

Características Químicas, Nutricionais e Compostos Bioativos em Genótipos de Soja Preta



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria de Alimentos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
33**

**Características Químicas,
Nutricionais e Compostos Bioativos
em Genótipos de Soja Preta**

*Ilana Felberg
Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi
Joana de Novais Pereira
Ronoel Luiz de Oliveira Godoy
Sidinea Cordeiro de Freitas
Manuela Cristina Pessanha de Araujo Santiago
Sidney Pacheco
Verônica Maria de Araujo Calado*

Embrapa Agroindústria de Alimentos
Rio de Janeiro, RJ
2019

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Avenida das Americas, 29501, Guaratiba

CEP: 23020-470, Rio de Janeiro, RJ

Fone: +55 (21) 3622-9600

Fax: +55 (21) 3622-9713

www.embrapa.br/agroindustria-de-alimentos

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente

Virginia Martins da Matta

Membros

André Luis do Nascimento Gomes, Celma Rivanda Machado de Araujo, Daniela De Grandi Castro Freitas de Sá, Elizabete Alves de Almeida Soares, Janine Passos Lima da Silva, Leda Maria Fortes Gottschalk, Marcos de Oliveira Moulin, Otniel Freitas Silva e Rogério Germani

Supervisão editorial

Leda Maria Fortes Gottschalk

Revisão de texto

Renata Valeriano Tonon

Normalização bibliográfica

Elizabete Alves de Almeida Soares

Tratamento das ilustrações

André Luis do Nascimento Gomes

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

André Luis do Nascimento Gomes

Fotos da capa

Ilana Felberg (esq.) e Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi (dir.)

1ª edição

Publicação digitalizada (2019)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Características químicas, nutricionais e compostos bioativos em genótipos de soja preta. / Ilana Felberg... [et al.]. – Rio de Janeiro : Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2019.

34 p. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agroindústria de Alimentos, ISSN 0101-630X; 33).

1. *Glycine max*. 2. Fatores Antinutricionais. 3. Compostos Fenólicos. 4. Antocianinas. I. Felberg, Ilana. II. Carrão-Panizzi, Mercedes Concórdia. III. Pereira, Joana de Novais. IV. Godoy, Ronoel Luiz de Oliveira. V. Freitas, Sidinea C. de. VI. Santiago, Manuela Cristina Pessanha de Araujo. VII. Pacheco, Sidney. VIII. Calado, Verônica Maria de Araujo. IX. Série.

CDD 633.34 (23. ed.)

© Embrapa, 2019

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	11
Resultados e Discussão	15
Conclusões.....	27
Referências	27

Características Químicas, Nutricionais e Compostos Bioativos em Genótipos de Soja Preta

Ilana Felberg¹

Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi²

Joana de Novais Pereira³

Ronoel Luiz de Oliveira Godoy⁴

Sidinea Cordeiro de Freitas⁵

Manuela Cristina Pessanha de Araujo Santiago⁶

Sidney Pacheco⁷

Verônica Maria de Araujo Calado⁸

Resumo – O consumo de soja com tegumento preto é relacionado a efeitos benéficos à saúde humana, devido especialmente à presença de antocianinas que conferem a coloração preta à casca. É fundamental o conhecimento de sua composição, teores e perfis de compostos bioativos, pois a soja preta pode ser utilizada como matéria-prima na formulação de diferentes produtos. Nesse trabalho, quatro linhagens de soja preta foram avaliadas quanto à composição química, fatores antinutricionais, teores de açúcares, isoflavonas, antocianinas, aminoácidos e carotenoides. Não houve diferença ($p > 0,05$) entre os genótipos para os teores de proteína, extrato etéreo, carboidratos e cinzas. Sacarose foi o açúcar presente em maior concentração, com destaque para as linhagens BRM09-50901 e BRM09-50995 (média 6,44 g/100 g). Não houve diferença para os teores de estaquiase e rafinose, com exceção da BRM09-50901 (1,56 g/100 g). Os teores de fitato e inibidor de tripsina variaram de 11,91 a 14,88 mg/100 g e 28128 a 48073 TIU/g, respectivamente, sendo os menores teores observados nas linhagens BRM09-50682 e BRM09-50995, respectivamente. A linhagem BRM09-50995 apresentou os maiores teores de antocianinas monoméricas, isoflavonas e carotenoides. Foram identificadas três antocianinas: cianidina-3-O-glicosídeo (262,27 a 720,45 mg/100 g), delphinidina-3-O-glicosídeo (184,41 a 316,72 mg/100 g) e petunidina-3-O-glicosídeo (6,34 a 153,06 mg/100 g).

Termos para indexação: *Glycine max*, fatores antinutricionais, compostos fenólicos, antocianinas

¹ Farmacêutica, doutora em Ciência de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

² Engenheira agrônoma, doutora em Ciência de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

³ Nutricionista, mestre em Ciência de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

⁴ Farmacêutico, doutor em Ciência de Alimentos, pesquisador da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

⁵ Engenheira Química, doutora em Ciência de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

⁶ Engenheira Química, doutora em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, analista da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

⁷ Químico, doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos, analista da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

⁸ Engenharia Química, doutora em Engenharia Química, professora da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

Bioactivity compounds, chemical and nutritional characteristics in black soybean genotypes

