricional, biodisponibilidade de ferro e qualidade protéica de novo cultivar de soja sem lipoxigenases e de elevado teor protéico**. [dissertação]. Ciência da Nutrição: Universidade Federal de Viçosa, MG. Brasil; 2009.

CARVALHO, P.D.; CAMPOS, P.R.B.; NOFFS, M.D.; OLIVEIRA, J.G.; SHIMIZU, M.T.; SILVA, D.M. Application of microbial lipases to concentrate polyunsaturated fatty acids, **Química Nova**, v.26, n.1, p.75-80, 2003.

CASSIDY, A.; BROWN, J.E.; HAWDON, A.; FAUGHNAN, M.S.; KING, L.J.; MILLWARD, J.; ZIMMER-NECHEMIAS, L. WOLFE, B.; SETCHELL, K.D.R. Factors affecting the bioavailability of soy isoflavonas in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods. **The Journal of Nutrition**, v.136, n.1, p.45-51, 2006.

CEDERROTH, C.R.; NEF, S. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.304, p.30-42, 2009.

CESARETTI, M.L.R.; JUNIOR, O.K. Modelos Experimentais de Resistência à Insulina e Obesidade: Lições Aprendidas. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia Metabologia**, v.50, n.2, p. 190-197, 2006.

CIABOTTI, S.; BARCELLOS, M.F.P.; MANDARINO, J.M.G.; TARONE, A.G. Avaliação química e bioquímica dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de lipoxigenase. **Ciência agrotécnica**, v.30, n.5, p.920-929, 2006.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sexto levantamento, março 2010. Brasília, 2010.

CORSINI, M.S.; JORGE, N.; MIGUEL, A.M.R.O; VICENTE, E. Perfil de ácidos graxos e avaliação da alteração em óleos de fritura. **Química Nova**, v.31, n.5, p.956-961, 2008.

DAMASCENO, N.R.T.; APOLINÁRIO, E.; FLAUZINO, F.D.; FERNANDES, I.; ABDALLA, D.S.P. Soy isoflavones reduce lectronegative low-density lipoprotein (LDL) and anti-LDL) autoantibodies in experimental atherosclerosis. **European Journal of Nutrition**, v.46, n.3, p.125-132, 2007.

DEMONTY, I.; LAMARCHE, B.; DESHAIES, Y.; JACQUES, H. Role of soy isoflavonas in the hypotriglyceridemic effect of soy protein in the rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, n.11, p.671-677, 2002.

DEWELL, A.; HOLLENBECK, C.B; BRUCE, B. The effects of soy-derived phytoestrogens on serum lipids and lipoproteins in moderately hypercholesterolemic postmenopausal women. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.87, p.118–121, 2002.

DOUGLAS, G.; ARMITAGE, J. A.; TAYLOR, P. D.; LAWSON, J. R.; MANN, G. E.; POSTON, L. Cardiovascular consequences of life-long exposure to dietary isoflavones in the rat. **Journal of Physiology**, v.571, n.2, p.477-487, 2006.

DURANTI, M.; LOVATI, M. R.; DANI, V.; BARBIROLI, A.; SCARAFONI, A.; CASTIGLIONI, S.; PONZONE, C.; MORAZZONI, P. The subunit from soybean 7S globulin lowers plasma lipids and upregulates liver VLDL receptors in rats fed a hypercholesterolemic diet. **The Journal of Nutrition**, v.134, p.1334-1339, 2004.

DWYER, J.T.; GOLDIN, B.R.; SAUL, N.; GUALTIERI, L.; BARAKAT, S.; ADLERCREUTZ, H. Tofu and soy drinks contain phytoestrogens. **Journal of the American Dietetic Association**, v.94, p.739-743, 1994.

EMBRAPA (www.cnpq.embrapa.br). Acessado em 20 de maio de 2010.

ENGELMAN, H.M.; ALEKEL, D.L.; HANSON, L.N.; KANTHASAMY, A.G.; REDDY, M.B. Blood lipid and oxidative stress responses to soy protein with isoflavonas and phytic acid in postmenopausal women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.590-596, 2005.

ESTEVEVES, E.A.; MARTINO, H.S.D.; OLIVEIRA, F.C.E.; BRESSAN, J.; COSTA, N.M.B. Chemical composition of a soybean cultivar lacking lipoxygenases (lox2 and lox3). **Food Chemistry**, v.122, n.1, p.238-242, 2010.

ESTEVEVES, E.A.; MONTEIRO, J.B.R. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. **Revista de Nutrição**, v.14, n.1, 2001.

EVANS, J.C.; KODALI, D.R.; ADDIS, P.B. Optimal Tocopherol Concentrations to Inhibit Soybean Oil Oxidation. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v.79, n.1, p.47-51, 2002.

FERRARI, R.A. Componentes minoritários de óleos vegetais. **Óleos e Grãos**. 2001.

FILGUEIRAS, C.T.; SOARES, A.L.; SHIMOKOMAKI, M. IDA, E.I. Avaliação da atividade antioxidante do ácido fítico de germe de trigo. **Química Nova**, v.32, n.7, p.1787-1791, 2009.

FUKUY, K.; KOJIMA, M.; TACHIBANA, N.; KOHNO, M.; TAKAMATSU, K.; HIROTSUKA, M.; et al. Effects of soybean β -conglycinin on hepatic lipid metabolism and fecal lipid excretion in normal adult rats. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.68, n.5, p.1153-1155, 2004.

FUKUI, K.; TACHIBANA, N.; WANEZAKI, S.; TSUZAKI, S.; TAKAMATSU, K.; YAMAMOTO, T.; HASHIMOTO, Y.; SHIMODA, T. Isoflavone-free soy protein

prepared by column chromatography reduces plasma cholesterol in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.5717-5721, 2002.

GALISTEO, M.; DUARTE, J.; ZARZUELO, A. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.19, p.71-84, 2008.

GARCÍA, M.C.; TORRE, M.; MARINA, M.L.; LABORDA, F. Composition and characterization of soybean and related products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.37, n.4, p.361-391, 1997.

GREAVES, K. A.; WILSON, M. D.; RUDEL, L. L.; WILLIAMS, J. K.; WAGNER, J. D. Consumption of soy protein reduces cholesterol absorption compared to casein protein alone or supplemented with an isoflavone extract or conjugated equine estrogen in ovariectomized cynomolgus monkeys. **The Journal of Nutrition**, v.130, p.820-826, 2000.

GREAVES, K.A.; PARKS, J.S.; WILLIAMS, J.K.; WAGNER, J.D. Intact dietary soy protein, but not adding an isoflavone-rich soy extract to casein, improves plasma lipids in ovariectomized cynomolgus monkeys. **The Journal of Nutrition**, v.129, p.1585-1592, 1999.

HAMMOND, E.G.; JOHNSON, L.A.; SU, C.; WANG, T.; WHITE, P.J. (2005) Soybean Oil. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Edible Oils**. 6.ed. v.2. EUA: Wiley-interscience.

HENSLEY, K.; BENAKSAS, E.J.; BOLLI, R.; COMP, P.; GRAMMAS, P.; HAMDHEYDARI, L.; MOU, S.; PYE, Q.N.; STODDARD, M.F.; WALLIS, G.; WILLIAMSON, K. S.; WEST, M.; WECHTER, W.J.; FLOYD, R. A. New perspectives on vitamin E: α -tocopherol and carboxyethylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. **Free Radical Biology & Medicine**, v.36, p.1-15, 2004.

HOWES, J.B.; SULLIVAN, D.; LAI, N. The effects of dietary supplementation with isoflavones from red clover on lipoprotein profiles of post menopausal women with mild to moderate hypercholesterolaemia. **Atherosclerosis**, v.152, p.143-147, 2000.

HRAS, A.R.; HADOLIN, M.; KNEZ, Z.; BAUMAN, D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. **Food Chemistry**, v.71, p.229-233, 2000.

HUFF, M, W.; CARROLL, K. K. Effects of dietary proteins and amino acid mixtures of plasma cholesterol levels in rabbits. **The Journal of Nutrition**, v.110, p.1676-1685, 1980.

HUFF, M. W.; HAMILTON, R. M. G.; CARROLL, K. K. Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, cholesterol-free, semipurified diets: effects of dietary proteins, protein hydrolysates and amino acid mixtures. **Atherosclerosis**, v. 28, p.187-195, 1977.

JARIWALLA, R.J.; SABIN, R.; LAWSON, S.; HERMAN, Z.S. Lowering of serum cholesterol and triglycerides and modulation of divalent cations by dietary phytate. **Journal Applied Nutrition**, v.42, p.18-27, 1990.

- JONAS, J.C.; PLANT, T.D.; GILON, P. Multiple effects and stimulation of insulin secretion by the tyrosine kinase inhibitor genistein in normal mouse islets. **British Journal of Pharmacology**, v.114, n.4, p.872-880, 1995.
- KAO, T.H.; WU, W.M.; HUNG, C.F.; WU, W.B.; CHEN, B.H. Anti-inflammatory effects of isoflavone powder produced from soybean cake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.11068-11079, 2007.
- KERN, M.; ELLISON, D.; MARROQUIN, Y.; AMBROSE, M.; MOSIER, K. Effects of Soy Protein Supplemented With Methionine on Blood Lipids and Adiposity of Rats. **Nutrition**, v.18, n.7/8, 2002.
- KIM, S.M.; RICO, C.W.; LEE, S.C.; KANG, M.Y. Modulatory effect of rice bran and phytic acid on glucose metabolism in high fat-fed C57BL/6N mice. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v.47, p.12-17, 2010.
- KOTSOPOULOS, D.; DALAIS, F.S.; LIANG, Y.L.; MCGRATH, B.P.; TEEDE, H.J. The effects of soy protein containing phytoestrogens on menopausal symptoms in postmenopausal women. **Climacteric**, v.3, p.161-167, 2000.
- LEE, S.O.; SIMONS, A.L.; MURPHY, P.A.; S. HENDRICH, S. Soyasaponins lowered plasma cholesterol and increased fecal bile acids in female golden Syrian hamsters. **Experimental Biology and Medicine**, v.230, n.7, p. 472-478, 2005.
- LEE, J.S. Effects of soy protein and genistein on blood glucose, antioxidant enzyme activities, and lipids profile in streptozotocin-induced diabetic rats. **Life Sciences**, v.79, p.1578-1584, 2006.
- LEE, S. H.; PARK, H.J.; CHUN, H.K.; CHO, S.Y.; JUNG, H.J.; CHO, S.M.; et al. Dietary phytic acid improves serum and hepatic lipid levels in aged ICR mice fed a high-cholesterol diet. **Nutrition Research**, v.27, n.8, p.505-510, 2007.
- LI, H.; LELLIOTT, C.; HAKANSSON, P.; PLOJ, K.; UNELD, A.; VEROLIN-JOHANSSON, M.; BENTHEM, L.; CARLSSON, B.; STORLIEN, L.; MICHAELSSON, E. Intestinal, adipose, and liver inflammation in diet-induced obese mice. **Metabolism Clinical and Experimental**, v.57, p.1704-1710, 2008.
- LIMA, E.S.; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.37, n.3, 2001.
- LIU, K. (1997) **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: Chapman e Hall.
- MACQUEEN, H.A.; SADLER, D.A.; MOORE, S.A.; DAYA, S.; BROWN, J.Y.; SHUKER, D. E.G.; SEAMAN, M.; WASSIF, W.S. Deleterious effects of a cafeteria diet on the livers of nonobese rats. **Nutrition Research**, v.27, p.38-47, 2007.
- MARGARETO, J.; AGUADO, M.; OSES-PRIETO, J.A.; MONGE, A.; ALDANA, I.; MARTI, A.; MARTINEZ, A. A new NPY-antagonist strongly stimulates apoptosis and lipolysis on white adipocytes in an obesity model. **Life Sciences**, v.68, p.99-107, 2000.

MARGARETO, J.; GÓMEZ-AMBROSI, J.; MARTI, A.; MARTÍNEZ, J.A. Time-dependent effects of a high-energy-yielding diet on the regulation of specific white adipose tissue genes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.283, p.6-11, 2001.

MARTIN, C.A.; ALMEIDA, V.V.; RUIZ, M.R.; VISENTAINER, J.E.L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v.19, n.6, 2006.

MARTINEZ DOMINGUEZ, B.; IBAÑEZ GOMES, M.; RINCÓN LEÓN, F. Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.52, n.3, p.219-231, 2002.

MARTINO, H.S.D.; ANDRADE, G.F.; DANTAS, M.I.S.; SILVA, MG ; PIOVESAN, ND ; MOREIRA, M.A. Efeito do tratamento térmico na preservação de características nutricionais de novas variedades de soja destinadas à alimentação humana. In: 9o congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição-SBAN, 2007.

MATEOS-APARICIO, I.; REDONDO CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M. J.; ZAPATA-REVILLA, M. A. Soybean, a promising health source. **Nutrición Hospitalaria**, v. 23, p.305-312, 2008.

MEEKER, D, R.; KESTEN, H. D. Effect of high protein diets on experimental atherosclerosis of rabbits. **Archives of Pathology**, v.31, p.147-162, 1941.

MEINERTZ, H.; NILAUSEN, K.; HILDEN, J. Alcohol-extracted, but not intact, dietary soy protein lowers lipoprotein (a) markedly. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.22, p.312-316, 2002.

MEJIA, E.; LUMEN, B.O. Soybean bioactive peptides: A new horizon in preventing chronic diseases. *Sexuality, Reproduction & Menopause*, v.4, n.2, 2006.

MESSINA, M.; MESSINA, V.; STCHELL, K. The simple soybean and your health. **Garden City Park Avery**, p.107-112, 1994.

MILAGRO, F.L.; CAMPIÓN, J.; MARTÍNEZ. A. Weight Gain Induced by High-Fat Feeding Involves Increased Liver Oxidative Stress. **Obesity**, v.14, n.7, 2006.

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

MORIYAMA, T.; KISHOMOTO, K.; NAGAI, K.; URADE, R.; OGAWA, T.; UTSUMI, S. et al. Soybean β -conglycinin diet suppresses serum triglyceride level in normal and genetically obese mice by induction of β -oxidation, downregulation of fatty acid synthase and inhibition of triglyceride absorption. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.68, p.353-359, 2004.

NAGATA, Y.; ISHIWAKI, N.; SUGANO, M. Studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats. **The Journal of Nutrition**, v.112, p.1614-1625, 1982.

OLGUIN, M.C.; HISANO, N.; D'OTTAVIO, A.E.; ZINGALE, M.I.; RVELANT, G.C.; CALDERARI, S.A. Nutritional and antinutritional aspects of an Argentinian soy flour assessed on weanling rats. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p.441-449, 2003.

PAPATHANASOPOULOS, A.; CAMILLERI, M. Dietary fiber supplements: effects in obesity and metabolic syndrome and relationship to gastrointestinal functions. **Gastroenterology**, v.138, p.65-72, 2010.

PARK, Y.K.; AGUIAR, C.L.; ALENCAR, S.M.; MASCARENHAS, H.A.A.; SCARPARINI, A.R.P. Conversão de Malonil- β -glicosil isoflavonas em isoflavonas glicosiladas presentes em alguns cultivares de soja brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.2, p.130-135, 2002.

PAULA, S.A. **Composição bioquímica e fatores antinutricionais de genótipos de soja** [dissertação]. Bioquímica Agrícola: Universidade Federal de Viçosa, MG. Brasil: 2007.

PENHA, L.A.O.; FONSECA, I.C.B.; MANDARINO, J.M.; BENASSI, V.T. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.25, n.1, p.91-102, 2007.

PEREIRA, C.S.; OLIVEIRA, F.B. **Soja, alimento e saúde: valor nutricional e preparo**. Viçosa: UFV, 2004.

PEREIRA, L.O.; FRANCISCHI, R.P.; LANCHETA JR., A.H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v.47, n.2, 2003.

PÉREZ-MATUTE, P.; PÉREZ-ECHARRI, N.; MATÍNEZ, A.; MARTI, A.; MORENO-ALIAGA, M.J. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor- α . **British Journal of Nutrition**. v.97, p.389-398, 2007.

POPKIN, B.M. The nutrition transition and obesity in the developing world. **Journal of Nutrition**, v.131, p.871-873, 2001.

QUIRRENBACH, H.R.; KANUMFRE, F.; ROSSO, N.D.; FILHO, M.A.C. Comportamento do ácido fítico na presença de Fe(II) e Fe(III). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, 2009.

RAMOS, A.M.D.; SCOMPARIN, D.X.; GOMES, R.M.; FERRARESE, L.; BEN-HUR, F.; TORREZAN, R.; et al. Efeito da suplementação com isoflavona sobre o útero, metabolismo lipídico e glicemia de ratas ovariectomizadas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.52, n.9, 2008.

REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M.J.; RODRÍGUES-SEVILLA, M.D.; MATEOS-APARICIO, I. Chemical composition and dietary fibre of yellow and green commercial soybeans (*Glycine max*). **Food Chemistry**, v.101, p.1216-1222, 2006.

REYNOLDS, K.; CHIN, A.; LEES, K. A Meta-Analysis of the Effect of Soy Protein Supplementation on Serum Lipids. **The American Journal of Cardiology**, v.98, p.633-640, 2006.

RIOS, D. R.; RODRIGUES, E.T.; CARDOSO, A.P.Z.; MONTES, M.B.; FRANCESCHINI, S.A.; TOLOI, M.R.T. Lack of effects of isoflavones on the lipid profile of Brazilian postmenopausal women. **Nutrition**, v. 24, n.11-12, p.1153-8, 2008.

RITT, A.B.B. **Urease de soja [Glycine Max (L.) Merrill]: expressão em tabaco (Nicotiana tabacum) e atividade fungicida e/ou fungistática.** Tese do programa de pós-graduação em biologia celular e molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

ROSELL, M. S.; APPLEBY, P. N.; SPENCER, E. A.; KEY, T. J. Soy intake and blood cholesterol concentrations: a cross-sectional study of 1033 pre- and postmenopausal women in the Oxford arm of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, p.1391-1396, 2004.

ROWLAND, I.; FAUGHNAN, M.; HOEY, L.; WAHALA, K.; WILLIAMSON, G.; CASSIDY, A. Bioavailability of phyto-estrogens. **The British Journal of Nutrition**, v.89, p.45-58, 2003.

SACKS, F.M.; LICHTENSTEIN, A.; HORN, L.V.; HARRIS, W.; KRIS-ETHERTON, P.; WINSTON, M. Soy protein, Isoflavones, and Cardiovascular Health: A summary of a statement for professionals from the American heart Association Nutrition Committee. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.26, p.1689-1692, 2006.

SANCHEZ, A.; HUBBARD, R. W. Plasma amino acids and the insulin/ glucagon ratio as an explanation for the dietary protein modulation of atherosclerosis. **Medical Hypotheses**, v.36, p.27-32, 1991.

SANTANA, M.B.; MANDARINO, M.G.; CARDOSO, J.R.; DICHI, I.; DICHI, J.B.; CAMARGO, J.R.; et al. Association between soy and green tea (*Camellia sinensis*) diminishes hypercholesterolemia and increases total plasma antioxidant potential in dyslipidemic subjects. **Nutrition**, v.24, p.562-568, 2008.

SARMADI, B.H.; ISMAIL, A. Antioxidative peptides from food protein: A review. **Peptides**, v.31, n.10, p.1949-1956, 2010.

SGARBIERI, V.C. (1996) **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações.** São Paulo: Livraria Varela. 517p.

SHELNUTT, S.R.; CIMINO, C.O.; WIGGINS, P.A.; RONIS, M.J.K. BADGER, T.M. Pharmacokinetics of the glucuronide and sulfate conjugates of genistein and daidzeína in men and woman after consumption of soy beverage. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p.588-594, 2002.

SILK, D.B.A.; WALTERS, E.R.; DUNCAN, H.D.; GREEN, C.J. The effect of a polymeric enteral formula supplemented with a mixture of six fibres on normal human bowel function and colonic motility. **Clinical Nutrition**, v.20, p.49-58, 2001.

SILVA, M.H.L. **Desenvolvimento e caracterização de um isolado protéico de soja modificado com perfil de solubilidade da caseína do leite humano.** [Tese] Doutorado

em ciência e tecnologia de alimentos: Universidade federal de Viçosa, MG. Brasil: 2007.

SILVA, M.R.; SILVA, M.A.A.P. Antinutritional factors: protease inhibitors and lectins. **Revista de Nutrição**, v.13, n.1, p.3-9, 2000.

SIMONS, L.A.; VON KONIGSMARK, M.; SIMONS, J.; CELERMAJER, D. S. Phytoestrogens do not influence lipoprotein levels or endothelial function in healthy, postmenopausal women. **The American Journal of Cardiology**, v.85, p.1297-1301, 2000.

SIRTORI, C. R.; GALLI, C.; ANDERSON, J. W.; ARNOLDI, A. Nutritional and nutraceutical approaches to dyslipidemia and atherosclerosis prevention: Focus on dietary proteins. **Atherosclerosis**, v. 203, n.1, p.8-17, 2009.

SIRTORI, C. R. Drugs affecting HDL. Abstracts Issue: **Journal of Clinical Lipidology**, v.1, n.5, p.5, 2007.

TAKAHASHI, T.; [NAKAMURA, A.](#); [KATO, M.](#); [MAEDA, H.](#); [MANDELLA, R.C.](#); [BROADMEADOW, A.](#); RUCKMAN, S.A. Soluble soybean fiber: a 3-month dietary toxicity study in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.41, n.8, p.1111-21, 2003.

TONSTAD, S.; SMERUD, K.; HOIE, L. A comparison of the effects of 2 doses of soy protein or casein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p.78-84, 2002.

TORRES, N.; TORRE-VILLALVAZO, I.; TOVAR, A.R. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.17, n.6, p.365-373, 2006.

TORREZAN, R.; GOMES, R.M.; FERRARESE, M.L.; MELO, F.B.; RAMOS, A.M.D.; MATHIAS, P.C.F.; et al. O tratamento com isoflavonas mimetiza a ação do estradiol no acúmulo de gordura em ratas ovariectomizadas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.52, n.9, p.1489-1496, 2008.

TOVAR, A.R.; TORRE-VILLALVAZO, I.; OCHOA, M.; ELIAS, A.L.; ORTIZ, V.; AGUILAR-SALINAS, C.A.; et al. Soy protein reduces hepatic lipotoxicity in hyperinsulinemic obese Zucker fa/fa rats. **Journal of Lipid Research**, v.46, n.9, p.1823-1832, 2005.

TOVAR, A.R.; MURGUIA, F.; CRUZ, C.; HERNÁNDEZ-PANDO, R.; AGUILAR-SALINAS, C.A.; PEDRAZA-CHAVARRI, J.; et al. A soy protein diet alters hepatic lipid metabolism gene expression and reduces serum lipids and renal fibrogenic cytokines in rats with chronic nephritic syndrome. **The Journal of Nutrition**, v.132, p.2562-2569, 2002.

WANG, H.; MURPHY, P. Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa: Effects of variety, crop year, and location. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, p.1677-1674, 1994.

WILSON, T. A.; NICOLOSI, R. J.; KOTYLA, T.; FLECKINGER, B. Soy protein without isoflavonas reduces aortic total and cholesterol ester concentrations. **Nutrition Research**, v.27, p.498-504, 2007.

ZHOU, J.R.; ERDMAN, J.W. Phytic acid in health and disease. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, n.6, p.495-508, **1995**.

4. ARTIGOS

4.1. ARTIGO 1

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E VALOR NUTRICIONAL DE FARINHA INTEGRAL DE SOJA DO NOVO CULTIVAR UFVTN 105AP

RESUMO

A soja é uma leguminosa de importante significado na alimentação humana em decorrência de seu valor nutricional e funcional. Com o melhoramento genético, surgem novos cultivares com sabor melhorado e com composição química modificada, justificando a necessidade de estudos para avaliar a concentração de nutrientes. Nesse estudo avaliou-se a composição química centesimal, o perfil de ácidos graxos, a concentração de mioinositóis fosfato, de fenóis totais, de idoflavonas e de vitamina E e isômeros de farinha integral de soja de novo cultivar, UFVTN 105AP. A farinha integral de soja apresentou 43,1% de proteína, 18,6% de lipídios, 12,9% de carboidratos, 5,0% de cinzas e 9,9% de fibra alimentar, sendo 8,5% como fração insolúvel. Os ácidos graxos insaturados foram predominantes (85,61%), estando presente em maior quantidade o ácido linoléico, seguido do oléico e do alfa-linolênico. O mioinositol e o isômero de tocoferol encontrados em maior quantidade foi o hexafosfato e o γ -tocoferol, respectivamente. Dentre as isoflavonas, observou-se maior concentração de genistina e daidzina na forma de malonil e glicosídeos e menor concentração de agliconas. O novo cultivar de soja apresentou elevado teor de proteína, de isoflavonas e de ácidos graxos poliinsaturados, podendo ser uma boa alternativa de alimento protéico.

Palavras chave: Farinha integral de soja, composição centesimal, isoflavonas, fitatos, ácidos graxos, vitamina E, fenóis.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine Max. (L) Merrill*) e seus produtos têm sido valorizados economicamente devido à sua composição de nutrientes e à presença de fitoquímicos, que a classificam como um alimento de alto valor nutricional e com alegação funcional (ESTEVES *et al.*, 2010). Dentre os nutrientes importantes da soja, destacam-se a proteína e o lipídio, que correspondem a 40% e 20% do grão seco, respectivamente. As proteínas, além do seu elevado teor, apresentam bom valor nutricional (SILVA *et al.*, 2010) e o lipídio é constituído de ácidos graxos essenciais como o linoléico e alfa-linolênico e a vitamina E, com atividade antioxidante (BOLON *et al.*, 2010).

Essa leguminosa possui, ainda, em sua composição fibras alimentares, fitatos e compostos fenólicos, tais como as isoflavonas, que juntamente com a boa qualidade de sua proteína, tem sido reconhecido por produzirem efeitos benéficos à saúde, auxiliando na redução dos riscos de algumas doenças crônicas não transmissíveis (BEHRENS & SILVA, 2004; WILSON *et al.*, 2007; XIAO, 2008).

Apesar de ser considerada um alimento com alto valor nutricional e propriedades funcionais, os grãos de soja ainda não fazem parte do hábito alimentar brasileiro, devido seu sabor característico, causado pela presença das enzimas lipoxigenases que catalisam a oxidação dos ácidos graxos insaturados também presentes na soja (CIABOTTI *et al.*, 2006).

Como uma alternativa para melhorar as características sensoriais e nutricionais dos produtos da soja o Programa de Melhoramento de Soja para Consumo Humano, em desenvolvimento no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária da Universidade Federal de Viçosa (BIOAGRO-UFV) tem desenvolvido cultivares destituídos de lipoxigenases e com maior concentração de proteína e isoflavonas. Com o desenvolvimento desses novos cultivares, surge a necessidade de avaliar suas propriedades químicas, uma vez que esta pode ser influenciada pelo tipo de cultivar, melhoramento genético, condições de crescimento, processamento e preparo (ESTEVES *et al.*, 2010).

Neste estudo foi avaliada a composição química centesimal, o perfil de ácidos graxos, os teores de mioinositóis fosfatos, vitamina E, isoflavonas e fenóis totais de um novo cultivar de soja destinado à alimentação humana.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local do estudo

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Desenvolvimento de Novos Produtos e Análise Sensorial, Análise de Alimentos, Análise de Vitaminas e Bioquímica Nutricional do Departamento de Nutrição e Saúde; Laboratório de Análises Bioquímicas do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Aquisição da matéria prima

O cultivar UFVTN 105AP, destinado à alimentação humana, foi fornecido pelo Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa. É um cultivar desenvolvido sem as enzimas lipoxigenases LOX1, LOX2 e LOX3, denominada triplo nula, tornando-as de sabor mais adequado ao paladar dos consumidores ocidentais, com produtividade competitiva às normalmente utilizadas pelas indústrias. Além disso, a UFVTN 105AP possui teor mais elevado de proteínas em relação às variedades normalmente utilizadas para o consumo humano (CARVALHO, 2009).

O novo cultivar foi desenvolvido utilizando o método dos retrocruzamentos. O progenitor recorrente utilizado foi o cultivar Monarca e os progenitores doadores para ausência das lipoxigenases LOX1, LOX2 e LOX3 foram cultivares japoneses, enquanto o genótipo doador de alelos para alto teor protéico foi a variedade americana BARC-8. Inicialmente foram desenvolvidas separadamente isolinas de Monarca com ausência das lipoxigenases (seis retrocruzamentos) e com alto teor protéico (quatro retrocruzamentos), após a obtenção dessas isolinas estas foram cruzadas e após quatro gerações de autofecundação foram selecionadas plantas com ausência de lipoxigenases e alto teor protéico. As sementes da UFVTN 105AP foram plantadas em campo experimental da COOPADAP em São Gotardo, Minas Gerais, em novembro de 2006 e colhidas em abril de 2007 (CARVALHO, 2009).

Elaboração da farinha de soja

Os grãos de soja foram selecionados retirando as impurezas e sujidades e lavados em água corrente. Posteriormente toda a água foi drenada e os grãos foram espalhados em tabuleiros, permanecendo a temperatura ambiente por 24 horas. A seguir

foram submetidos à temperatura de 150°C por 30 minutos em estufa com circulação de ar (Nova Ética®, modelo 400/6ND) resfriados e armazenados em sacos plásticos. Para produção da farinha integral de soja, os grãos foram triturados com a casca em moinho de faca (Brabender®, modelo Rotary Mill, Duisburg, Alemanha) e passados por uma peneira de 60 mesh (0,250mm) (CARVALHO, 2009).

Composição centesimal

O teor de umidade foi determinado em estufa de circulação e renovação de ar (Marconi®, modelo MA 035) a 105°C, durante 24 horas, até peso constante (AOAC, 1997).

O teor de proteínas foi determinado segundo o método semi-micro de Kjeldahl, para a quantificação de nitrogênio total (AOAC, 1997). No cálculo da conversão de nitrogênio em proteínas foi utilizada a constante 6,25.

A determinação de lipídios foi realizada por extração em aparelho de Soxhlet, utilizando éter etílico como extrator, por 8 horas, sob refluxo, de acordo com a AOAC (1997).

O conteúdo de cinzas foi determinado por incineração em mufla a 550°C (AOAC, 1997).

O teor de fibra alimentar total da farinha integral de soja foi determinado pelo método enzimático gravimétrico (AOAC, 1992), utilizando-se kit enzimático da marca Sigma®. Esse método está fundamentado na porção não-hidrolisada do alimento que resiste à digestão enzimática sequencial com α -amilase, protease e amiloglicosidase.

O teor de carboidratos foi estimado por meio do cálculo da diferença entre 100 e a soma do conteúdo de proteínas, lipídios, fibra alimentar, umidade e cinzas. Este procedimento está previsto na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 360, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003).

O conteúdo calórico da farinha integral de soja foi calculado de acordo com a composição do alimento em proteínas, lipídios e carboidratos, sendo utilizados os fatores de conversão 4, 9 e 4 kcal/g dos macronutrientes, respectivamente.

Mioinositóis fosfatos

A quantificação de ácidos fítics foi realizada segundo a metodologia descrita pela AOAC (1990) e pelo método cromatográfico (Ultrasep®, modelo, ES 100 RP18, Leonberg, Alemanha), proposto por Sandberg e Ahderinne (1986).

Foi pesado cerca de 1 g de farinha de soja desidratada em triplicata e a extração foi realizada com 20 mL de HCl 2,4% por 3 h, à temperatura ambiente sob agitação. Após centrifugação a 30.000 x g por 30 minutos, 1 mL do sobrenadante foi diluído com 25 mL de água e adicionado na coluna (0,7 x 15 cm) contendo AG1-X8, resina 100-200 mesh. A coluna foi lavada com 25 mL de água e 25 mL de HCl 25 mM. Os mioinositóis fosfatos foram eluídos com 20 mL de HCl 2 M. Os eluentes obtidos foram concentrados em evaporador rotatório até secagem completa e o resíduo foi dissolvido em 1 mL de água. Foram injetados 20 µL no cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC), com velocidade de fluxo de 0,2 mL/min, 45°C, e a solução de ácido fórmico: metanol: água: hidróxido de tetrabutyl amônia (44:56:5:1,5 v/v), pH 4,25, como fase móvel. Uma mistura de ésteres de mioinositóis fosfatos foi utilizada como padrão. Os resultados foram expressos em g/100g de matéria seca.

Vitamina E

O processo de extração dos isômeros da vitamina E foi realizado de acordo com Guinazi (2004), com algumas modificações, conforme descrito a seguir.

Foram pesados aproximadamente 4 g de farinha integral de soja em tubo de extração e adicionado 4 mL de água ultrapura aquecida (aproximadamente 80°C). Em seguida, foram acrescentados 10 mL de isopropanol; 1 mL de hexano contendo 0,05% de butilhidroxitoluol (BHT) e 5 g de sulfato de sódio anidro. Aos poucos, foram adicionados 25 mL da mistura solvente de extração (hexano: acetato de etila, 85:15, v/v). Após esses procedimentos, as amostras foram trituradas utilizando microtritador, em velocidade média, durante 1 minuto. Uma vez trituradas, as amostras foram filtradas a vácuo em funil de büchner utilizando-se papel de filtro e manteve o resíduo no tubo de extração. A etapa de extração foi repetida, adicionando-se 5 mL de isopropanol e 30 mL da mistura solvente, com posterior homogeneização e filtração a vácuo.

Em seguida, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo a 70°C por cerca de 2 minutos e transferido para balão volumétrico e completado o volume para 25 mL com mistura solvente.