Abstract – Black soybeans are related to beneficial effects to human health due to their bioactive compounds, especially the anthocyanins that are responsible for the skin color. Black soybean cultivars can be used as raw material in different food products, so knowledge of their composition and contents of bioactive compounds, in addition to their agronomic characteristics, are very important. In this study, four black soybean breeding lines were evaluated for chemical composition, antinutritional factors, sugar content, isoflavone, anthocyanin, amino acids and carotenoid contents. There were no differences ($p>0.05$) between genotypes for protein, lipid content, carbohydrates and ash. Sucrose was the sugar present in higher concentration, especially for BRM09-50901 and BRM09-50995 (average 6.44 g/100 g). There were no differences in raffinose and stachyose contents, except for BRM09-50901 (1.56 g/100 g). Phytate and trypsin inhibitor contents ranged from 11.91 to 14.88 mg/100 g and 28128 to 48073 TIU/g, respectively, and the lowest content was observed in lines BRM09-50682 and BRM09-50995, respectively. BRM09-50995 presented the highest concentrations of monomeric anthocyanins, isoflavones and carotenoids. Three monomeric anthocyanins were identified: cyanidin-3-O-glycoside (262.27 to 720.45 mg/100 g), delphinidin-3-O-glycoside (184.41 a 316.72 mg/100 g) and petunidine-3-O-glycoside (6.34 to 153.06 mg/100 g).

Index terms: *Glycine max*, antinutritional factors, phenolic compounds, anthocyanins

Introdução

Além dos grãos de soja de tegumento amarelo, consumido usualmente, também existem grãos de coloração preta, verde e marrom, consumidos principalmente pelas populações orientais na forma de grãos ou de produtos processados (Figura 1), (Ganesan; Xu, 2017; Astad; Paice, 2011; Liu, 2004). A soja preta, cuja coloração da casca é decorrente da presença de antocianinas, tem sido utilizada por centenas de anos na medicina tradicional chinesa, principalmente porque esses compostos ativos têm atividade anti-inflamatória e antioxidante o que reduz o risco de diversas doenças (Duenas; Hernandez, 2006; He; Giusti, 2010; Preddy et al., 2011).

As antocianinas, compostos bioativos presentes em alimentos, constituem grupos de pigmentos solúveis em água responsáveis pela maioria das cores azul, roxo, violeta, magenta, vermelha e laranja de diversas flores e vegetais. Há uma enorme variedade desses compostos distribuídos na natureza (Fernandes et al., 2013), sendo que nas cascas dos grãos de soja preta, a cianidina-3-O-glicosídeo é a majoritária (Liu, 2004).



Foto: Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi

Figura 1. Produtos de soja preta (grãos e chá) na Coreia do Sul, 2012.

Cho et al. (2013) identificaram, em dez variedades de soja preta, três diferentes antocianinas: delfinina-3-O-glicosídeo, petunidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-glicosídeo, sendo essa última em maior concentração. Zhang et al. (2011) avaliaram o conteúdo de antocianinas da casca de sessenta cultivares e encontraram grande variação de valores de antocianinas por 100 g de casca (98,8 mg até 2.132,5 mg). No entanto, apenas seis antocianinas (delfinina-3-O-glicosídeo, cianidina-3-O-galactosídeo, cianidina-3-O-glicosídeo, petunidina-3-O-glicosídeo, peonidina-3-O-glicosídeo e malvidina-3-O-glicosídeo) foram detectadas e a cianidina-3-O-glicosídeo foi também a antocianina mais abundante em todas as variedades estudadas. A determinação do perfil e quantificação das antocianinas é fundamental para avaliação de linhagens e cultivares de soja preta.

A soja preta, quando colhida no estágio de desenvolvimento R6 (grãos de soja imaturos), associado ao sabor adocicado e maior tamanho de grãos, constitui-se em matéria-prima com qualidade aceitável para o consumo como *edamame*, alimento tradicional tipo “finger food”, constituído por vagens verdes de soja (não maduras) fervidas em água salgada, por cinco a sete minutos (Johnson et al., 1999). Devido ao seu teor de antocianinas, quando madura, a soja preta pode ser também matéria-prima para diferentes produtos como farinhas, bebidas entre outros considerados alimentos funcionais (Carrão-Panizzi et al., 2018).

Estudos com animais e “*in vitro*” têm demonstrado efeitos positivos da soja preta ou de extratos de cascas de soja preta relacionados à atividade antidiabetes mellitus, antiobesidade, anticâncer, anti-inflamatória, hipolipidêmica e antimutagênica (Ganesan; Xu, 2017; Kusunoki et al., 2015; Kim et al., 2007; Kim et al., 2008; Kim et al., 2011; Kim et al., 2012; Kanamoto et al., 2011; Zou; Chang, 2011; Slavin et al., 2009; Hung, Huang; Chou, 2007; Takahashi et al., 2005).

Isoflavonas são outra classe de compostos bioativos encontrados nos grãos de soja, cujos estudos clínicos mostram um potencial na redução do risco de doenças hormônio-dependentes, incluindo câncer de mama, sintomas da menopausa, doenças cardiovasculares e osteoporose (Barbosa et al., 2006; Hong et al.2012; Chen et al., 2014, Rienks et al. 2017; Lambert et al., 2017). Basicamente, há três tipos de isoflavonas, que se apresentam normalmente em quatro diferentes formas químicas, somando assim 12 formas

diferentes: as agliconas (daidzeína, genisteína e gliciteína), os β -glicosídeos (daidzina, genistina e glicitina) e os derivados: glicosilados acetilados (6''-O-acetilaidzina, 6''-O-acetilgenistina e 6''-O-acetilglicitina) e malonilados (6''-O-malonilaidzina, 6''-O-malonilgenistina e 6''-O-malonilglicitina) (Park et al., 2002). As concentrações das isoflavonas em soja são muito variáveis, devido às diferenças genéticas nas variedades, localização geográfica, tipo de solo, ano e condições ambientais no crescimento (Wang; Murphy, 1994; Carrão-Panizzi et al., 1999). As isoflavonas encontradas naturalmente em soja e em produtos não fermentados de soja estão na forma de conjugados glicosídicos, principalmente como glicosídeos e seus malonil derivados (Wang; Murphy, 1994).