A análise dos isômeros da vitamina E foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) seguindo as condições cromatográficas desenvolvidas por Guinazi (2004) as quais incluíram: sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu, modelo SCL 10AT VP) composto de bomba de alta pressão (modelo LC-10AT VP), injetor automático com “loop” de 50 µL (modelo SIL-10AF), coluna cromatográfica LiChrosorb (Si60 Phenomenex 250 x 4 mm, 5 µm), detector de fluorescência (modelo RF-10A XL, 290 nm de excitação e 330 nm de emissão), software "Multi System" (modelo Class VP 6.1), fase móvel – hexano: isopropanol (99,6:0,4) ajustados para pH 2,5 com ácido acético glacial, fluxo da fase móvel: 1,0 mL/minuto; tempo de corrida: 30 minutos.

Após extração, alíquotas de 5 mL foram secas em nitrogênio, redissolvidas em 2 mL de hexano e filtradas utilizando unidades filtrantes com porosidade de 0,45 µm. Dessa forma, foram injetados 50 µL dos extratos para análise do α -tocoferol e γ -tocoferol.

O conteúdo total de vitamina E foi calculado pela soma dos isômeros identificados na farinha integral de soja, sendo os resultados expressos em mg/100g de matéria fresca.

Fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais presentes no extrato hidroalcolico das amostras da farinha integral de soja foi realizada utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (SINGLETON *et al.*, 1999).

Para a obtenção do extrato contendo os fenóis foi misturado 0,5 g de farinha integral de soja em 5 mL de solvente de extração (metanol:água – 60:40) em erlemeyer, e a mistura foi agitada por 20 minutos em temperatura ambiente. O extrato foi centrifugado a 1.000 x g, obtendo-se o sobrenadante. Em tubos contendo 100 µL do extrato foram adicionados 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e, em seguida, 500 µL de solução de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura de reação foi incubada por 30 minutos em temperatura ambiente. Em seguida a absorbância foi lida a 765 nm, contra o “branco” que continha metanol e todos os reagentes, menos o extrato. O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância da amostra contra uma curva de calibração construída com padrão de ácido gálico. O resultado foi expresso em miligrama de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 gramas de farinha. A equação

da curva de calibração do ácido gálico foi $C = 24,888 A + 0,0246$, onde C é a concentração do ácido gálico, A é a absorbância a 765 nm ($R = 0,99$).

Perfil de ácidos graxos

A identificação e a quantificação dos ácidos graxos presentes na farinha integral de soja (ácidos palmítico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico) foram realizadas por cromatografia gasosa. Foram pesados 15 mg da farinha e foi adicionado 1 mL de hexano, sendo a mistura mantida a 4°C por cerca de 16 horas, sob atmosfera de N₂. Após esse tempo, a solução de lipídios em hexano foi transferida para outro tubo e o solvente foi evaporado por borbulhamento de N₂. Para a obtenção dos ésteres metílicos, utilizou-se a metodologia descrita por Bubeck *et al.* (1989).

À fração de lipídio foi adicionado 0,4 mL de metóxido de sódio 1M, sendo os tubos mantidos em banho-maria a 30°C, por cerca de uma hora. Acrescentou-se, então, 1 mL de água e 1 mL de hexano. Após uma hora, com o auxílio de uma pipeta, cerca de 0,75 mL da fase orgânica foi transferida para outros tubos, aos quais se adicionou sulfato de sódio anidro. Finalmente, 1 µL da fase orgânica foi injetado em cromatógrafo a gás GC-17A, equipado com auto-injetor AOC-17 e integrador C-R7A, marca SHIMADZU. Utilizou-se coluna Carbowax (30m x 0,32mm) e as condições de análise foram: temperatura da coluna igual a 225°C; do injetor, 245°C; e do detector, 280°C. O gás de arraste foi o nitrogênio, com um fluxo de 1,1 mL/min.

A relação ômega 6/ômega 3 foi calculada pela divisão do teor de ácido linoléico pelo teor de ácido alfa-linolênico.

Isoflavonas e isômeros

As isoflavonas foram determinadas de acordo com a metodologia descrita por Oliveira *et al.* (2007).

Foram extraídas de, aproximadamente, 1 g da farinha integral de soja em 20 mL de metanol 80%. A mistura foi mantida sob agitação por duas horas, em banho de gelo, utilizando-se agitador mecânico e barra magnética. Após centrifugação a 16.100 x g por 5 min, sob refrigeração, os extratos foram filtrados em membrana de politetrafluoroetileno de 0,45 µm e 20 µL do filtrado foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa.

A análise cromatográfica foi realizada em cromatógrafo da marca SHIMADZU, série 10A. Para a separação dos compostos, utilizou-se uma coluna Shim-

pack CLC-ODS(M) (5 µm, 250 x 4,6 mm), da marca SHIMADZU, mantida a 40 °C. A eluição foi realizada a um fluxo de 1,0 mL/min, em sistema gradiente, utilizando-se duas soluções: 0,1% de ácido acético em água Milli-Q (A) e 0,1% de ácido acético em acetonitrila (B). O gradiente de acetonitrila foi formado como se segue: uma concentração de 15% da solução B foi mantida por 1 min, seguindo acréscimos da concentração da solução B de 15 a 18% em 11 min, de 18 a 22% em 14 min, de 22 a 23% em 10 min e de 23 a 29% em 4 min, mantendo-se em 29% por 5 min e aumentando de 29 a 50% em 9 min. Concluída a separação das isoflavonas, a concentração da solução B foi elevada de 50 a 80% em 6 min, retornando a 15% em 5 min, sendo necessários mais 10 min para equilibrar o sistema para as injeções subsequentes.

A detecção dos compostos foi realizada em detector espectrofotométrico a 260 nm e a identificação realizada por comparação com os tempos de retenção dos padrões. Foram utilizados padrões de daidzeína, genisteína, gliciteína, glicitina, daidzina, 6''-O-acetilgenistina, 6''-O-acetildaidzina, 6''-O-acetilglicitina, 6''-O-malonilgenistina, 6''-O-malonildaidzina e de 6''-O-malonilglicitina.

A quantificação foi realizada pelo método de padronização externa. Todo o processo foi controlado por um microcomputador, equipado com software LC-10 para Windows 95, acoplado ao sistema. Os teores de daidzeína total, genisteína total, gliciteína total e isoflavonas totais foram calculados pelas equações abaixo, na qual, utiliza o peso molecular de cada isômero e, em seguida, multiplica-se pelo valor da diluição utilizada:

$$\text{Daidzeína total} = 254,23 \left(\text{daidzina}/416,36 + 6''\text{-O-malonildaidzina}/502,41 + 6''\text{-O-acetildaidzina}/458,4 + \text{daidzeína}/254,23 \right) \times 20$$

$$\text{Genisteína total} = 270,23 \left(\text{genistina}/432,37 + 6''\text{-O-malonilgenistina}/518,41 + 6''\text{-O-acetilgenistina}/474,4 + \text{genisteína}/270,23 \right) \times 20$$

$$\text{Gliciteína total} = 284 \left(\text{glicitina}/446 + 6''\text{-O-malonilglicitina}/532 + 6''\text{-O-acetilglicitina}/488 + \text{gliciteína}/284 \right) \times 20$$

$$\text{Isoflavonas totais} = \text{daidzeína total} + \text{genisteína total} + \text{gliciteína total}$$

Delineamento experimental

As análises foram realizadas em três replicatas e os resultados expressos em médias.

RESULTADOS

A composição química centesimal, a densidade energética e a quantidade de fenóis totais da farinha integral de soja do cultivar UFVTN 105AP estão apresentadas na Tabela 1. Dentre os macronutrientes, a farinha integral de soja apresentou maior teor de proteína, seguido de lipídios. A fibra alimentar encontrada em maior concentração foi a fração insolúvel.

Tabela 1 - Caracterização química da farinha integral de soja ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$).

Constituintes	$\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$
Proteína	43,1
Lipídios	18,6
Cinza	5,0
Umidade	6,4
Carboidrato	12,9
Fibra alimentar total	9,9*
Fibra alimentar insolúvel	8,5
Fibra alimentar solúvel	1,4
Densidade energética ($\text{Kcal}\cdot\text{g}^{-1}$)	3,92
Fenóis totais ($\text{mg de EAG}\cdot 100\text{g}^{-1}$)	60

* Soma da fração solúvel e insolúvel da fibra alimentar.

A farinha integral de soja apresentou predominância de ácidos graxos insaturados (85,61%), constituído pelas frações de ácido linoléico, seguido pelo oléico e alfa-linolênico. Dentre os ácidos graxos saturados foram encontrados o palmítico e o esteárico (Tabela 2).

Tabela 2 - Composição em ácidos graxos e relação ômega 6/ômega 3 da farinha integral de soja ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$).

Ácido graxo	($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
Insaturado	
Oléico (18:1)	20,52
Linoléico (18:2)	57,88
Alfa-linolênico (18:3)	7,20
Total	85,60
Saturado	
Palmítico (16:0)	11,07
Esteárico (18:0)	3,31
Total	14,38
Ômega 6/ômega 3	8,04

Os teores de mioinositol hexafosfato (IP6), pentafofato (IP5), tetrafofato (IP4), e trifosfato (IP3) da farinha integral de soja, em base seca, estão expostos na Tabela 3, sendo encontrado maior quantidade de mioinositol hexafosfato.

Tabela 3 - Concentração de mioinositol hexafosfato (IP6), pentafofato (IP5), tetrafofato (IP4), e trifosfato (IP3) em base seca da farinha integral de soja ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$).

Mioinositol fosfato	$\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$
IP6	0,67
IP5	0,27
IP4	0,12
IP3	0,05
Total	1,11

Foram encontrados os isômeros α -, γ - e δ -tocoferol na farinha integral de soja, sendo predominante o γ -tocoferol, seguido dos isômeros δ - tocoferol e α - tocoferol (Tabela 4).

Tabela 4 - Concentração de α -tocoferol ($\alpha - T$), γ -tocoferol ($\gamma - T$), δ -tocoferol ($\delta - T$) e vitamina E total da farinha integral de soja ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ base seca).

Amostra	Isômeros			Vitamina E total
	$\alpha - T$	$\gamma - T$	$\delta - T$	
Farinha integral de soja	0,42	2,53	0,89	3,85

A concentração de isoflavonas totais e de genistina, daidzina e glicitina, e de cada uma de suas formas encontradas na farinha integral de soja, do cultivar UFVTN 105AP, está apresentada na Tabela 5. Observou-se maior concentração de genistina, seguido de daidzina nas formas de malonil e glicosídios. A glicitina foi a isoflavona gliconada encontrada em menor quantidade. As agliconas foram encontradas em menor quantidade na farinha integral de soja.

Tabela 5 - Conteúdo de isoflavonas da farinha integral de soja ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$).

	Isômeros	$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
Glicosídios	Daidzina	308,66
	Genistina	498,12
	Glicitina	106,38
Malonil-	Daidzina	395,06
	Genistina	526,20
	Glicitina	38,46
Acetil-	Daidzina	227,82
	Genistina	233,92
	Glicitina	99,48
Agliconas	Daidzeína	143,32
	Genisteína	34,48
	Gliciteína	9,08
Total	Isoflavonas	1566,81

DISCUSSÃO

A farinha integral de soja do cultivar UFVTN 105AP apresentou composição química semelhante aos valores encontrados na literatura para outros cultivares de soja com e sem a presença da enzima lipoxigenase (MONTEIRO *et al.*, 2004; MORAIS *et al.*, 2006; MENDES *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2007; ESTEVES *et al.*, 2010), indicando que a retirada da enzima lipoxigenase não interferiu na composição química do cultivar.

O alto teor de proteína encontrado na farinha integral de soja (43%) indicou que a soja é uma boa fonte protéica, porém seu valor biológico é ainda questionado, pois sabe-se que as proteínas das leguminosas têm como fator limitante os aminoácidos sulfurados, tais como metionina + cisteína. Morais *et al.* (2006) determinaram a composição de aminoácidos dos grãos da soja UFVTN 105, de teor normal de proteína, que é o cultivar que gerou a UFVTN 105AP, de elevado teor protéico e encontraram que esse cultivar tinha como limitante os aminoácidos metionina + cisteína, lisina, histidina, treonina e valina. Entretanto, Carvalho (2009) avaliou o perfil de aminoácidos da farinha integral de soja, do mesmo cultivar em estudo (UFVTN 105AP), e encontrou um perfil adequado de aminoácidos essenciais, exceto para o aminoácido de cadeia ramificada, valina. Portanto, esse resultado indicou que ao aumentar o teor de proteína do cultivar, houve melhora no balanço de aminoácidos essenciais, tendo como limitante apenas a valina.

A concentração de fibra alimentar da farinha integral de soja está dentro da faixa encontrada por Redonto-Cuenca *et al.* (2006), que variou de 9,19% a 16,5%. Entretanto, Esteves *et al.* (2010) encontraram valores inferiores do teor de fibras alimentares nas farinhas de soja estudadas e a quantidade de fibra solúvel foi maior que a insolúvel, diferente do resultado encontrado no presente estudo. Essa diferença pode ser explicada pela retirada da casca na produção das farinhas do estudo citado, indicando que a casca é rica em fibra insolúvel.

A recomendação de fibra alimentar é de 15 g/1000 Kcal por dia (Institute of Medicine, 2002). Com isso 100 g da farinha integral de soja pode fornecer aproximadamente 40% da recomendação diária, sendo uma boa fonte de fibra alimentar.

A farinha integral de soja do cultivar analisado no presente estudo apresentou o teor de lipídios menor que ao encontrado por Morais *et al.* (2006), Mendes *et al.* (2007) e Esteves *et al.* (2010). Essa concentração reduzida de lipídios é porque o cultivar UFVTN 105AP tem como característica o aumento da concentração de proteína o que,

consequentemente, diminuiu o teor de lipídios, uma vez que a correlação entre esses dois nutrientes na soja é negativa, ou seja, à medida que aumenta o teor de proteínas, o teor de lipídio reduz, o que contribui para diminuir o valor calórico da farinha integral de soja (MORAIS *et al.*, 2006).

A farinha integral de soja do cultivar UFVTN 105AP apresentou um perfil de ácidos graxos semelhante ao encontrado por Vieira *et al.* (1999) e Esteves *et al.* (2010), sendo predominante os ácidos graxos poliinsaturados, em especial, o ácido linoléico. Esse teor elevado de ácidos graxos insaturados tornaria a farinha de soja muito susceptível às reações de oxidação, principalmente com a presença das enzimas lipoxigenases. Entretanto, o cultivar de soja em estudo é isento, geneticamente, destas enzimas, o que pode minimizar a oxidação da farinha de soja do estudo.

A relação ômega 6/ômega 3 encontrada na farinha integral de soja (8,04) está dentro das recomendações do Institute of Medicine (2002), na qual deve estar na faixa de 5:1 a 10:1.

O teor total de mioinositóis fosfatos do cultivar UFVTN 105AP foi semelhante ao encontrado por Paula (2007) em 34 cultivares de soja. Os inositóis hexa e pentafosfato, encontrados em maior quantidade na farinha estudada, têm demonstrado efeito negativo na biodisponibilidade de minerais, enquanto os demais (tetra e trifosfato) apresentam alegação de propriedade funcional, como potencial antioxidante (KUMAR *et al.*, 2010).

A quantidade total de vitamina E e os isômeros de tocoferol encontrado na farinha integral de soja foi inferior ao reportado em óleos de soja (LIMA & GONÇALVES, 1997; EVANS *et al.*, 2002 e WARNER, 2005). Esse resultado pode ser devido ao tratamento térmico e ao processamento empregado aos grãos de soja para produção da farinha integral de soja, uma vez que o processamento dos alimentos elimina uma considerável quantidade de tocoferóis, e ainda que contenham boas quantidades destes, contém consideravelmente menos que o óleo bruto (JOHNSON & PETERSON, 2001).

A recomendação atual de vitamina E é de 15 mg/dia, devendo ser baseados exclusivamente no α -tocoferol, devido ao fato desse isômero ser biologicamente ativo (AMAYA-FARFAN *et al.*, 2001; BATISTA *et al.*, 2007). Em 100 gramas da farinha integral de soja há 3,85 mg de vitamina E, sendo 0,42 mg de α -tocoferol. Com isso, o consumo de 100 gramas de farinha integral de soja estaria suprimindo 2,8% das

recomendações diárias de α -tocoferol, tendo uma baixa contribuição no fornecimento de vitamina E, na forma de α -tocoferol.

A farinha integral de soja do cultivar UFVTN 105AP apresentou teor total de isoflavonas superior ao encontrado por Oliveira *et al.* (2007) e Esteves *et al.* (2010) e inferior ao encontrado por Barbosa *et al.* (2006) e Ciabotti *et al.* (2006). Essa diferença encontrada entre os estudos pode ser explicada pelo cultivar, solo, clima, local onde foi cultivada e, principalmente do tipo de processamento utilizado no preparo dos produtos de soja, uma vez que esses fatores interferem na concentração de isoflavonas na soja e seus derivados (BARBOSA *et al.*, 2006).

Segundo Barbosa *et al.* (2006), as principais isoflavonas presentes nas farinhas, isolados, concentrados e texturizados protéicos de soja são as malonilgenistina, genistina, malonildaidzeína e daidzeína, tendo sido estas também as isoflavonas encontradas em maior quantidade na farinha integral de soja em estudo.

As isoflavonas na forma de agliconas e acetilglicosídeos podem ser formadas durante o aquecimento (PARK *et al.*, 2002). A farinha integral de soja em estudo apresentou concentração superior de acetilglicosídeos e agliconas e inferior de malonilglicosídeos comparado à soja sem tratamento térmico estudado por Oliveira *et al.* (2007), indicando que o tratamento à 150°C por 30 minutos contribuiu para a conversão do malonilglicosídeos à acetilglicosídeos e agliconas na farinha de soja. Essa conversão é um processo vantajoso, uma vez que as agliconas são as formas biologicamente ativas (PENHA *et al.*, 2007).

Na farinha integral de soja foi encontrado maior quantidade de daidzeína que de genisteína, podendo reduzir o aproveitamento da isoflavona pelo organismo humano, uma vez que a genisteína é mais absorvida que a daidzeína (PENHA *et al.*, 2007).

CONCLUSÃO

A farinha integral de soja do cultivar UFVTN 105AP apresentou elevado teor de proteína, de isoflavonas, fibra alimentar e ácidos graxos poliinsaturados e contém vitamina E, podendo ser uma alternativa de alimento protéico de origem vegetal, rico em micronutrientes e em compostos bioativos. Porém, seus efeitos metabólicos devem ser investigados, no contexto de uma alimentação saudável e adversa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S.M.A.; PADOVANI, R.M. DRI: síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.14, n.1, p. 71-78, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**: 15. ed. Washington: AOAC, p.1298. 1990.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**: 15. ed. Washington: AOAC, p.136-138. 1992.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. Maryland: AOAC, 1997. v.2.

BATISTA, E.S.; COSTA, A.G.V.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M. Adição da vitamina E aos alimentos: implicações para os alimentos e para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, v.20, n.5, p.525-535, 2007.

BARBOSA, A.C.L.; HASSIMOTTO, N.M.A.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.4, p.921-926, 2006.

[BEHRENS, J.H.](#); [SILVA, M.A.A.P.](#) Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.3, p.431-439, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Anvisa: Brasília.

BOLON, Y.T.; JOSEPH, B.; CANNON, S.B.; GRAHAM, M.A.; DIERS, B.W.; FARMER, A.D.; MAY, G.D.; MUEHLBAUER, G.J.; SPECHT, J.E.; TU, Z.J.; WEEKS, N.; XU, W.W.; SHOEMAKER, R.C.; VANCE, C.P. Complementary genetic and genomic approaches help characterize the linkage group I seed protein QTL in soybean. **BMC Plant Biology**, v.3, p.10-41, 2010.

BUBECK, D.M.; FEHR, W.R.; HAMMOND, E.G. Inheritance of Palmitic and Stearic Acid Mutants of Soybean. **Crop Science**, v.29, p.652-656, 1989.

CARVALHO, A.W. **Caracterização nutricional, biodisponibilidade de ferro e qualidade protéica de novo cultivar de soja sem lipoxigenases e de elevado teor protéico**. [dissertação]. Ciência da Nutrição: Universidade Federal de Viçosa, MG. Brasil; 2009.

CIABOTTI, S.; BARCELLOS, M.F.P.; MANDARINO, J.M.G.; TARONE, A.G. Avaliação química e bioquímica dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de lipoxigenase. **Ciência agrotécnica**, v.30, n.5, p.920-929, 2006.

ESTEVEES, E.A.; MARTINO, H.S.D.; OLIVEIRA, F.C.E.; BRESSAN, J.; COSTA, N.M.B. Chemical composition of a soybean cultivar lacking lipoxygenases (lox2 and lox3). **Food Chemistry**, v.122, n.1, p.238-242, 2010.

EVANS J.C.; KODALI, D.R.; ADDIS, P.B. Optimal tocopherol concentrations to inhibit soybean oil oxidation. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.79, n.1, p.47-51, 2002.

GUINAZI, M. **Tocoferóis e tocotrienóis em hortaliças, ovos e óleos vegetais utilizados em restaurantes comerciais** [dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2004.

IOM (2002). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). Washington, DC: Institute of Medicine and Food & Nutrition Board. National Academy Press.

JOHNSON, A.; PETERSON, M. Componentes específicos de los aceites vegetales: tocoferoles. In: Libro 10° Aniversario A & G: Recopilación de Artículos Técnicos. Tomo II. Ediciones 1 a 41, 1990-2000. Argentina: Asociación Argentina de Grasas y Aceites, 2001. p.733.

KUMAR, V.; SINHA, A.K.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. **Food Chemistry**, v.120, p.945-959, 2010.

LIMA, J.R.; GONÇALVES, L.A.G. Quantificação de tocoferóis em óleos de milho, soja, castanha-do-pará e castanha de caju por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa. **Alimentos e Nutrição**, v.8, p.65-73, 1997.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: Chapman e Hall. 1997.

MENDES, F.Q.; OLIVEIRA, M.G.A.; CARDOSO, L.R.; COSTA, N.M.B.; SANT'ANA, R.C.O. Digestibilidade protéica e caracterização bromatológica de linhagens de soja com ausência ou presença do inibidor de tripsina kunitz e das isozimas lipoxigenases. **Bioscience Journal**, v.23, n.1, p.14-21, 2007.

MONTEIRO, M.R.P.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.D.A.; PIRES, C.V.; MOREIRA, M.A. Qualidade protéica 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.

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

OLIVEIRA, M.I.P.; PIOVESAN, N.D.; JOSÉ, I.C.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A.; OLIVEIRA, L.O. Protein, Oil, and Isoflavone Contents in Lipoxxygenase- and Kunitz Trypsin Inhibitor-Deficient Soybean Seeds. **Chromatographia**, v.66, p.521-527, 2007.

PARK, Y.K.; AGUIAR, C.L.; ALENCAR, S.M.; MASCARENHAS, H.A.A.; SCAMPARINI, A.R.P. Conversão de malonil- β -glicosil isoflavonas em isoflavonas glicosiladas presentes em alguns cultivares de soja brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.2, p.130-135, 2002.

PAULA, S.A. **Composição bioquímica e fatores antinutricionais de genótipos de soja** [dissertação]. Bioquímica Agrícola: Universidade Federal de Viçosa, MG. Brasil; 2007.

PENHA, L.A.O.; FONSECA, I.C.B.; MANDARINO, J.M.; BENASSI, V.T. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.25, n.1, p.91-102, 2007.

REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M.J.; RODRÍGUES-SEVILLA, M.D.; MATEOS-APARICIO, I. Chemical composition and dietary fibre of yellow and green commercial soybeans (*Glycine max*). **Food Chemistry**, v.101, p.1216-1222, 2006.

SANDBERG, A. e AHDERINNE, R. HPLC method for determination of inositol tri-, tetra-, penta-, hexaphosphates in foods and intestinal contents. **Journal of Food Science**, v.51, p.547-550, 1986.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMAUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v.299, p.152-178, 1999.

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

VIEIRA, C.R.; CABRAL, L.C.; PAULA, A.C.O. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.34, n.7, p.1277-1283, 1999.

WARNER, K. Effects on the flavor and oxidative stability of stripped soybean and sunflower oils with added pure tocopherols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p. 9906-9910, 2005.

WILSON, T.A.; NICOLOSI, R.J.; KOTYLA, T.; FLECKINGER, B. Soy protein without isoflavones reduces aortic total and cholesterol ester concentrations greater than soy protein with isoflavones compared with casein in hypercholesterolemic hamsters. **Nutrition research**, v.27, n.8, p.498-504, 2007.

XIAO, C.W. Health Effects of Soy Protein and Isoflavones in Humans. **The Journal of Nutrition**, v.138, p.1244S-9S, 2008.

4.2. ARTIGO 2

EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE FARINHA INTEGRAL DE SOJA DO CULTIVAR UFVTN 105AP EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETAS EQUILIBRADA E OBESOGÊNICA

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito metabólico da ingestão de farinha integral de soja em ratos alimentados com dietas equilibrada e obesogênica. Foi utilizado ratos machos *Wistar* adultos distribuídos em cinco grupos (n=10), durante 56 dias. O grupo controle recebeu dieta AIN-93M, os grupos testes receberam dietas com substituição de 100% (100% PS) e 50% (50% PS) da caseína por proteína da farinha integral de soja, dieta de cafeteria (CAF) e dieta de cafeteria com farinha integral de soja (CAFS). Foi avaliado o ganho de peso dos animais e o consumo alimentar; a concentração sérica de triglicerídeos, colesterol total, HDL-c, hemoglobina glicada, aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferase; a concentração de TBARS no soro, fígado, pulmão, testículo e rins; o teor de lipídios nas fezes e o peso do fígado. Foi calculada a quantidade de gordura por área no fígado e a histomorfometria do duodeno. Não foi observado diferença ($p < 0,05$) no ganho de peso entre os grupos experimentais, mas o consumo alimentar foi menor ($p < 0,05$) nos grupos CAF e CAFS. O nível sérico de colesterol total no grupo AIN-93M não diferiu ($p > 0,05$) dos grupos 50% PS e CAFS e foi menor ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAF. Porém, o grupo CAF não diferiu ($p < 0,05$) dos grupos 50% PS e CAFS. Os níveis séricos de HDL-c foram menores ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS, CAF e CAFS, e maiores ($p < 0,05$) nos grupos AIN-93M e 50% PS. Os níveis de triglicerídeos sanguíneos foram menores ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAFS. Porém, o grupo CAFS não diferiu ($p > 0,05$) dos grupos AIN-93M, 50% PS e CAF. Os grupos CAF e CAFS apresentaram maiores ($p < 0,05$) níveis séricos de hemoglobina glicada. A excreção fecal de lipídios foi maior ($p < 0,05$) nos grupos CAF e CAFS, e menor ($p < 0,05$) no grupo AIN-93M. O grupo 100% PS apresentou aumento da excreção fecal de lipídios comparado aos grupos AIN-93M e 50% PS. A porcentagem de gordura no fígado foi maior ($p < 0,05$) no grupo 100% PS e menor ($p < 0,05$) no grupo CAFS. Os níveis séricos de AST não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais e de ALT foram maiores ($p < 0,05$) nos grupos CAF e CAFS. A

concentração de TBARS no soro foi menor ($p<0,05$) nos grupos 100% PS e CAF, e maior ($p<0,05$) nos grupos AIN-93M e CAFS. Os grupos CAF e CAFS apresentaram maior ($p<0,05$) concentração de TBARS no fígado. A concentração de TBARS no pulmão foi maior ($p<0,05$) no grupo CAFS. A concentração de TBARS no testículo foi maior ($p<0,05$) nos grupos 50% PS, CAFS e CAF e menor ($p<0,05$) nos grupos AIN-93M e 100% PS. A concentração de TBARS no rim foi maior ($p<0,05$) no grupo CAF. A altura das vilosidades foi maior ($p<0,05$) no grupo AIN-93M e menor ($p<0,05$) nos grupos 100% PS e CAF. A medida da profundidade das criptas foi maior ($p<0,05$) nos grupos CAF e CAFS. A medida da espessura da camada muscular externa e interna foi maior ($p<0,05$) no grupo CAFS. A farinha integral de soja apresentou efeito na prevenção de alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares quando ingerida junto à dieta equilibrada, devido à sua ação hipolipidêmica, a capacidade de reduzir a peroxidação lipídica no soro e não causou danos hepáticos. Porém, não apresentou esse efeito preventivo quando ingerida com uma dieta obesogênica. A farinha integral de soja, na dieta equilibrada, reduziu as vilosidades intestinais indicando que ela pode causar efeitos prejudiciais sobre a absorção de nutrientes no intestino.

Palavras chave: farinha integral de soja, proteína de soja, dieta de cafeteria, histomorfometria intestinal, lipídios séricos, peroxidação de lipídios.

INTRODUÇÃO

A soja tem sido amplamente estudada como um alimento funcional, pois além da elevada concentração e qualidade de sua proteína, contém compostos bioativos, como as isoflavonas, que podem contribuir na redução dos fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis (DEMONTY *et al.* 2002; WILSON *et al.*, 2007; XIAO, 2008; CEDERROTH e NEF, 2009).

Vários estudos têm investigado o efeito da substituição da proteína animal por proteína de soja, e têm encontrado efeito positivo, especialmente no metabolismo de lipídios (ROSELL *et al.*, 2004; HOIE *et al.*, 2005; CHAGAS *et al.*, 2006; SAWASHITA, 2006; WILSON *et al.*, 2007; SIRTORI *et al.*, 2009). Algumas evidências mostraram-se favoráveis à ação direta da proteína e, ou peptídeos em lugar de outros componentes químicos presentes na soja (FUKUI *et al.*, 2004; SACKS *et al.*, 2006), e outras mostraram que o efeito hipocolesterolemizante da proteína de soja está associado à presença das isoflavonas (DEMONTY *et al.*, 2002; WILSON *et al.*, 2007), que também tem ação antioxidante, auxiliando na redução da peroxidação de lipídios (HENEMAN *et al.*, 2007; CEDERROTH e NEF, 2009; NAGARAJAN, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Os efeitos da proteína e da isoflavona da soja, têm sido investigados de forma isolada ou associados entre si, o que, muitas vezes, não demonstra a realidade do consumo da soja de forma integral, uma vez que ela também contém fibras alimentares e ácidos graxos poliinsaturados, assim como fitatos, inibidores de proteases e lipoxigenase que apresentam propriedades antinutricionais e, ao mesmo tempo, funcionais.

O novo cultivar de soja UFVTN 105AP, destinado a alimentação humana, oferece elevada concentração de proteína e é isento das enzimas lipoxigenases com o intuito de melhorar as características sensoriais e nutricionais da soja. Com o desenvolvimento desse novo cultivar, surge a necessidade de avaliar os seus efeitos, benéficos ou adversos, no organismo associados à uma dieta equilibrada e também obesogênica, característica do estilo de vida moderno.

A dieta de cafeteria tem sido um modelo útil de dieta obesogênica devido a elevada concentração de gordura saturada, carboidratos simples e energia. Ela reproduz o consumo alimentar de sociedades modernas, em que grande parte das refeições é realizada em cafeterias e *fast foods*, denominada de dieta ocidental (PEREIRA *et al.*, 2003; CAMPIÓN e MARTINEZ, 2004).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da ingestão de farinha integral de soja no metabolismo de lipídios e de carboidratos, na peroxidação lipídica, na concentração sérica das enzimas alanina e aspartato aminotransferase e na histomorfometria intestinal e hepática de ratos alimentados com dieta equilibrada e obesogênica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local do estudo

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Desenvolvimento de Novos Produtos e Análise Sensorial, Nutrição Experimental, Análise de Alimentos e Bioquímica Nutricional do Departamento de Nutrição e Saúde; e Laboratório de Biologia de Peixes do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Aquisição da matéria prima

A soja do cultivar UFVTN 105AP, destinado à alimentação humana, foi fornecido pelo Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa. É um cultivar desenvolvido sem as enzimas lipoxigenases LOX1, LOX2 e LOX3, denominada triplo nula, tornando-as de sabor mais adequado ao paladar dos consumidores ocidentais, com produtividade competitiva às normalmente utilizadas pelas indústrias. Além disso, a UFVTN 105AP possui teor mais elevado de proteínas em relação às variedades normalmente utilizadas para o consumo humano (CARVALHO, 2009).

O novo cultivar foi desenvolvido utilizando o método dos retrocruzamentos. O progenitor recorrente utilizado foi o cultivar Monarca e os progenitores doadores para ausência das lipoxigenases LOX1, LOX2 e LOX3 foram cultivares japoneses, enquanto o genótipo doador de alelos para alto teor protéico foi a variedade americana BARC-8. Inicialmente foram desenvolvidas separadamente isolinas de Monarca com ausência das lipoxigenases (seis retrocruzamentos) e com alto teor protéico (quatro retrocruzamentos), após a obtenção dessas isolinas estas foram cruzadas e após quatro gerações de autofecundação foram selecionadas plantas com ausência de lipoxigenases e alto teor protéico. As sementes da UFVTN 105AP foram plantadas em campo

experimental da COOPADAP em São Gotardo, Minas Gerais, em novembro de 2006 e colhidas em abril de 2007 (CARVALHO, 2009).

Elaboração da farinha integral de soja

Os grãos de soja foram selecionados retirando as impurezas e sujidades e lavados em água corrente. Posteriormente toda a água foi drenada e os grãos foram espalhados em tabuleiros, permanecendo a temperatura ambiente por 24 horas. A seguir foram submetidos à temperatura de 150°C por 30 minutos em estufa com circulação de ar (Nova Ética®, modelo 400/6ND) resfriados e armazenados em sacos plásticos. Para produção da farinha integral de soja, os grãos foram triturados em moinho de faca (Brabender®, modelo Rotary Mill, Duisburg, Alemanha) e passados por uma peneira de 60 mesh (0,250mm) (CARVALHO, 2009).