Os carotenoides, pigmentos naturais lipossolúveis sintetizados por plantas e microrganismos, também são micronutrientes importantes, já que o β -caroteno é precursor de vitamina A (Sass-Kiss et al., 2005). Os carotenoides estão presentes em baixas concentrações na soja madura, sendo encontrados valores na faixa de 0,8 a 3,7 ppm. Para os grãos imaturos, a luteína é o principal componente, encontrando-se valores na faixa de 8,9 a 21,2 ppm e para β -caroteno entre 2,9 a 4,9 ppm, em peso seco (Wang, 2008).

Os inibidores de proteases, proteínas amplamente distribuídas no reino vegetal, são capazes de promover a inibição das enzimas tripsina, quimi tripsina, amilase e carboxipetidase, as quais pela hidrólise de ligações peptídicas são convertidas em peptídeos de tamanhos mais reduzidos (Silva; Silva, 2000). Os principais inibidores de tripsina presentes em grãos de soja são conhecidos como tipo Kunitz, de alto peso molecular, com especificidade primária para a tripsina, encontrados em todas as subfamílias de *Leguminosae*, incluindo a *Mimosoideae*, *Caesalpinoideae*, *Papilioideae* e *Solanaceae* (Batista et al., 1996), e tipo Bowman-Birk, de peso molecular mais reduzido, capazes de inibir a tripsina e a quimi tripsina em sítios de ligação independentes (Liener, 1994). Esses inibidores de proteases causam alterações metabólicas no pâncreas de animais, com efeitos deletérios como aumento de secreções enzimáticas, hipertrofia e hiperplasia e redução da taxa de crescimento de animais monogástricos (Al-Wesali et al., 1995). Desta maneira, segundo Wilcke et al. (1979), desde a década de 70 já se sabia que a correta destruição dos inibidores de tripsina através de tratamentos térmicos proporciona grãos de soja e produtos dele derivados com melhor qualidade nutricional. No entanto, para manter as propriedades funcionais

da proteína, temperaturas muito elevadas durante o processamento são evitadas, o que favorece a permanência de 5 a 20% da atividade do inibidor de tripsina originalmente presente na soja bruta (Rackis; Gumbmann, 1982).

Outro composto considerado antinutricional em grãos de soja é o ácido fítico, também conhecido como fitato (sais), que interfere na biodisponibilidade de alguns minerais, principalmente o cálcio, o magnésio, o zinco e o ferro (Sandberg et al., 1989). Muitos estudos já foram realizados para reduzir ou eliminar este composto termoestável. A germinação promove o aumento da atividade da fitase endógena, o que promove a redução deste composto. Agostine e Ida (2006) avaliaram o uso da fitase extraída de sementes germinadas de girassol na redução do teor de fitato em farelo de girassol desengordurado e obtiveram resultados positivos. Segundo Scottá et al. (2014), o uso de fitase exógena em rações também é uma alternativa para aumentar a disponibilização dos nutrientes que estão complexados à molécula de ácido fítico. A hidrólise de fitato também ocorreu durante a fermentação de Tempeh (Liu, 1999), alimento tradicional da Indonésia, que se constitui em grãos de soja cozidos e fermentados com o fungo *Rhizopus microsporus* var. *Oligosporus* (Bavia et al., 2012). Ainda, segundo Omosiye e Cheryan (1979), a utilização de métodos de ultrafiltração e cromatografia de troca iônica foram eficientes na redução de cerca de 95% da concentração inicial desse composto.

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar linhagens de soja preta quanto a sua composição química, valor nutricional e compostos bioativos, a fim de disponibilizar informações sobre esse produto pouco conhecido entre brasileiros. Essas informações também servirão de subsídios para recomendação comercial de cultivares de soja com grãos pretos os quais serão utilizados para processamentos de alimentos especiais. No Brasil, o mercado ainda é incipiente, e há pouco conhecimento sobre este tipo de soja, sendo possível encontrar a soja preta em grãos (a granel) ou na forma de farinha em casas comerciais especializadas ou em sites de internet (<https://www.emporiocupano.com.br>; <https://www.extra.com.br>; <https://produto.mercadolivre.com.br>).

Material e Métodos

Quatro linhagens de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) desenvolvidas no programa de melhoramento de soja para alimentação humana da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, com tegumento preto e cotilédones amarelos (BRM11-51400, BRM09-50995, BRM09-50901 e BRM09-50682), foram utilizadas neste estudo. Os grãos dessas linhagens foram produzidos e colhidos na Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS, na safra de 2012/2013.

Somente os grãos inteiros de soja foram selecionados e triturados integralmente em moinho de martelo com peneira de 0,8 μm (Perten Laboratory Mill 3100) (Perten Laboratory Mill 3100). Após este procedimento, as amostras foram armazenadas em câmara fria a uma temperatura de 4 °C durante todo o período de estudo.

Composição Centesimal

A determinação de umidade foi realizada de acordo com o método nº 925.45 B (Association Of Official Analytical Chemists, 2005). Análise de cinzas foi realizada de acordo com o método nº 923.03 (Association Of Official Analytical Chemists, 2005); a de proteínas de acordo com o método nº 46-13 (American Association Of Cereal Chemists, 1995) para nitrogênio total, com fator de conversão de 6,25 para proteína; e de extrato etéreo, conforme o método nº 922.06 (Association Of Official Analytical Chemists, 2005). O conteúdo de carboidratos foi calculado por diferença, de acordo com o método Association Of Official Analytical Chemists (2005) segundo a equação: $100 - (\text{proteína} + \text{óleo} + \text{cinzas} + \text{água})$.