Animais e dietas experimentais

Foram utilizados 50 ratos machos adultos da espécie *Ratus norvegicus albinus*, Mammalia, da linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram adquiridos recém-desmamados, sendo mantidos em gaiolas individuais em ambiente climatizado e recebendo dieta comercial até alcançarem a fase adulta (75 dias de idade), quando atingiram peso corporal entre 300 a 350 g.

No período experimental, os animais também foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com temperatura controlada em $22 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas e recebendo diariamente dieta e água destilada *ad libitum*. Foram constituídos cinco grupos com 10 animais cada, recebendo dietas experimentais conforme a tabela 1, por um período de 56 dias, seguindo modelo do estudo de Milagro *et al.* (2006). As quantidades de ingredientes foram ajustadas para se obter dietas isocalóricas entre os dois grupos (equilibrada e obesogênica).

As dietas foram elaboradas semanalmente e mantidas em freezer convencional (-24°C).

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais (g/100g de mistura).

Ingredientes	Dietas equilibradas			Dietas obesogênicas	
	AIN-93M	Farinha Integral de Soja		CAFS	CAF
		100% PS	50% PS		
Caseína (82% proteína) (Rhoster®)	15,40	-	7,70	0	0
Sacarose (União® refinada)	10,00	10,00	10,00	0	0
Amido de Milho (Anchieta®)	43,92	40,77	42,34	0	0
Amido Dextrinizado (Cor Products®)	15,50	15,50	15,50	0	0
Óleo de Soja (Soya®)	5,25	0,00	2,63	0	0
Celulose Microfina (Rhoster®)	5,00	2,50	2,50	0	0
Mistura Mineral AIN93M (Rhoster®)	3,50	3,50	3,50	0	0
Mistura Vitamínica AIN93M (Rhoster®)	1,00	1,00	1,00	0	0
L-cistina (Rhoster®)	0,18	0,18	0,18	0	0
Bitartarato de Colina (Rhoster®)	0,25	0,25	0,25	0	0
Farinha Integral de Soja	0	27,67	13,83	27,67	0
Patê de fígado	0	0	0	10,33	14,28
Biscoito tipo Maria (Aymore®)	0	0	0	10,33	14,28
Batata frita “palha” (Quezinha®)	0	0	0	10,33	14,28
Chocolate ao Leite (Garoto®)	0	0	0	10,33	14,28
Bacon	0	0	0	10,33	14,28
Ração comercial (Labcil®)	0	0	0	20,67	28,57

* AIN-93M = controle; 100% PS = dieta AIN-93M com 100% do teor de proteína proveniente da farinha integral de soja; 50% PS = dieta AIN-93M com 50% do teor de proteína proveniente da farinha integral de soja; CAF: dieta de cafeteria controle; CAFS= dieta de cafeteria + 27,67g farinha integral de soja, o que equivale à quantidade de proteína fornecida pela AIN-93M.

Composição centesimal das dietas experimentais

As dietas experimentais foram coletadas semanalmente e ao final do experimento foram homogeneizadas para análise da composição centesimal.

O teor de umidade foi determinado em estufa de circulação e renovação de ar (Marconi®, modelo MA 035) a 105°C, durante 24 horas, até peso constante (AOAC, 1997).

O teor de proteínas foi determinado segundo o método semi-micro de Kjeldahl, para a quantificação de nitrogênio total (AOAC, 1997). No cálculo da conversão de nitrogênio em proteínas foi utilizada a constante 6,25.

A determinação de lipídios foi realizada por extração em aparelho de Soxhlet, utilizando éter etílico como extrator, por 8 horas, sob refluxo, de acordo com a AOAC (1997).

O conteúdo de cinzas foi determinado por incineração em mufla a 550°C (AOAC, 1997).

O teor de carboidratos foi estimado por meio do cálculo da diferença entre 100 e a soma do conteúdo de proteínas, gorduras, umidade e cinzas. Este procedimento está previsto na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 360, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003).

O conteúdo calórico da farinha integral de soja foi calculado de acordo com a composição do alimento em proteínas, lipídios e carboidratos, sendo utilizados os fatores de conversão 4, 9 e 4 kcal/g dos macronutrientes, respectivamente.

O teor total de fibras alimentares da dieta de cafeteria e cafeteria adicionada de farinha de soja foi estimado a partir das informações descritas na rotulagem dos produtos e em tabela de composição de alimentos. E das dietas AIN-93M, 100% e 50% proteína de soja foram considerados a celulose e a concentração de fibra alimentar da farinha integral de soja.

Desenho experimental

Foi realizado um estudo experimental controlado, com duração de 56 dias para análises de parâmetros *in vivo* e *ex-vivo*. O desenho do estudo está ilustrado na figura 1.

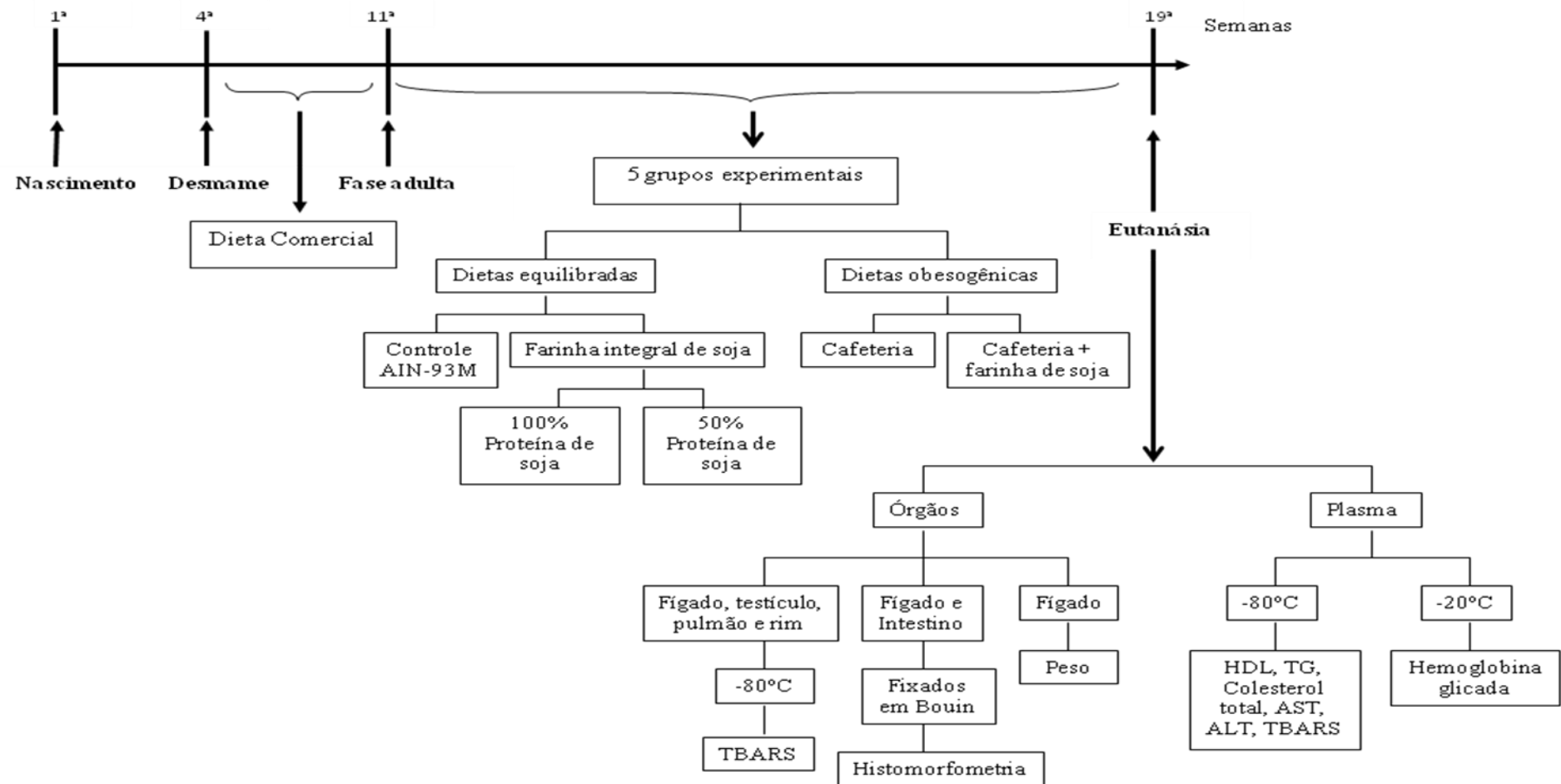


Figura 1 – Desenho experimental.

Os efeitos da adição da farinha integral de soja para modular parâmetros metabólicos e histológicos de animais alimentados com dietas equilibrada e obesogênica foram avaliados em cinco grupos de animais, os quais receberam as seguintes dietas peletizadas: i) dieta controle AIN-93M (REEVES, *et al.*, 1993); ii) 100% proteína de soja: AIN-93M com substituição de 100% da caseína por proteína da farinha integral de soja; iii) 50% proteína de soja: AIN-93M com substituição de 50% da caseína por proteína da farinha integral de soja; iv) CAF: dieta de cafeteria, considerada como controle; v) CAFS: dieta de cafeteria com adição de 27,67 g farinha integral de soja, o que equivale a quantidade de proteína fornecida pela dieta AIN-93M.

Coleta de amostras biológicas

In vivo

As fezes foram coletadas na última semana, acondicionadas em freezer convencional (-24°C) e posteriormente submetidas à secagem, trituração para determinação de lipídios.

Ex-vivo

Ao final do experimento, os animais foram colocados em jejum por 12 horas, anestesiados com éter e submetidos a eutanásia por exsanguinação. O sangue foi coletado e centrifugado a 1.000 x g, por 15 minutos, para obtenção do soro que foi armazenado a temperatura de - 20°C (para amostras bioquímicas séricas) e - 80°C (análise de peroxidação). Foram excisados os seguintes órgãos: fígado, intestino, rim, pulmão e testículo. Parte do material biológico foi mantido em nitrogênio líquido e liofilizado para posteriores análises bioquímicas, e outra parte foi fixada em líquido de Bouin para estudos histológicos.

Parâmetros avaliados

Ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar

Os animais foram pesados semanalmente e o ganho de peso total foi determinado pela diferença entre o peso final e o peso inicial dos animais durante os 56 dias de experimento.

O consumo alimentar foi avaliado por meio do registro diário de ingestão alimentar pelos animais.

Para a determinação do coeficiente de eficiência alimentar (CEA) utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{CEA} = \text{ganho de peso do animal (g)} / \text{consumo de dieta experimental (g)}$$

Teor de lipídios e umidades nas fezes

O teor de umidade nas fezes foi determinado em estufa de circulação e renovação de ar (Marconi®, modelo MA 035) a 105°C, durante 24 horas, até peso constante (AOAC, 1997). A determinação de lipídios foi realizada por extração em aparelho de Soxhlet, utilizando éter etílico como extrator, por 8 horas, sob refluxo, de acordo com a AOAC (1997).

Parâmetros bioquímicos séricos

O colesterol total, fração HDL-c e triglicerídeos foram determinados por meio do método enzimático colorimétrico, utilizando-se *kits* comerciais Human do Brasil®, com utilização de procedimentos descritos no protocolo do fabricante. Após as reações, a leitura de absorbância foi feita em espectrofotômetro (Shimadzu®, modelo UV – 1601), em 500 nm. A concentração foi expressa em mg/dL. A razão HDL/Colesterol foi calculada.

A hemoglobina glicada foi determinada pelo método de troca iônica, utilizando-se *kit* comercial (*Glycohemoglobin HbA_{1c}-test* – Human do Brasil®). Para a realização da análise foram seguidas as orientações descritas no protocolo do fabricante. Após as reações, a leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu®, modelo UV – 1601) em 415 nm. A concentração de HbA_{1c} foi expressa em % de Hb total.

Para a determinação das atividades das aminotransferases foi empregado o método cinético UV, utilizando-se *kits* comerciais (Human do Brasil®). Para a realização da análise foram seguidas as orientações recomendadas pelo fabricante. A absorbância foi lida em 365 nm, utilizando-se espectrofotômetro (Shimadzu®, modelo UV – 1601). A atividade das aminotransferases foi expressa em unidades internacionais por litro (UI/L).

Peroxidação de lipídios

A peroxidação de lipídios foi estimada no soro e em homogenados de tecido liofilizado de fígado, pulmão, rim e testículo, por meio do Teste de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com metodologia descrita por Buege e Aust (1978).

Para obtenção dos homogenados, os tecidos liofilizados foram ressuspensos em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4, na proporção 1:10 (m/v).

Alíquotas de 0,5 mL do soro e dos homogenados dos tecidos foram adicionados em tubos contendo solução de TBARS constituída de 15% de ácido tricloroacético e 0,375% de ácido tiobarbitúrico dissolvidos em HCL 0,25N. A mistura da reação permaneceu em banho-maria a 90°C por 15 min. Após a incubação, a mistura foi resfriada e centrifugada a 1000 x g. O sobrenadante foi utilizado para leitura de absorbância em 535nm em espectrofotômetro (Shimadzu®, modelo UV – 1601). Os resultados foram expressos em nmol de equivalentes de malondialdeído (MDA) por miligrama de proteína nas amostras de homogenados e em nmol/mL nas amostras de soro, utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (BUEGE & AUST, 1978).

Concentração de proteínas totais nos homogenados

Para a determinação de proteínas totais nos homogenados de tecidos foi empregado o método de biureto, utilizando-se *kit* comercial (Proteínas Totais - Bioclin®). Para a realização das análises foram seguidas as orientações recomendadas pelo fabricante. A leitura de absorbância foi realizada em 545nm, utilizando-se espectrofotômetro (Shimadzu®, modelo UV – 1601). A concentração de proteína foi expressa em g/dL.

Índices hepatossomático (IHS)

Após excisão, o peso dos fígados dos animais foi registrado e utilizado para calcular o índice hepatossomático, que representa a relação entre o peso do órgão e o peso do animal vivo em jejum de 12 horas, sendo:

$\text{IHS} = \text{PF}/\text{PC} \times 100$, onde: IHS = índice hepatossomático

PF = g peso fígado

PC = g peso corporal

Preparo do material histológico

Fragmentos do fígado e do duodeno foram coletados de seis e quatro animais, respectivamente, de cada grupo experimental, fixados em líquido de Bouin por um período mínimo de 24 horas, transferidos para solução de álcool 70% e preservados até processamento. Em seguida, os fragmentos foram transferidos para solução de álcool 95% por quatro horas, imersos em solução de álcool 95% e resina glicolmetacrilato (Leica, Historesin[®]) na proporção de 1:1 por 12 horas, seguida de resina pura por 24 horas, e posterior inclusão.

Foram obtidos cortes histológicos semi-seriados com 3 µm de espessura em micrótomo automático (Reichert-Jung[®]) utilizando-se navalha de vidro, e submetidos à coloração pela técnica de Hematoxilina/Eosina. As lâminas foram montadas com entellan (Merck[®]), analisadas em microscópio de luz CX31 Olympus, e as imagens foram obtidas com câmera digital SC 020 por meio do software Analysis GETIT, Olympus. As imagens das secções histológicas foram capturadas com objetiva de 10X para visualização e quantificação da área de gordura no tecido hepático e morfometria das camadas musculares do duodeno e com objetiva de 4X para morfometria das vilosidades e criptas do duodeno.

Aferição das gotas de gordura no tecido hepático

As áreas de gordura no tecido hepático foram determinadas utilizando-se quantificação computacional das gotas de gordura e os valores foram obtidos por meio da aplicação de algoritmo desenvolvido na linguagem de programação Open Source SciLab, versão 4.1 (INRIA, ENPC, 2006). A imagem das gotículas de gordura do tecido hepático está ilustrada na Figura 2.

Utilizou-se o princípio de limiarização, que consiste em separar regiões de uma imagem quando esta apresenta duas classes (o fundo e o objeto), produzindo uma imagem binária. Esta fase consiste na partição do histograma, convertendo os pixels cujo tom de cinza é maior ou igual ao limiar em branco, e os demais em preto. Foi criada uma imagem padrão de matriz com tamanho igual àquele das imagens a serem analisadas. A área total real foi calculada para cada imagem analisada. Assim, nas imagens binárias, as gotas de gordura foram representadas por *pixels* de valor unitário, e todos os demais constituintes da imagem foram representados por pixels de valor zero (ROCHA *et al.*, 2008).

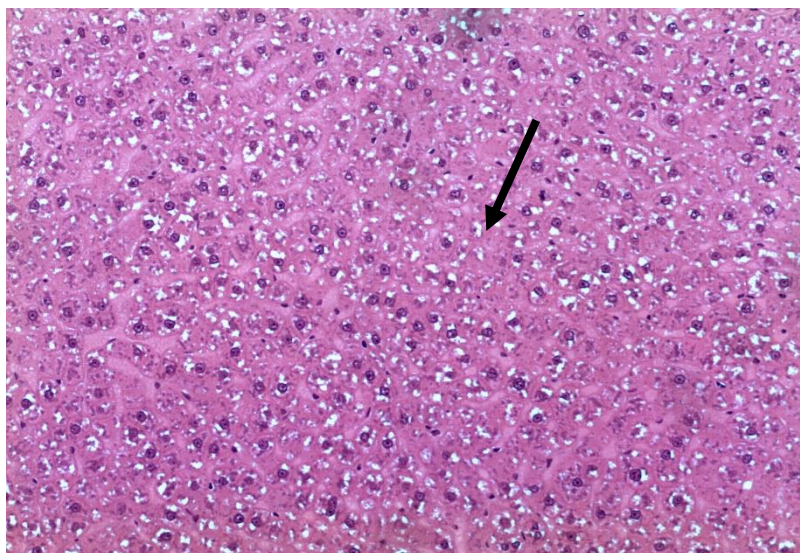


Figura 2 - Gotículas de gordura no tecido hepático (seta preta).

Morfometria intestinal

As seguintes medidas foram tomadas com auxílio do aplicativo Image Pro-Plus® versão 4.5 (Media Cybernetics) segundo metodologia adotada por Carlos (2006).

- *Altura das vilosidades* - foram selecionados 10 campos aleatórios por animal. Foram medidas 48 vilosidades por grupo experimental. Apenas as vilosidades com epitélio definido e conjuntivo visível foram utilizadas;
- *Profundidade das criptas* – foram obtidas as medidas de 10 campos por animal, onde era possível ver a base e o ápice (abertura) da cripta. Foram medidas 40 criptas por grupo experimental.
- *Espessura das camadas musculares interna e externa* – foram obtidas as medidas de 10 campos por animal. Foram medidas 40 musculares por grupo experimental.

A imagem com as medidas da altura das vilosidades e profundidade das criptas do duodeno estão ilustradas na Figura 3 e com as medidas das espessuras das camadas musculares interna e externa estão ilustradas na Figura 4.

Figura 3 - Medida da altura das vilosidades (linha verde) e profundidade das criptas (linha amarela) do duodeno.



Figura 4 - Medida da espessura das camadas musculares interna (linha verde) e externa (linha amarela) do duodeno.

Análise estatística

A composição centesimal das dietas experimentais foi realizada em três replicatas e os resultados expressos em média. O delineamento experimental foi em blocos, com cinco tratamentos e dez repetições. Para a análise histológica do intestino delgado foram utilizados quatro repetições e do fígado seis repetições. Os dados foram analisados usando ANOVA e os resultados expressos como média \pm desvio padrão. Diferença significativa entre grupos foi detectada pelo teste de Duncan, utilizando o

software SAEG-UFV 9.1 para análises de dados paramétricos. O teste de Kruskal-Wallis foi usado para analisar a deposição de gordura hepática, utilizando o programa Sigma STAT versão 2.03. O nível de significância adotado foi de 5%.

Aspectos éticos

O projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA-UFMG) com o protocolo 212/2009 (Anexo 1).

RESULTADOS

A composição química centesimal das dietas experimentais está apresentada na Tabela 2. As dietas obesogênicas, CAF e CAFS, foram hipercalóricas, hiperlipídicas e apresentaram grande quantidade de fibra alimentar em relação às dietas equilibradas (AIN-93M, 100% PS e 50% PS).

A adição de farinha integral de soja à dieta de cafeteria contribuiu no aumento de 36,5% de proteína e na redução de 9,0% de lipídios.

Tabela 2 - Composição química centesimal e densidade energética (DE) das dietas experimentais (g.100g⁻¹).

Constituintes	Dietas equilibradas			Dietas obesogênicas	
	AIN-93M	Farinha Integral de Soja		CAFS	CAF
		100% PS	50% PS		
Proteína	9,52	9,20	9,47	21,28	13,52
Lipídio	2,25	2,10	1,80	24,74	27,19
Cinzas	1,87	2,67	2,29	3,67	3,13
Umidade	32,20	32,58	32,99	19,80	23,25
Carboidrato	49,16	48,25	49,55	18,31	19,83
Fibra alimentar	5,00*	5,20*	3,90*	12,20**	13,08**
DE (Kcal.g ⁻¹)	2,55	2,49	2,52	3,81	3,78

AIN-93M: grupo controle; 100% PS = grupo com substituição de 100% da caseína por proteína de farinha integral de soja; 50% PS = grupo com substituição de 50% de caseína por proteína da farinha integral de soja; CAF = dieta de cafeteria controle; CAFS= dieta de cafeteria + 27,67g farinha integral de soja, o que equivale à quantidade de proteína fornecida pela AIN-93M.

* Teores estimados com base na concentração de celulose na dieta e composição química centesimal da farinha integral de soja.

** Teores estimados utilizando os valores encontrados nas embalagens dos produtos e a composição química centesimal da farinha integral de soja.

Não foi observado diferença estatística no ganho de peso entre os grupos experimentais. Porém, os grupos que receberam a dieta obesogênica, CAF e CAFS, apresentaram menor ($p < 0,05$) consumo alimentar total quando comparados aos grupos que receberam as dietas equilibradas. Essa redução no consumo alimentar sem alteração no ganho de peso aumentou ($p < 0,05$) o CEA dos grupos tratados com as dietas obesogênicas (Tabela 3).

Tabela 3 – Peso corpóreo inicial (PCI) e final (PCF), ganho de peso (GP), consumo alimentar (CA) e coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos grupos que receberam as dieta experimentais por 56 dias.

* Grupos experimentais					
	Dietas equilibradas			Dietas Obesogênicas	
	AIN-93M	Farinha Integral de soja		CAFS	CAF
		100% PS	50% PS		
PCI (g)	311,2 ^a ± 30,4	311,8 ^a ± 25,5	312,5 ^a ± 24,0	312,3 ^a ± 26,8	311,7 ^a ± 23,3
PCF (g)	461,9 ^a ± 44,9	457,3 ^a ± 50,1	480,0 ^a ± 47,4	474,4 ^a ± 47,3	482,1 ^a ± 44,6
GP (g)	151,0 ^a ± 31,7	145,5 ^a ± 33,5	167,5 ^a ± 35,5	162,1 ^a ± 29,9	170,4 ^a ± 53,8
CA (g)	1786,6 ^a ± 45,4	1768,2 ^a ± 79,5	1802,2 ^a ± 89,2	1415,5 ^b ± 77,2	1402,9 ^b ± 51,6
CEA	0,08 ^b ± 0,01	0,08 ^b ± 0,01	0,09 ^b ± 0,01	0,11 ^a ± 0,02	0,11 ^a ± 0,03

AIN-93M: grupo controle; 100% PS = grupo com substituição de 100% da caseína por proteína de farinha integral de soja; 50% PS = grupo com substituição de 50% de caseína por proteína da farinha integral de soja; CAF = dieta de cafeteria controle; CAFS= dieta de cafeteria + 27,67g farinha integral de soja, o que equivale à quantidade de proteína fornecida pela AIN-93M.

* Valores representados em média ± DP. Médias com letras distintas comparadas entre linhas apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

Os valores séricos de colesterol total, HDL-c, triglicerídeos, razão HDL-c/colesterol total e hemoglobina glicada dos animais estão apresentados na Tabela 4.

O nível sérico de colesterol total no grupo tratado com dieta AIN-93M não diferiu significativamente dos grupos 50% PS e CAFS e foi menor ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAF. Porém o grupo CAF não diferiu ($p < 0,05$) dos grupos 50% PS e CAFS.

Os níveis séricos de HDL-c foram menores ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e nos grupos das dietas obesogênicas, CAF e CAFS, e maiores ($p < 0,05$) nos grupos que receberam a dieta AIN-93M e 50% PS.

A relação HDL-c/colesterol total não diferiu ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais.

Os níveis de triglicerídeos sanguíneos foi menor ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAFS. Porém, o grupo CAFS não diferiu ($p > 0,05$) dos grupos AIN-93M, 50% PS e CAF.

Os grupos que receberam as dietas obesogênicas, CAF e CAFS, apresentaram aumento ($p < 0,05$) no nível sérico de hemoglobina glicada comparado aos grupos tratados com dietas equilibradas (AIN-93M, 100% PS e 50% PS).

Tabela 4 – Perfil de lipídios (mg/dL) e teores de hemoglobina glicada (HbG) (% de hemoglobina total) no sangue dos ratos após 56 dias com dietas experimentais.

	* Grupos experimentais				
	Dietas equilibradas			Dietas obesogênicas	
	AIN-93M	Farinha Integral de Soja		CAFS	CAF
		100% PS	50% PS		
Colesterol total	128,2 ^a ± 24,5	95,9 ^c ± 9,3	114,1 ^{ab} ± 17,8	115,6 ^{ab} ± 22,8	103,1 ^{bc} ± 9,5
HDL-c	47,4 ^a ± 8,3	37,7 ^b ± 7,0	48,6 ^a ± 14,2	36,7 ^b ± 6,6	38,2 ^b ± 6,7
HDL-c/Colesterol	0,37 ^a ± 0,05	0,39 ^a ± 0,06	0,42 ^a ± 0,09	0,33 ^a ± 0,07	0,35 ^a ± 0,05
Triglicerídeos	215,2 ^a ± 40,7	143,2 ^b ± 34,3	209,5 ^a ± 54,6	171,3 ^{ab} ± 55,6	202,9 ^a ± 28,5
HbG	9,5 ^b ± 2,6	10,1 ^b ± 3,4	8,8 ^b ± 2,2	16,8 ^a ± 6,9	16,5 ^a ± 6,0

AIN-93M: grupo controle; 100% PS = grupo com substituição de 100% da caseína por proteína de farinha integral de soja; 50% PS = grupo com substituição de 50% de caseína por proteína da farinha integral de soja; CAF = dieta de cafeteria controle; CAFS = dieta de cafeteria + 27,67g farinha integral de soja, o que equivale à quantidade de proteína fornecida pela AIN-93M.

* Valores representados em média ± DP. Médias com letras distintas comparadas entre linhas apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

O teor de umidade das fezes, o peso do fígado e o índice hepatossomático não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais (Tabela 5).

A excreção fecal de lipídios foi maior ($p < 0,05$) nos grupos tratados com dietas obesogênicas, CAF e CAFS, e menor ($p < 0,05$) no grupo tratado com dieta AIN-93M. O grupo 100% PS apresentou um aumento da excreção de lipídios nas fezes comparado aos grupos AIN-93M e 50% PS.

A porcentagem de gordura no fígado foi maior ($p < 0,05$) no grupo 100% PS, menor ($p < 0,05$) no grupo CAFS e não apresentou diferença ($p > 0,05$) entre os grupos AIN-93M, 50% PS e CAF.

Tabela 5 – Teor de umidade e lipídios nas fezes, peso do fígado (PF), índice hepatossomático (IHS) e porcentagem de gordura hepática (GH) dos ratos após 56 dias com dietas experimentais.

	* Grupos experimentais				
	Dietas equilibradas			Dietas obesogênicas	
	AIN-93M	Farinha Integral de Soja			CAF
		100% PS	50% PS	CAFS	
Umidade	27,96 ^a ± 7,22	25,83 ^a ± 6,57	22,72 ^a ± 5,54	24,10 ^a ± 3,68	22,08 ^a ± 7,98
Lipídios	3,10 ^d ± 0,55	6,97 ^b ± 1,98	5,09 ^c ± 0,44	13,64 ^a ± 1,39	13,28 ^a ± 1,55
PF (g)	15,95 ^a ± 2,36	14,79 ^a ± 1,98	16,39 ^a ± 1,88	15,44 ^a ± 2,13	16,58 ^a ± 2,18
IHS	3,45 ^a ± 0,35	3,23 ^a ± 0,21	3,42 ^a ± 0,25	3,24 ^a ± 0,21	3,44 ^a ± 0,37
GH (%) ‡	0,61 ^B (0,06-1,84)	2,51 ^A (0,51-4,85)	0,68 ^B (0,27-2,73)	0,17 ^C (0,01-3,84)	0,07 ^B (0,01-15,29)

AIN-93M: grupo controle; 100% PS = grupo com substituição de 100% da caseína por proteína de farinha integral de soja; 50% PS = grupo com substituição de 50% de caseína por proteína da farinha integral de soja; CAF = dieta de cafeteria controle; CAFS= dieta de cafeteria + 27,67g farinha integral de soja, o que equivale à quantidade de proteína fornecida pela AIN-93M.

* Valores representados em média ± DP. Médias com letras distintas comparadas entre linhas apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

‡ Medianas (máx e mín) com letras maiúsculas distintas entre linhas apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis.

As concentrações de TBARS no soro, fígado, pulmão, testículo e rim dos ratos estão apresentadas na Tabela 6.

As concentrações de TBARS no soro foi menor ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAF e maior ($p < 0,05$) nos grupos AIN-93M e CAFS. O grupo 50% PS não diferiu dos demais.

Os grupos tratados com dietas obesogênicas, CAF e CAFS, apresentaram maior ($p < 0,05$) concentração de TBARS no fígado comparado aos grupos que receberam as dietas equilibradas (AIN-93M, 100% PS e 50% PS).

A concentração de TBARS no pulmão foi maior ($p < 0,05$) no grupo CAFS e não diferiu entre os grupos AIN-93M, 100% PS, 50% PS e CAF.

A concentração de TBARS no testículo foi maior ($p < 0,05$) nos grupos 50% PS, CAFS e CAF e menor ($p < 0,05$) nos grupos AIN-93M e 100% PS.

A concentração de TBARS no rim foi maior ($p < 0,05$) no grupo CAF e não apresentou diferença ($p > 0,05$) entre os grupos AIN-93M, 100% PS, 50% PS e CAFS.

Tabela 6 – Concentrações de TBARS no soro, fígado, pulmão, testículo e rim dos ratos após 56 dias com as dietas experimentais.

Concentração de TBARS	* Grupos experimentais				
	Dietas equilibradas			Dietas obesogênicas	
	AIN-93M	Farinha Integral de Soja		CAFS	CAF
		100% PS	50% PS		
Soro	1,6 ^a ± 0,5	1,2 ^b ± 0,1	1,5 ^{ab} ± 0,1	1,7 ^a ± 0,1	1,2 ^b ± 0,2
Fígado	0,09 ^b ± 0,03	0,09 ^b ± 0,04	0,05 ^b ± 0,02	0,44 ^a ± 0,15	0,40 ^a ± 0,09
Pulmão	77,4 ^b ± 14,0	118,6 ^b ± 69,9	129,1 ^b ± 42,4	235,5 ^a ± 78,0	76,5 ^b ± 45,3
Testículo	10,1 ^b ± 3,7	10,7 ^b ± 4,4	18,0 ^a ± 5,4	18,1 ^a ± 7,8	17,9 ^a ± 9,5
Rim	96,4 ^b ± 19,7	86,6 ^b ± 19,8	93,0 ^b ± 26,0	97,8 ^b ± 19,1	120,1 ^a ± 25,6

AIN-93M: grupo controle; 100% PS = grupo com substituição de 100% da caseína por proteína de farinha integral de soja; 50% PS = grupo com substituição de 50% de caseína por proteína da farinha integral de soja; CAF = dieta de cafeteria controle; CAFS= dieta de cafeteria + 27,67g farinha integral de soja, o que equivale à quantidade de proteína fornecida pela AIN-93M.

* Valores representados em média ± DP. Médias com letras distintas comparadas entre linhas apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

Os níveis séricos de aspartato aminotransferase não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais e os níveis séricos de alanina aminotransferase foram maiores ($p < 0,05$) nos grupos tratados com dietas obesogênicas, CAF e CAFS, comparado aos grupos tratados com dietas equilibradas (AIN-93M, 100% PS e 50% PS) (Tabela 7).

Tabela 7 – Níveis séricos de alanina (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) (UI/L) dos ratos após 56 dias com dietas experimentais.

	* Grupos experimentais				
	Dietas equilibradas			Dietas obesogênicas	
	AIN-93M	Farinha Integral de Soja		CAFS	CAF
		100% PS	50% PS		
ALT	90,0 ^b ± 12,0	91,4 ^b ± 13,6	91,4 ^b ± 23,6	127,8 ^a ± 25,3	130,8 ^a ± 22,0
AST	338,6 ^a ± 87,9	342,9 ^a ± 88,4	397,9 ^a ± 89,4	422,3 ^a ± 163,1	380,1 ^a ± 113,1

AIN-93M: grupo controle; 100% PS = grupo com substituição de 100% da caseína por proteína de farinha integral de soja; 50% PS = grupo com substituição de 50% de caseína por proteína da farinha integral de soja; CAF = dieta de cafeteria controle; CAFS= dieta de cafeteria + 27,67g farinha integral de soja, o que equivale à quantidade de proteína fornecida pela AIN-93M.

* Valores representados em média ± DP. Médias com letras distintas comparadas entre linhas apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

As medidas da altura das vilosidades, profundidade das criptas e espessura das camadas musculares externa e interna do duodeno estão apresentadas na Tabela 8.

A altura das vilosidades do duodeno foi maior ($p < 0,05$) no grupo AIN-93M e menor ($p < 0,05$) nos grupos 100% PS e CAF. Os grupos 50% PS e CAFS apresentaram altura intermediária das vilosidades não diferindo ($p > 0,05$) entre si.