Isoflavonas

A determinação das isoflavonas foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) segundo o método 2001.10 da Association Of Official Analytical Chemists (2010). A extração e análise de isoflavonas (genistina, genisteína, daidzina, daidzeína, glicitina e gliciteína) nos grãos foram realizadas em duplicata, utilizando um cromatógrafo Waters® Alliance

2695 (Waters, Waltham, MA, EUA) equipado com um detector de arranjos de fotodiodos (PDA, Waters 2996). As isoflavonas foram separadas em uma coluna YMC C18 (5 μm , 4,6 \times 250 mm), a 45 $^{\circ}\text{C}$, utilizando um gradiente de água/metanol com 2% de ácido acético como fase móvel (1,3 mL/min). O software Empower[®] (Waters) foi utilizado no processamento dos dados. Foi utilizada uma faixa de comprimento de onda de 200 nm a 400 nm e os cromatogramas foram obtidos a 260 nm. A quantificação das isoflavonas foi realizada através da curva de calibração externa construída a partir de soluções padrões (Sigma Aldrich) de todas as isoflavonas avaliadas. As isoflavonas foram identificadas pelo tempo de retenção e pelo espectro de ultravioleta (UV/VIS). Os resultados das isoflavonas totais foram expressos como equivalentes em agliconas pela soma do teor de isoflavonas agliconas (genisteína, gliciteína e daidzeína) e seus respectivos glicosídeos convertidos em agliconas, conforme descrito na Association Of Official Analytical Chemists (2010).

Antocianinas

As antocianinas foram extraídas a partir das cascas dos grãos moídos e peneirados (peneira de 0,8 mm). A extração foi realizada em solução de ácido fórmico (10%) em metanol, à temperatura de 50 $^{\circ}\text{C}$, por uma hora, conforme metodologia de Wang et al. (2014) adaptada por Pereira et al. (2014). A análise cromatográfica por CLAE-DAD foi realizada de acordo com Gouvêa et al. (2012) e os compostos foram identificados por comparação do tempo de retenção dos picos das amostras com dados relatados anteriormente na literatura, dos espectros de UV/VIS e espectros de massa acurada dos padrões. A separação cromatográfica foi realizada em coluna de fase reversa (C18, Thermo BDS Hypersil, 100mm \times 4,6 mm e 2,4 μm) a 40 $^{\circ}\text{C}$ em modo de eluição gradiente de ácido fórmico 5% (Fase A) e acetoneitrila (Fase B) com fluxo de 1,0 mL/min. O volume de injeção foi 50 μL e o tempo de corrida de 20 minutos.

Os picos de antocianinas foram coletados na saída do detector e o espectro de massas das antocianinas foi determinado por infusão direta em espectrômetro de massas Q-TOF Synapt (Waters[®]), com ionização por eletronebulização. As condições e voltagens utilizadas no espectrômetro de massas foram: modo positivo, analisador modo V, capilar 3,0 kV, cone

de amostra 25,0 V, cone de extração 4,0 kV, temperatura da fonte 120 °C, temperatura de dessolvatação 500 °C, fluxo do gás de dessolvatação 750,0 L/h, energia de colisão 6,0 e V.

Compostos antinutricionais

Os fitatos foram extraídos da amostra finamente dividida, usando solução HCl 2,4%, em agitador por 3 horas. Em seguida esta solução foi transferida para uma coluna de troca iônica, onde os fitatos foram adsorvidos, e o eluato foi descartado. O fitato remanescente na coluna foi extraído com uma solução de HCl 2M. O fósforo presente foi quantificado em ICP-OES (Espectrometria De Emissão Atômica Com Plasma - ICP OES - Inductive Coupled Plasma) (Association Of Official Analytical Chemists, 2010).

A extração do inibidor de tripsina da amostra foi realizada em solução de pH 9,5 e posterior adição de tripsina. A atividade da tripsina remanescente foi medida por reação com benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPA), que forma a p-nitroanilina de cor amarela. A p-nitroanilina liberada foi estimada através da absorbância a 410 nm (American Oil Chemists' Society, 2009).

Carotenoides

A extração dos carotenoides foi realizada conforme o método descrito por Rodriguez-Amaya (1999). A amostra foi macerada com celite, extraída com acetona e então, filtrada em funil de vidro com placa sinterizada, até ausência da coloração característica, indicativa da presença de carotenoides. O extrato foi transferido para um funil de separação contendo éter de petróleo, onde foram realizadas lavagens com água ultra purificada pelo sistema Milli-Q (Millipore Corporation) até que não houvesse mais resíduos de acetona.

A solução foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL contendo 20 mg de hidroxitolueno butilado (BHT) e avolumada com éter de petróleo. Para reação de saponificação, retirou-se uma alíquota de 5mL, transferiu-se para *vial* âmbar e adicionou-se 5 mL de solução de KOH 10% (m/v) em metanol. Manteve-se a reação no escuro por 16 horas. Completou-se o volume do frasco com água e agitou-se vigorosamente. Após separação das fases o conteúdo do frasco foi transferido quantitativamente para uma bureta de 25 mL. Lavou-se a solução etérea com aproximadamente 100 mL de água,

descartando-se a fase aquosa. Registrou-se o volume final da solução etérea na bureta. Transferiu-se a solução etérea para vial de 10 mL e adicionou-se sulfato de sódio anidro e agitou-se. Uma alíquota desta solução foi utilizada para leitura de carotenoides totais em espectrofotômetro a 450 nm. Outra alíquota de 2 mL foi seca sob fluxo de ar comprimido e o resíduo dissolvido com acetona para análise cromatográfica. O teor de carotenoides totais foi calculado conforme a Equação 1. Para análise quantitativa, foi aceito o coeficiente de variação de até 10%.

$$\text{Carotenoides Totais } (\mu\text{g} / 100\text{g}) = \frac{ABS \times Vf \times 1000000}{M \times 2592} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, ABS = Absorvância; Vf = Volume final; M = Massa e 2592 = Absortividade Molar do β -caroteno.