A medida da profundidade das criptas foi maior ($p < 0,05$) nos grupos tratados com dietas obesogênicas, CAF e CAFS, comparado aos grupos tratados com dietas equilibradas (AIN-93M, 100% PS e 50% PS).

A medida da espessura da camada muscular externa do duodeno não diferiu ($p > 0,05$) entre os grupos AIN-93M, 100% PS, 50% PS e CAF, mas foi maior ($p < 0,05$) no grupo CAFS.

A medida da espessura da camada muscular interna do duodeno do grupo CAFS foi superior ($p < 0,05$) aos grupos AIN-93M, 100% PS e CAF e não diferiu do grupo 50% PS.

Tabela 8 – Medidas (μm) da altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC), espessura da camada muscular externa (EME) e interna (EMI) do duodeno de ratos após 56 dias com dietas experimentais.

* Grupos experimentais					
	Dietas equilibradas			Dietas obesogênicas	
	AIN-93M	Farinha Integral de Soja			CAF
		100% PS	50% PS	CAFS	
AV	157,12 ^a ± 22,45	119,95 ^c ± 25,94	137,51 ^b ± 21,93	130,23 ^b ± 18,51	123,40 ^c ± 33,39
PC	223,65 ^b ± 24,23	236,56 ^b ± 39,82	237,67 ^b ± 36,71	262,63 ^a ± 34,20	258,06 ^a ± 47,73
EME	62,97 ^b ± 19,15	63,77 ^b ± 18,28	69,87 ^b ± 17,67	89,93 ^a ± 30,39	63,08 ^b ± 18,68
EMI	88,09 ^b ± 32,37	87,49 ^b ± 22,88	95,15 ^{ab} ± 16,44	107,96 ^a ± 31,38	79,00 ^b ± 17,55

AIN-93M: grupo controle; 100% PS = grupo com substituição de 100% da caseína por proteína de farinha integral de soja; 50% PS = grupo com substituição de 50% de caseína por proteína da farinha integral de soja; CAF = dieta de cafeteria controle; CAFS = dieta de cafeteria + 27,67g farinha integral de soja, o que equivale à quantidade de proteína fornecida pela AIN-93M.

* Valores representados em média ± DP. Médias com letras distintas comparadas entre linhas apresentam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

DISCUSSÃO

A substituição da caseína pela proteína da farinha integral de soja nas dietas equilibradas e a adição de farinha integral de soja na dieta de cafeteria não alterou o ganho de peso dos animais, comprovando a eficácia da proteína de soja na manutenção do peso corpóreo. Esta farinha integral de soja também foi adequada para promover o crescimento e desenvolvimento de ratos *Wistar* (CARVALHO, 2009).

A dieta de cafeteria foi hiperlipídica e hipercalórica, mas não alterou ($p>0,05$) o ganho de peso dos animais, diferindo do resultado encontrado por Pérez-Matute *et al.* (2007), Li *et al.* (2008), Moraes (2009) e Shafat *et al.* (2009) no qual a dieta de cafeteria induziu obesidade em ratos. O menor consumo das dietas de cafeteria pelos animais pode ter contribuído para manutenção do peso corpóreo, e, conseqüentemente, apresentou o coeficiente de eficiência alimentar maior que os grupos tratados com as dietas equilibradas.

O consumo das dietas de cafeteria, CAF e CAFS, pelos animais foi menor comparado aos grupos que receberam dietas equilibradas, corroborando com Jackson *et al.* (1996) em animais alimentados com dietas ricas em fibras e gorduras. Estes resultados podem ser difíceis de avaliar, devido aos efeitos dos lipídios e das fibras, pois as dietas hiperlipídicas favorecem a hiperfagia alimentar, como demonstrado no estudo de Shafat *et al.* (2009) com animais e reduzem o apetite, como encontrado por Samra & Anderson (2007) com homens saudáveis. E as fibras induzem a saciedade, devido ao maior volume e ao estímulo da secreção de hormônios intestinais (NOBRE e MONTEIRO, 2003; PAPATHANASAPOULOS e CAMILLERI, 2010).

As dietas obesogênicas, CAF e CAFS, foram hiperlipídicas, porém não aumentaram a concentração sérica de colesterol total e triglicérides e a concentração de gordura no fígado. Esse achado pode ter ocorrido devido ao aumento significativo da excreção fecal de lipídios nos grupos que receberam as dietas obesogênicas, facilitado pelo elevado teor de fibra alimentar. Outro mecanismo que também pode explicar essa manutenção sérica de colesterol seria a ingestão em excesso de colesterol que pode induzir a um feedback negativo, inibindo a 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (HMG-CoA-redutase), uma enzima importante na síntese endógena de colesterol, proporcionando assim um sistema de controle intrínseco para evitar aumento excessivo na concentração sérica de colesterol (MORAES, 2009).

Houve também uma redução da concentração sérica de HDL-c nos grupos que receberam dieta de cafeteria com e sem farinha integral de soja semelhante ao

encontrado por Macqueen *et al.* (2007) com ratos *Sprague Dawley* e Moraes (2009) com ratos *Wistar*. Esse resultado demonstrou que essa dieta apresentou efeito prejudicial à saúde sem alterar seu efeito pela presença da farinha integral de soja, pois níveis elevados de HDL-c apresentam fator de proteção contra possíveis eventos cardiovasculares.

A farinha integral de soja apresentou efeito hipolipidêmico quando a caseína foi substituída completamente pela proteína de soja na dieta equilibrada, mas não apresentou o mesmo efeito quando adicionada à dieta obesogênica. Esse efeito hipolipidêmico da soja, em dietas equilibradas, também foi observado em outros estudos com animais (CHAGAS *et al.*, 2006; SAWASHITA, 2006; WILSON *et al.*, 2007; SIRTORI *et al.*, 2009) e com humanos (TONSTAD *et al.*, 2002; ROSELL *et al.*, 2004; HOIE *et al.*, 2005). Porém, esses estudos utilizaram o isolado protéico de soja ou as isoflavonas de forma isolada, ou associados entre si, diferente do presente estudo que avaliou o efeito da farinha integral de soja.

O possível mecanismo para explicar este efeito hipolipidêmico da soja na dieta equilibrada foi observado pelo aumento da excreção fecal de lipídios e o aumento na deposição de gordura no fígado. O efeito no aumento da excreção fecal de lipídios em nosso estudo ocorreu provavelmente pela formação de peptídeos não digeríveis e insolúveis que se ligam aos ácidos biliares e ao colesterol favorecendo a excreção desses compostos (SUGANO *et al.*, 1993; BELLEVELLI, 2002; CHAGAS *et al.*, 2006; TORRES *et al.*, 2006). A fibra alimentar também presente na farinha integral de soja de forma intacta pode ter favorecido a excreção de lipídios em relação à fibra purificada do grupo da caseína (LO *et al.*, 1987; LO *et al.* 1990).

O aumento na excreção fecal e a concomitante redução na absorção intestinal de ácidos biliares e colesterol, provavelmente, reduziu a chegada de colesterol no fígado, aumentando a demanda de colesterol para síntese de ácidos biliares o que, conseqüentemente, aumentou a expressão do receptor de LDL-c para captação e oxidação de colesterol no fígado (TORRES *et al.*, 2006). Tal fato pode explicar o aumento da concentração de gorduras no fígado.

Outra hipótese do efeito hipocolesterolêmico da soja na dieta equilibrada está relacionada com o perfil de aminoácidos, uma vez que, a redução da relação lisina/arginina levaria a redução da relação insulina/glucagon (SANCHEZ *et al.*, 1991; DEMONTY *et al.*, 2002; TORRES *et al.*, 2006).

A farinha integral de soja do presente estudo contém isoflavonas agliconas, daidzeína (14,3 mg.100g⁻¹) e genisteína (3,45 mg.100g⁻¹) e essas isoflavonas bioativas

tem demonstrado efeito na redução dos níveis de triglicerídeos e colesterol de forma isolada (DEMONTY *et al.*, 2002) ou associada as proteínas de soja (ADAMS *et al.*, 2002; DOUGLAS *et al.*, 2006; WILSON *et al.*, 2007). Podendo no presente estudo a isoflavona ter potencializado o efeito hipolipidêmico da proteína de soja, devido à sua semelhança estrutural com o hormônio estrogênio, na qual pode desenvolver atividade estrogênica ou antiestrogênica, controlando o metabolismo de lipídios e reduzindo-os no sangue (CEDERROTH & NEF, 2009).

O cultivar de soja, UFVTN 105AP, em estudo foi modificado, geneticamente, para conter maior teor de proteína, o que, provavelmente, aumentou a quantidade das proteínas de reserva β -conglucina e glicina (MORAIS *et al.*, 2006; TASKI-AJDUKOVIC *et al.*, 2010), que pode ter favorecido o efeito hipolipemiante da farinha integral de soja na dieta equilibrada. Fukuy *et al.* (2004) encontraram que a β -conglucina, comparado ao grupo que recebeu caseína, promoveu redução na síntese de ácidos graxos no fígado e maior excreção fecal de ácidos graxos em ratos e Moriyama *et al.* (2004) encontraram que a β -conglucina induziu a β -oxidação diminuindo a síntese hepática de ácidos graxos e inibiu a absorção de triglicerídeos em camundongos normais e geneticamente obesos em condições de restrição energética. Duranti *et al.* (2004) também encontraram efeito hipocolesterolêmico da proteína glicina em ratos *Sprague Dawley*.

A ingestão de farinha integral de soja na dieta equilibrada e também na dieta obesogênica, não alterou o peso do fígado dos animais, corroborando com Ferreira (2008) que administrou a β -conglucina em animais hipercolesterolêmicos. Porém, Madani *et al.* (2000) observou redução no peso hepático em ratos que receberam dietas equilibradas com substituição de 10, 20 e 30% da caseína por proteína de soja e Chen *et al.* (2003) em ratos alimentados com fração não-hidrolizadas do isolado protéico de soja.

A soja tem sido também postulada por ter efeitos no controle do diabetes, uma vez que a isoflavona tem papel modulador no metabolismo de glicose, devido à sua semelhança estrutural ao hormônio estrogênio (CEDERROTH & NEF, 2009) e o ácido fítico, também presente na farinha integral de soja, tem demonstrado efeito hipoglicêmico em camundongos diabéticos (LEE *et al.*, 2005; LEE, 2006; KIM *et al.*, 2010). No presente estudo não foi observado efeito da ingestão de farinha integral de soja na redução do nível de hemoglobina glicada dos ratos sem e com alterações metabólicas. Entretanto, Lee (2006) encontrou redução da hemoglobina glicada no soro dos ratos diabéticos tratados com genisteína e, ou isolado protéico de soja.

A dieta de cafeteria apesar de conter baixa concentração de glicose, aumentou a concentração sérica de hemoglobina glicada, corroborando com Moraes (2009). Esse achado mostra que a ingestão elevada de lipídios em detrimento de carboidratos e proteínas também está associada ao desenvolvimento do diabetes tipo 2. O possível mecanismo pode ser devido ao aumento da resistência à insulina associado à obesidade, e, ou acúmulo de gordura visceral que foi observado em estudos realizado por Woods *et al.* (2003), Campión & Martínez (2004) e Milagro *et al.* (2006) com dieta de cafeteria. E outro mecanismo seria a utilização de lipídios como fonte energética, aumentando a lipólise. A lipólise libera o glicerol dos triglicerídeos que se converterá em glicose, aumentando-os na corrente sanguínea (STIPANUK, 2006).

A soja tem apresentado efeito na redução do risco de DCV não somente pela redução sérica de lipídios e glicose, mas também por apresentar compostos com capacidade antioxidantes, como as isoflavonas, genisteína e daidzeína, que agem como removedores de radicais livres, diminuindo a peroxidação de lipídios no soro e em tecidos (KINA *et al.*, 2004; HENEMAN *et al.*, 2007; IBRAHIM *et al.*, 2008; CEDERROTH & NEF, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2010). Outro componente da soja que tem sido estudado como antioxidante é o ácido fítico, devido à sua capacidade de formar quelato com o ferro, tornando-o cataliticamente inativo (ENGELMAN *et al.*, 2005; QUIRRENBACH *et al.* 2009; FILGUEIRAS *et al.*, 2009). A ingestão de farinha integral de soja na dieta equilibrada contribuiu para redução na concentração de TBARS no soro dos animais, indicando uma redução na peroxidação de lipídios séricos, corroborando com Lee (2006) em ratos diabéticos alimentados com genisteína e, ou isolado protéico de soja. Porém, a adição de farinha integral de soja na dieta obesogênica aumentou a concentração de TBARS no soro.

A dieta de cafeteria, sem e com adição de farinha integral de soja, mostraram diferenças no efeito da peroxidação de lipídios no soro e nos diferentes tecidos, tendo sido observado efeito protetor da farinha somente nos rins. Esses resultados estão conflitantes, uma vez que a farinha integral de soja tem compostos antioxidantes, como as isoflavonas e o fitato, que são importantes para eliminação dos radicais livres, impedindo a peroxidação de lipídios. Entretanto, o efeito antioxidante é dependente da concentração das moléculas antioxidantes no meio biológico e pouco se sabe sobre a distribuição e bioeficácia dos compostos antioxidantes dos alimentos nos diferentes tecidos.

A ingestão da farinha integral de soja na dieta equilibrada não aumentou a atividade das enzimas relacionadas a dano hepático, AST e ALT, mesmo tendo apresentado um aumento de gordura no fígado.

A dieta de cafeteria aumentou a lesão hepática, sendo observado uma maior quantidade das enzimas ALT e AST no sangue e a adição de farinha integral de soja na dieta de cafeteria não apresentou efeito hepatoprotetor. Entretanto, Lee (2006) observou em ratos diabéticos predispostos ao dano no fígado, redução na atividade destas enzimas, quando alimentados com genisteína e, ou isolado protéico de soja, diferente do modelo utilizado no presente estudo. Outro estudo mostrou que a proteína de soja enriquecido com isoflavona reduziu a relação aspartato/alanina aminotransferase em ratos *Zucker* comparado à caseína, sugerindo que a proteína de soja enriquecida com isoflavona previne danos de células hepáticas em ratos obesos (GUDBRANDSEN *et al.*, 2009).

Foi observado que a ingestão de farinha integral de soja na dieta equilibrada alterou a morfologia intestinal, devido a redução da altura das vilosidades intestinais, que corrobora com Tamura & Suzuki (1998) e Caruso & Demonte (2005). A redução da altura das vilosidades reflete na redução do transporte de nutrientes pela superfície do enterócito, diminuindo ainda o conteúdo enzimático das células da mucosa intestinal (CARUSO & DEMONTE, 2005). Portanto, não pode-se diagnosticar quais os fatores antinutricionais da farinha integral de soja foram responsáveis por essa alteração. É reconhecida que as proteínas glicinina e β -conglucina presentes na soja são imunologicamente ativas, responsáveis por reações de hipersensibilidade que causam atrofia das vilosidades (LIENER *et al.*, 1994; ALLEE & TOUCHETTE, 1999; BERTOL *et al.*, 2001; CARUSO & DEMONTE, 2005).

Outro componente da soja que pode contribuir para a atrofia das vilosidades intestinais são as lectinas que se apresentam geralmente na forma de glicoproteína e se caracterizam por sua capacidade em se ligar a componentes de açúcares aderindo à superfície do intestino delgado causando danos na parede intestinal (CARUSO & DEMONTE, 2005). Como consequência a permeabilidade do intestino aumenta e as lectinas e outros peptídeos podem ser absorvidos promovendo efeitos deletérios sobre o sistema imunológico (LI *et al.*, 1990).

A dieta de cafeteria alterou a morfologia intestinal, uma vez que reduziu a altura das vilosidades e aumentou a profundidade das criptas. Este efeito da dieta de cafeteria no aumento da profundidade das criptas também foi encontrado no estudo realizado por Scoris *et al.* (2010). Porém, a altura das vilosidades aumentou nos ratos que

consumiram dieta de cafeteria. Essa diferença encontrada pode ser explicada pelo maior teor de fibra alimentar da dieta de cafeteria do presente estudo, uma vez que as fibras alimentares tem efeito na redução da altura das vilosidades.

A adição de farinha integral de soja na dieta de cafeteria contribuiu para aumentar a espessura das musculares interna e externa, porém não alterou a altura das vilosidades e a profundidade das criptas.

CONCLUSÃO

A farinha integral de soja apresentou efeito na prevenção de alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares quando ingerida junto à dieta equilibrada, devido à sua ação hipolipidêmica, a capacidade de reduzir a peroxidação lipídica no soro e não causou danos hepáticos. Porém, ela não apresentou esse efeito preventivo quando ingerida numa dieta obesogênica.

A diminuição da altura vilosidades intestinais pela farinha integral de soja, indicou que apesar da qualidade de sua proteína e da presença de compostos antioxidantes, como isoflavonas e fitatos, ela pode causar efeitos prejudiciais sobre a absorção de nutrientes no intestino.