A análise cromatográfica segundo Pacheco (2009) foi realizada por CLAE-DAD e os compostos identificados por comparação do tempo de retenção e dos espectros de UV dos padrões. O método baseia-se na separação cromatográfica em coluna de fase reversa (C₃₀, YCM Carotenoid S-3; 4,6 x 250 mm) a 33 °C em modo de eluição gradiente de metanol (Fase A) e éter metil-*terc*-butílico (Fase B) com fluxo de 0,8 mL/min. O volume de injeção foi 15 μ L e o tempo de corrida de 28 minutos.

Açúcares

A análise de açúcares foi realizada em cromatógrafo líquido de alta eficiência Alliance 2690/5 (Waters Corporation, Massachusetts, USA) composto por detector de índice de refração (CLAE-IR) W 2410 (Waters Corporation), segundo a metodologia de Macrae (1998). A amostra (aproximadamente 1,0 g) previamente solubilizada com 10 mL de água ultrapurificada em balão volumétrico de 25 mL, foi mantida em ultrassom por 20 minutos para a extração dos açúcares. Posteriormente, foram adicionados ao balão 5 mL de acetonitrila e o conteúdo foi então avolumado com água ultrapurificada. A separação cromatográfica foi realizada em coluna ZORBAX Carbohydrate (4,6 mm x 250 mm; 5 μ m) (Agilent Technologies, Dalaware, USA) inserida em forno a 30 °C, com fase móvel contendo acetonitrila:água (75:25) com fluxo de 1,4 mL/min. Os açúcares foram identificados por comparação dos tempos de retenção e espectros dos picos das amostras com dados disponíveis na

literatura. Para a quantificação dos teores de açúcares usou-se curva de calibração com padrões de rafinose, estaquiose e sacarose adquiridos da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA) com pureza de 98%.

Aminoácidos

A determinação dos perfis de aminoácidos foi realizada em sistema Cromatográfico modular composto por bomba analítica W600 e injetor WISP 717plus (Waters Corporation) de acordo com o método da Association Of Official Analytical Chemists (2000). O método baseia-se na determinação dos principais aminoácidos e dos aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) por hidrólise ácida e posterior derivatização com 6-aminoquinolil-succimidil-carbamato (AQC) e determinação de triptofano por hidrólise básica. Todos os aminoácidos foram separados em fase reversa e detectados por fluorescência. Os resultados foram expressos em gramas de aminoácidos/100 g de amostra.

Análise estatística

Todos os resultados das análises físico-químicas (composição centesimal, fitatos e inibidor de tripsina) e cromatográficas (antocianinas, isoflavonas, carotenoides, açúcares e aminoácidos) foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Fisher ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa Statistica 7.0 (Statsoft, 2005). Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em base seca como Média \pm Desvio Padrão (DP).

Resultados e Discussão

Em relação à composição centesimal dos grãos, não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os teores de umidade e proteína das quatro linhagens de soja preta estudadas. O mesmo não ocorreu para as concentrações de lipídios, carboidratos, cinzas e valor calórico (Tabela 1).

Os teores de proteína e óleo determinam o valor comercial das sementes de soja. As concentrações de proteína obtidas neste estudo foram inferiores aos

resultados (45,70 g/100 g) apresentados por Shih et al. (2002), ao analisarem uma cultivar de soja preta com cotilédones amarelos, mas estão coerentes com o estudo realizado por Cho et al. (2013), no qual a concentração de proteína das quatro cultivares de soja preta analisadas variou de 41,38 a 44,32 g/100 g de amostra. Os teores de proteína relatados no presente estudo também se encontram dentro da faixa apresentada (38,79 a 43,89 g/100 g) por Lin e Lai (2006) ao analisarem sete variedades de soja com tegumento preto. De acordo com Rangel et al. (2004), os teores de proteínas nos grãos de soja são determinados geneticamente, podendo ser influenciados por condições ambientais, como a temperatura na época do enchimento dos grãos como identificado por Pípolo (2002). Considerando que não foram observadas diferenças estatísticas entre os teores de proteína nas quatro linhagens de soja preta analisadas, pode-se concluir que as amostras apresentaram a mesma qualidade nutricional quanto aos seus teores proteicos podendo, desta forma, serem igualmente indicadas para o consumo humano.

Tabela 1. Composição centesimal (g/100 g) dos grãos de linhagens de soja preta.

Linhagens	Umidade	Proteínas*	Lipídios	Carboidratos**	Cinzas	Valor Calórico***
BRM09-50901	10,56 ^a ±0,10	41,18 ^a ±0,47	19,46 ^{ab} ±0,31	34,22 ^a ±0,45	5,13 ^a ±0,11	476,75 ^{ab} ±1,34
BRM09-50995	10,59 ^a ±0,10	41,15 ^a ±0,21	19,79 ^a ±0,15	33,83 ^{ab} ±0,20	5,24 ^a ±0,08	477,97 ^a ±0,96
BRM09-50682	10,41 ^a ±0,10	41,51 ^a ±0,29	19,44 ^{ab} ±0,35	33,61 ^{ab} ±0,45	5,44 ^b ±0,11	475,42 ^b ±1,45
BRM11-51400	10,61 ^a ±0,16	41,69 ^a ±0,24	19,12 ^b ±0,10	33,38 ^a ±0,32	5,81 ^b ±0,12	472,34 ^a ±0,31

* N x 6.25. ** calculado por diferença 100 – (% lipídios totais + % proteínas + % cinzas). *** Calculado pela soma das porcentagens de proteína e carboidratos multiplicados pelo fator 4 (kcal/g) e lipídios pelo fator 9 (kcal/g).

Teor de cinzas mais elevado (5,81 g/100 g) foi detectado na linhagem BRM11-51400 e o menor teor (5,13 g/100 g) na linhagem BRM09-50901. As linhagens BRM09-50901 e BRM09-50995 foram semelhantes quanto aos teores de cinzas.

Somente as linhagens BRM09-50995 e BRM11-51400 apresentaram diferenças para os teores de lipídios. Ao quantificarem a concentração de lipídios em grãos de soja com diferentes colorações de tegumentos (amarelo, preto, marrom e verde), Cho et al. (2013) observaram que os grãos de soja preta apresentaram a maior concentração de lipídios (20,88%) quando comparados com os demais grãos analisados.

Os grãos de soja, em geral, apresentam 40% de proteínas, 20% de lipídios, 35% de carboidratos e 5% de cinzas (Ha et al., 2009). Desta forma, os resultados obtidos para a composição centesimal das quatro linhagens de soja preta encontram-se dentro da faixa citada na literatura.

As linhagens BRM09-50995 (14,88 mg/g) e BRM11-51400 (14,04 mg/g) apresentaram maior teor de fitato (Tabela 2) entre as avaliadas. Moreira et al. (2012), ao analisarem seis cultivares de soja, observaram conteúdos entre 13,35 a 24,35 mg/g.

Segundo Heaney et al. (1991), a presença de fitato pode ser um problema em soja para alimentação humana, uma vez que pode reduzir a biodisponibilidade de minerais divalentes, como o zinco, cálcio, ferro e cobre. Sendo assim, considerando apenas as propriedades deletérias do fitato, pode-se considerar que a linhagem BRM09-50682 apresentou resultado mais satisfatório para esse fator antinutricional (11,91 mg/g). Em contrapartida, Harland e Narula (1999) mostram que o ácido fítico também pode ser considerado um componente bioativo devido à sua ação antioxidante. Desta maneira, segundo Onomi e Katayama (2004), uma concentração de ácido fítico acima de 10% favoreceria a atuação deste componente como uma substância antinutricional, enquanto quando detectado em menores concentrações, a ação funcional prevalece.

Tabela 2. Teores de fitato em grãos de linhagens de soja preta.

Linhagem	Fitato (mg/g)
BRM09-50901	12,21 ^{bd} ±1,17
BRM09-50995	14,88 ^a ±1,08
BRM09-50682	11,91 ^d ±0,75
BRM11-51400	14,04 ^{ab} ±0,97

Quanto ao fator antinutricional inibidor de tripsina, todas as linhagens foram estatisticamente diferentes (28138 a 48073 TIU/g). O maior teor foi observado na linhagem BRM11-51400, enquanto a BRM09-50995 apresentou o menor valor (Tabela 3). Os valores observados nesse trabalho estão dentro da faixa de 36580 a 45260 TIU/g citada por Ciabotti et al. (2006).

Tabela 3. Teores de inibidores de tripsina em grãos de linhagens de soja preta.

Linhagem	Inibidor de Tripsina (TIU/g)
BRM09-50901	33141 ^c ±107,58
BRM09-50995	28138 ^d ±318,86
BRM09-50682	42884 ^b ±1136,66
BRM11-51400	48073 ^a ±1129,34

Tratamento térmico adequado proporciona aumento da digestibilidade das proteínas da soja, pela inativação de parte dos inibidores de tripsina e outros fatores antinutricionais. Neste contexto, Ciabotti et al. (2006), eliminaram 79% da atividade inibidora de tripsina em grãos de soja, ao utilizarem tratamento térmico (98 °C/5 min) no processamento de tofu. Segundo Liener (1994) a maior parte dos grãos de soja e seus produtos derivados, sempre apresentam 5% a 20% da atividade inibitória residual.

Foi priorizada a quantificação dos teores de rafinose e estaquiose nas linhagens de soja preta, porque sua ingestão está relacionada com a sensação de desconforto abdominal (produção de gases) (Johnson et. al, 2008). (Tabela 4).

Tabela 4. Teores de açúcares (g/100 g) em grãos de linhagens de soja preta.

Linhagem	Sacarose	Rafinose	Estaquiose
BRM09-50901	6,46 ^a ±0,25	1,56 ^a ±0,04	4,67 ^a ±0,14
BRM09-50995	6,42 ^a ±0,17	1,45 ^b ±0,07	4,86 ^a ±0,28
BRM09-50682	3,56 ^c ±0,01	1,47 ^b ±0,02	4,69 ^a ±0,40
BRM11-51400	4,03 ^b ±0,16	1,41 ^b ±0,02	5,24 ^a ±0,35

As linhagens BRM09-50901 (6,46 g/100 g) e BRM09-50995 (6,42 g/100 g) apresentaram os resultados mais satisfatórios para o teor de sacarose, o que pode conferir melhor sabor (Qureshi et al., 2001; Silva et al., 2009). Apesar do sabor dos grãos de soja depender da presença de aminoácidos, ácidos orgânicos, sais inorgânicos, flavonoides e saponinas em sua composição, teores elevados de sacarose podem melhorar a qualidade sensorial desta

leguminosa mascarando o sabor adstringente relacionado à presença de alguns destes componentes (Masuda, 1991).