Estudos devem ser realizados para avaliar se o efeito da ingestão de farinha integral de soja na redução das vilosidades intestinais pode afetar a absorção de nutrientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M. R.; GOLDEN, D. L.; ANTHONY, M. S.; REGISTER, T. C.; WILLIAMS, J. K. The Inhibitory effect of soy protein isolate on atherosclerosis in mice does not require the presence of LDL receptors or alteration of plasma lipoproteins. **The Journal of Nutrition**, v. 132, p. 43-49, 2002.

ALLEE, G.L.; TOUCHETTE, K.J. Efectos de la nutrición sobre la salud intestinal y el crecimiento de lechones. In:____. **Avances en nutrición y alimentación animal**. Espanha: Fundación Española para El Desarrollo de la Nutrición animal, 1999. p.125-144.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. Maryland: AOAC, 1997. v.2.

BELLEVILLE, J. Hypocholesterolemic Effect of Soy Protein. **Nutrition**, v.18, n.7/8, p.684-686, 2002.

BERTOL, T.M.; MORES, N.; FRANKE, M.R. Substituição Parcial do Farelo de Soja por Soja Integral Extrusada na Dieta de Leitões Desmamados. **Revista brasileira de zootecnia**, v.30, n.3, p.744-752, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Anvisa: Brasília.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, v.52, p.302-310, 1978.

CAMPIÓN, J.; MARTINEZ, J.A. Ketoconazole, an antifungal agent, protects against adiposity induced by a cafeteria diet. **Hormone and metabolic research**, v. 36, p. 485-491, 2004.

CARLOS, J. **Estudo morfológico e morfométrico do intestino delgado de camundongos imunodeprimidos submetidos a dieta enteralcontendo prebiótico e contaminada por klebsiella pneumoniae**. [Dissertação]. Departamento de Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

CARUSO, M.; DEMONTE, A. Histomorphometry of the small intestine of rats submitted to different proteic sources. **Alimentos e Nutrição**, v.16, n.2, p.131-136, 2005.

CARVALHO, P.D.; CAMPOS, P.R.B.; NOFFS, M.D.; OLIVEIRA, J.G.; SHIMIZU, M.T.; SILVA, D.M. Application of microbial lipases to concentrate polyunsaturated fatty acids. **Química Nova**, v. 26, n.1, p. 75-80, 2003.

CARVALHO, A.W. **Caracterização nutricional, biodisponibilidade de ferro e qualidade protéica de novo cultivar de soja sem lipoxigenases e de elevado teor protéico**. [dissertação]. Ciência da Nutrição: Universidade Federal de Viçosa, MG. Brasil; 2009.

CHAGAS, C.M.A.; ABDALLA, D.S.P.; LIMAVERDE, S.M.M.; DAMASCENO, N.R.T. Influência do isolado protéico da soja e da caseína sobre a peroxidação lipídica. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.3, p.309-316, 2006.

CHEN, J. R.; CHIOU, S. F.; SUETSUNA, K.; YANG, H. Y.; YANG, S. C. Lipid metabolism in hypercholesterolemic rats affected by feeding cholesterol-free diets containing different amounts of non-dialyzed soybean protein fraction. **Nutrition**, v.19, p.676-680, 2003.

CEDERROTH, C.R.; NEF, S. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.304, p.30-42, 2009.

DEMONTY, I.; LAMARCHE, B.; DESHAIES, Y.; JACQUES, H. Role of soy isoflavonas in the hypotriglyceridemic effect of soy protein in the rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, n.11, p.671-677, 2002.

DOUGLAS, G.; ARMITAGE, J. A.; TAYLOR, P. D.; LAWSON, J. R.; MANN, G. E.; POSTON, L. Cardiovascular consequences of life-long exposure to dietary isoflavones in the rat. **Journal of Physiology**, v.571, n.2, p.477-487, 2006.

DURANTI, M.; LOVATI, M. R.; DANI, V.; BARBIROLI, A.; SCARAFONI, A.; CASTIGLIONI, S.; PONZONE, C.; MORAZZONI, P. The subunit from soybean 7S globulin lowers plasma lipids and upregulates liver VLDL receptors in rats fed a hypercholesterolemic diet. **The Journal of Nutrition**, v.134, p.1334-1339, 2004.

ENGELMAN, H.M.; ALEKEL, D.L.; HANSON, L.N.; KANTHASAMY, A.G.; REDDY, M.B. Blood lipid and oxidative stress responses to soy protein with isoflavonas and phytic acid in postmenopausal women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.590-596, 2005.

FERREIRA, E.S. **Efeito da proteína β -conglícinina da soja no metabolismo lipídico de animais submetidos à dieta hipercolesterolêmica**. [Dissertação]. Faculdade de Ciências farmacêuticas: Araraquara, SP, 2008.

FILGUEIRAS, C.T.; SOARES, A.L.; SHIMOKOMAKI, M. IDA, E.I. Avaliação da atividade antioxidante do ácido fítico de germe de trigo. **Química Nova**, v.32, n.7, p.1787-1791, 2009.

FUKUY, K.; KOJIMA, M.; TACHIBANA, N.; KOHNO, M.; TAKAMATSU, K.; HIROTSUKA, M.; KITO, M. Effects of soybean β -conglycinin on hepatic lipid metabolism and fecal lipid excretion in normal adult rats. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.68, n.5, p.1153-1155, 2004.

GUDBRANDSEN, O.A.; WERGEDAHL, H.; BERGE, R.K. A casein diet added isoflavona-enriched soy protein favorably affects biomarkers of steatohepatitis in obese Zucker rats. **Nutrition**, v.25, n.5, p.574-580, 2009.

HENEMAN, K.M.; CHANG, H.C.; PRIOR, R.L. STEINBERG, F.M. Soy protein with and without isoflavones fails to substantially increase postprandial antioxidant capacity. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, p.46-53, 2007.

HOIE, L. M.; GRAUBAUM, H. J.; HARDE, A.; GRUENWALD, J.; WERNECKE, K. D. Lipid-Lowering Effect protein soybean in human. **Advances In Natural Therapy**, v.22, n.2, p.175-189, 2005.

IBRAHIM, W.H.; HABIB, H.M.; CHOW, C.K.; BRUCKNER, G.G. Isoflavone-rich soy isolate reduces lipid peroxidation in mouse liver. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v.78, n.4-5, p.217-222, 2008.

JACKSON, C. D.; WEIS, C.; POIRIER, LIONEL, A.; BECHTEL D.H. Interactions of varying levels of dietary fat, carbohydrate, and fiber on food consumption and utilization, weight gain and fecal fat contents in female Sprague-Dawley rats. **Nutrition Research**, v. 16, n. 10, p. 1735-1747, 1996.

KIM, S.M.; RICO, C.W.; LEE, S.C.; KANG, M.Y. Modulatory effect of rice bran and phytic acid on glucose metabolism in high fat-fed C57BL/6N mice. **Journal Clinical of Biochemistry Nutrition**, v.47, p.12-17, 2010.

LEE, S.O.; SIMONS, A.L.; MURPHY, P.A.; S. HENDRICH, S. Soyasaponins lowered plasma cholesterol and increased fecal bile acids in female golden Syrian hamsters. **Experimental Biology and Medicine**, v.230, n.7, p. 472-478, 2005.

LEE, J.S. Effects of soy protein and genistein on blood glucose, antioxidant enzyme activities, and lipids profile in streptozotocin-induced diabetic rats. **Life Sciences**, v.79, p.1578-1584, 2006.

LI, D.F.; et al. Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig. **Journal of Animal Science**, v.68, p.1790-1799, 1990.

LI, H.; LELLIOTT, C.; HAKANSSON, P.; PLOJ, K.; UNELD, A.; VEROLIN-JOHANSSON, M.; BENTHEM, L.; CARLSSON, B.; STORLIEN, L.; MICHAELSSON, E. Intestinal, adipose, and liver inflammation in diet-induced obese mice. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 57, p. 1704-1710, 2008.

LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.34, p.31- 67, 1994.

LO, G.S.; COLE, T.G. Soy cotyledon fiber products reduce plasma lipids. **Atherosclerosis**, v.82, p.59-67, 1990.

LO, G.S.; EVANS, R.H.; PHILLIPS, K.S.; DAHLGREN, R.R.; STEINKE, F.H. Effect of soy fiber and soy protein on cholesterol metabolism and atherosclerosis in rabbits. **Atherosclerosis**, v.64, n. 1, p.47-54, 1987.

MACQUEEN, H.A.; SADLER, D.A.; MOORE, S.A.; DAYA, S.; BROWN, J.Y.; SHUKER, D. E.G.; SEAMAN, M.; WASSIF, W.S. Deleterious effects of a cafeteria diet on the livers of nonobese rats. **Nutrition Research**, v. 27, p. 38-47, 2007.

MADANI, S.; PROST, J.; BELLEVILLE, J. Effects of dietary protein level and origin in the rat. **Nutrition**, v.16, p.368-375, 2000.

MILAGRO, F.I.; CAMPIÓN, J.; MARTINEZ, J.A. Weight gain induced by high-fat feeding involves increased liver oxidative stress. **Obesity**, v. 14, n. 7, p. 1118-1123, 2006.

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

MORAES, V.B. **Efeito funcional do resíduo micropulverizado da moagem a seco de milho em ratos com obesidade induzida pela dieta**. [dissertação]. Ciência da Nutrição: Universidade Federal de Viçosa, MG. Brasil; 2009.

MORIYAMA, T.; KISHOMOTO, K.; NAGAI, K.; URADE, R.; OGAWA, T.; UTSUMI, S.; MARUYAMA, N.; MAEBUCHI, M. Soybean β -conglycinin diet suppresses serum triglyceride level in normal and genetically obese mice by induction of β -oxidation, downregulation of fatty acid synthase and inhibition of triglyceride absorption. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.68, p.353-359, 2004.

NAGARAJAN, S. Mechanisms of anti-atherosclerotic functions of soy-based diets. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v.21, p.355-260, 2010.

NOBRE, L.N.; MONTEIRO, J.B.R. Determinantes dietéticos da ingestão alimentar e efeito na regulação do peso corporal. **Archivo Latinoamericano de Nutrición**, v.53, n.3, p.243-250, 2003.

OLIVEIRA, T.T.; SILVA, R.R.; DORNAS, W.C.; NAGEM, T.J. Flavonóides e Aterosclerose. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.42, n.1, p.49-54, 2010.

PAPATHANASOPOULOS, A.; CAMILLERI, M. Dietary fiber supplements: effects in obesity and metabolic syndrome and relationship to gastrointestinal functions. **Gastroenterology**, v.138, p.65-72, 2010.

PEREIRA, L.O.; FRANCISCHI, R.P.; JÚNIOR, A.H.L. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, v.47, n.2, 2003.

PÉREZ-MATUTE P, PÉREZ-ECHARRI N, MATÍNEZ A, MARTI A, MORENO-ALIAGA MJ. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in

control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor- α . **British Journal of Nutrition**. v. 97, p. 389-398, 2007.

QUIRRENBACH, H.R.; KANUMFRE, F.; ROSSO, N.D.; FILHO, M.A.C.
Comportamento do ácido fítico na presença de Fe(II) e Fe(III). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, 2009.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of Nutrition**, v.123, p.1939-1951, 1993.

ROCHA, K. S. O.; SABARENSE, C. M.; ROSA, D. D.; SILVA, M. M. L.; SILVA, F. F. Design and validation of a new computational method for counting hepatic fat micro-vesicles in histological study in rats. Article was submitted for analysis. Project in partnership between Department of Agricultural Engineering and Department of Nutrition and Health. University of Viçosa, MG, Brasil, 2008.

ROSELL, M. S.; APPLEBY, P. N.; SPENCER, E. A.; KEY, T. J. Soy intake and blood cholesterol concentrations: a cross-sectional study of 1033 pre- and postmenopausal women in the Oxford arm of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, p.1391-1396, 2004.

SACKS, F. M.; LICHTENSTEIN, A.; VAN HORN, L.; HARRIS, W.; KRISTHERTON, P.; WINSTON, M. Soy Protein, Isoflavones, and Cardiovascular Health an American Heart Association Science Advisory for Professionals from the Nutrition Committee. **Circulation**, v.113, p.1034-1044, 2006.

SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 9.1. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. (Software).

SAMRA, R.A; ANDERSON, G.H. Insoluble cereal fiber reduces appetite and short-term food intake and glycemic response to food consumed 75 min later by healthy men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 86, p. 972-979, 2007.

SANCHEZ, A.; HUBBARD, R. W. Plasma amino acids and the insulin/ glucagon ratio as an explanation for the dietary protein modulation of atherosclerosis. **Medical Hypotheses**, v.36, p.27-32, 1991.

SAWASHITA, N. Effect of dietary vegetable and animal proteins on atherothrombosis in mice. **Nutrition**, v.22, p.661-667, 2006.

SCOARIS, C.R.; RIZO, G.V.; ROLDI, L.P.; MORAES, S.M.F.; PROENÇA, A.R.G.; PERALTA, R.M.; NATALI, M.R.M. Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. **Nutrition**, v.26, p.312-320, 2010.

SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. **Appetite**, v.52, p.34-38, 2009.

Sigma Stat [computer program]. Version 2,03: Statistical software. SPSS-INC. 1992-97.

SIRTORI, C. R.; GALLI, C.; ANDERSON, J. W.; ARNOLDI, A. Nutritional and nutraceutical approaches to dyslipidemia and atherosclerosis prevention: Focus on dietary proteins. **Atherosclerosis**, v.203, n.1, p.8-17, 2009.

STIPANUK, M.H. (2006). Biochemical, physiological & Molecular Aspects of Human Nutritions. 2 ed. Philadelphia: W B Saunders Company. 1232 p

SUGANO, M.; ISHIWAKI, N.; NAKASHINE, K. Dietary protein-dependent modification of serum cholesterol level in rats. Significance of the lysine/arginine ratio. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v.28, p.192-199, 1993.

TAMURA, M.; SUZUKI, H. Effects of soy protein on the morphology of ileum and the ultrastructure of liver cells in adult mice. **International Journal for Vitamin Nutrition Research**, v.68, p.73-76, 1998.

TASKI-AJDUKOVIC, K.;DJORDJEVIC, V.; VIDIC, M.; VUJAKOVIC, M. Composição de subunidades de proteínas de reserva em genótipos de soja com alto teor de proteína. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.7, p.721-729, 2010.

TONSTAD, S.; SMERUD, K.; HOIE, L. A comparison of the effects of 2 doses of soy protein or casein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p.78-84, 2002.

TORRES, N.; TORRE-VILLALVAZO, I.; TOVAR, A.R. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. [Journal of Nutritional Biochemistry](#), v.17, n.6, p.365-373, 2006.

WILSON, T. A.; NICOLOSI, R. J.; KOTYLA, T.; FLECKINGER, B. Soy protein without isoflavonas reduces aortic total and cholesterol ester concentrations. **Nutrition Research**, v.27, p.498-504, 2007.

WOODS, S.C.; SEELEY, R.J.; RUSHING, P.A.; D'ALESSIO, D.; TSO, P. A Controlled High-Fat Diet Induces an Obese Syndrome in Rats. **The Journal of Nutrition**, v. 133, p. 1081-1087, 2003.

XIAO, C.W. Health Effects of Soy Protein and Isoflavones in Humans. **The Journal of Nutrition**, v.138, p.1244S-9S, 2008.

5. CONCLUSÃO GERAL

A farinha integral de soja do cultivar UFVTN 105AP apresentou elevado teor de proteína, de isoflavonas, fibra alimentar e ácidos graxos poliinsaturados e contém vitamina E, podendo ser uma alternativa de alimento protéico de origem vegetal, rico em micronutrientes e em compostos bioativos.

A farinha integral de soja apresentou efeito na prevenção de alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares quando ingerida junto à dieta equilibrada, devido à sua ação hipolipidêmica, a capacidade de reduzir a peroxidação de lipídios no soro e não causou danos hepáticos. Porém, ela não apresentou esse efeito preventivo quando ingerida numa dieta obesogênica.

A diminuição da altura das vilosidades intestinais pela farinha integral de soja, indicou que apesar da qualidade de sua proteína e da presença de compostos antioxidantes, como isoflavonas e fitatos, ela pode causar efeitos prejudiciais sobre a absorção de nutrientes no intestino.

Estudos devem ser realizados para avaliar se o efeito da ingestão de farinha integral de soja na redução das vilosidades intestinais pode afetar a absorção de nutrientes.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso da dieta de cafeteria mostrou-se algumas limitações como a dificuldade de homogeneização dos alimentos, dificuldade de controlar a densidade calórica e a distribuição e ingestão de macronutrientes, dificultando na interpretação dos resultados.

Diante dos resultados encontrados, mostra-se que é importante o trabalho do nutricionista na conscientização da população sobre a importância de se ter uma dieta equilibrada e também do valor nutricional da soja, uma vez que além da qualidade de sua proteína, apresentou compostos bioativos que auxiliam na redução de fatores de risco de DCNT.

O uso da farinha integral de soja como ingrediente de novos produtos deve ser estimulado para aumentar as propriedades nutricionais e funcionais da dieta.

Novos estudos são necessários para verificar se as alterações encontradas no intestino podem causar prejuízo na absorção de nutrientes.

ANEXO