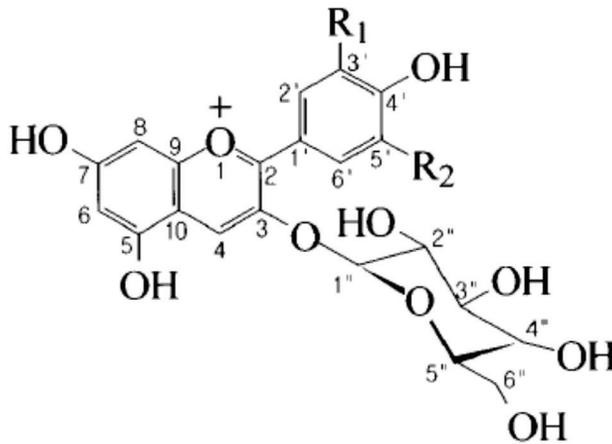
Ao quantificarem a concentração de sacarose em genótipos/cultivares de soja preta e amarela, Oliveira et al. (2010) encontraram teores que variaram de 2,38 a 6,33 g/100 g para as sementes com tegumento amarelo e 4,50 g/100 g para as sementes com tegumento preto. A concentração média de sacarose nas linhagens de soja apresentada no presente estudo foi superior à relatada por Lee et al. (2013) (4,50 g/100 g) ao analisarem uma cultivar de soja preta.

Como mencionado anteriormente, sintomas intestinais desagradáveis, como a flatulência, resultante do processo fermentativo dos oligossacarídeos, é um fator que limita o consumo de soja por parte da população ocidental (Price et al., 1988). Desta maneira, a redução de rafinose e estaquiose é desejável. As linhagens BRM09-50995, BRM09-50682 e BRM11-51400 não diferiram estatisticamente em relação ao teor de rafinose, que se apresentou na faixa de 1,41 a 1,47 g/100 g. Resultados médios inferiores (0,78 g/100 g) foram apresentados por Oliveira et al. (2010) ao quantificarem a concentração deste açúcar em seis genótipos/cultivares de soja preta.

As linhagens de soja preta apresentaram teores de estaquiose na faixa de 4,67 a 5,24 g/100 g, não havendo diferenças estatísticas entre elas. Resultados semelhantes (2,74 a 5,20 g/100 g) foram relatados em estudo realizado por Oliveira et al. (2010), enquanto que menores teores deste açúcar (1,91 g/100 g) foram apresentados por Lee et al. (2013).

Determinar açúcares em linhagens de soja é importante porque auxilia o desenvolvimento de cultivares comerciais com qualidade sensorial mais adequada ao consumo humano. Desta maneira, por possuírem teores mais elevados de sacarose, espera-se que as linhagens BRM09-50901 e BRM09-50995 apresentem melhor palatabilidade. Por outro lado, é possível a linhagem BRM09-50901 cause sensação de desconforto abdominal por parte dos consumidores, uma vez que apresentou concentração mais elevada de rafinose.

Foram identificadas três antocianinas nos tegumentos dos grãos das quatro linhagens de soja preta avaliadas: delfinidina-3-O-glicosídeo, cianidina-3-O-glicosídeo e petunidina-3-O-glicosídeo, cujas fórmulas químicas estão representadas na Figura 1.



1: Delfinidina-3-O-glicosídeo, R1= OH, R2= OH

2: Cianidina-3-O-glicosídeo, R1= OH, R2= H

3: Petunidina-3-O-glicosídeo, R1= OCH₃, R2= OH

Figura 1. Estrutura química das antocianinas detectadas no tegumento de grãos de linhagens de soja preta.

Foi observada diferença estatística entre os teores de antocianinas individuais e totais nas linhagens de soja preta (Tabela 5).

A cianidina-3-O-glicosídeo, como também observado por Lee et al. (2009) e Zhang et al. (2011), foi a antocianina majoritária em todas as linhagens estudadas, sendo detectada em maior concentração na linhagem BRM09-50995 (720,45 mg/100 g) e em valor menor na BRM09-50682 (262,27 mg/100 g). O maior teor de delfinidina-3-O-glicosídeo foi também observado na linhagem BRM09-50995 (316,72 mg/100 g). Apesar de ter apresentado a menor concentração de delfinidina-3-O-glicosídeo (129,61 mg/100 g), a BRM09-50682 foi a linhagem com o maior percentual desta antocianina (32,55%) em relação ao seu conteúdo de antocianinas totais, quando comparado com as demais linhagens. A petunidina-3-O-glicosídeo foi a antocianina quantificada em menor concentração nas quatro linhagens de soja. A linhagem BRM09-50995 apresentou teor sete vezes maior (153,06 mg/100 g) ao observado nas linhagens BRM09-50901 (21,73 mg/100 g) e BRM11-51400 (18,62 mg/100 g), que não diferiram estatisticamente entre si, e 24 vezes superior ao relatado na BRM11-51400 (6,34 mg/100 g).

Tabela 5. Conteúdo de antocianinas individuais e totais (mg/100 g) nos tegumentos dos grãos das linhagens de soja preta.

Linhagens	Delfinidina-3-O-glicosídeo	Cianidina-3-O-glicosídeo	Petunidina-3-O-glicosídeo	Antocianinas totais
BRM09-50901	184,41 ^a ±14,34	641,10 ^b ±27,83	21,73 ^b ±2,75	847,25 ^b ±40,62
BRM09-50995	316,72 ^a ±28,60	720,45 ^a ±65,06	153,06 ^a ±10,32	1190,50 ^a ±102,53
BRM09-50682	129,61 ^d ±5,88	262,27 ^d ±17,76	6,34 ^d ±0,51	398,22 ^c ±24,01
BRM11-51400	237,07 ^b ±6,09	494,53 ^c ±6,63	18,62 ^b ±1,14	750,22 ^b ±10,34

Cho et al. (2013) investigaram a presença de antocianinas na casca de grãos de soja com tegumentos amarelos, marrons, verdes e pretos, sendo que as antocianinas foram detectadas somente nos grãos de soja preta, cujas concentrações médias foram 1104,6 mg/100 g de cianidina-3-O-glicosídeo; 197,1 mg/100 g de delfinidina-3-O-glicosídeo e 55,7 mg/100 g de petunidina-3-O-glicosídeo. Xu e Chang (2008) reportaram ausência de antocianinas nos grãos de soja preta descascados e na semente de soja amarela.

Lee et al. (2009) caracterizaram o perfil de antocianinas em uma variedade de soja preta e relataram a presença das antocianinas catequina-cianidina-3-O-glicosídeo, delfinidina-3-O-glicosídeo, delfinidina-3-O-galactosídeo, cianidina-3-O-glicosídeo, cianidina-3-O-galactosídeo, petunidina-3-O-glicosídeo, pelargonidina-3-O-glicosídeo, peonidina-3-O-glicosídeo, sendo que a cianidina-3-O-glicosídeo estava em maior concentração, representando 75% do total de antocianinas.

Em relação ao conteúdo de antocianinas totais, o presente estudo relatou teores que variaram de 398,23 a 1190,23 mg/100 g, superior a faixa de 22 a 187 mg/100 g determinada por Jin-Rui et al. (2007) ao analisarem 127 genótipos de soja preta; mas inferior ao observado por Jeng et al. (2010) (723 a 2025 mg/100 g) e por Zhang et al. (2011) (2132 mg/100 g).

Considerando as linhagens estudadas, a BRM09-50995 apresentou os teores mais elevados de antocianinas individuais e totais (1190,23 mg/100 g), enquanto a linhagem BRM09-50682 apresentou os menores resultados para todos os perfis detectados. A cianidina-3-O-glicosídeo representou de 60,52% a 75,67% do total de antocianinas, sendo o composto majoritário em todas as linhagens analisadas, enquanto que a petunidina-3-O-glicosídeo (1,59% a 12,86%) apresentou as menores concentrações.

Para os teores de isoflavonas individuais e totais foi observada diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre as linhagens avaliadas (Tabela 6). As linhagens BRM09-50995 e BRM11-51400 foram as amostras com os maiores teores de isoflavonas totais, enquanto a BRM09-50901 apresentou o menor teor (59,82 mg/100 g).

Tabela 6. Conteúdo de antocianinas individuais e totais (mg/100 g) nos tegumentos dos grãos das linhagens de soja preta.

Isoflavona	BRM09-50901	BRM09-50995	BRM09-50682	BRM11-51400
Daidzina*	30,55 ^c ±1,38	78,97 ^a ±1,17	49,15 ^b ±1,19	76,16 ^a ±1,06
Glicitina*	15,85 ^d ±0,77	30,93 ^a ±0,44	18,76 ^c ±0,70	24,37 ^b ±0,75
Genistina*	38,82 ^d ±1,80	87,62 ^b ±1,44	72,19 ^c ±1,50	103,78 ^a ±2,05
Daidzeína	2,85 ^a ±0,08	7,35 ^b ±0,09	5,02 ^c ±0,09	6,83 ^d ±0,08
Gliciteína	1,07 ^d ±0,03	1,47 ^a ±0,03	1,27 ^b ±0,03	1,19 ^c ±0,02
Genisteína	2,88 ^c ±0,14	7,13 ^b ±0,13	6,04 ^b ±0,13	5,83 ^b ±0,02
Totais	92,02 ^c ±4,18	213,47 ^a ±3,26	152,44 ^b ±1,73	218,16 ^a ±3,79

Como observado por Fukutake et al. (1996), as formas glicosídicas estavam em maior concentração, sendo a genistina a isoflavona majoritária, cujos teores variaram de 38,82 a 103,78 mg/100 g, seguida pela daidzina (30,55 a 78,97 mg/100 g) e pela glicitina (15,85 a 30,93 mg/100 g). O maior conteúdo de genistina e glicitina foi observado nas linhagens BRM11-51400 (103,78 mg/100 g) e BRM09-50995 (30,93 mg/100 g), respectivamente. As linhagens BRM09-50995 e BRM11-51400 não diferiram estatisticamente em relação aos seus conteúdos de daidzina.

Em relação às formas agliconas, a genisteína foi a isoflavona detectada em maior concentração na linhagem BRM09-50995 (7,13 mg/100 g) e em teor reduzido na BRM09-50901 (2,88 mg/100 g). Esta foi também a forma aglicona observada em teores mais elevados nas linhagens BRM09-50901 (2,88 mg/100 g) e na BRM09-50682 (6,04 mg/100 g), enquanto a BRM09-50995 e a BRM11-51400 apresentaram maior valor de daidzeína (7,35 e 6,83 mg/100 g, respectivamente). Segundo Carrão-Panizzi et al. (1999; 2009) o conteúdo de isoflavonas em soja é determinado geneticamente, mas pode variar devido a fatores ambientais, principalmente a temperaturas locais durante o enchimento de grãos. Embora haja diferença de teores de isoflavonas nas partes do grão de soja, segundo Liu (1999), 80-90% dos

teores de isoflavonas se encontram distribuídos nos cotilédones, os quais em média, representam 90% do peso do grão.

Xu e Chang (2008) avaliaram a concentração de isoflavonas presentes nos grãos de soja amarela e preta, inteiros e descascados. Como resultado, observaram maior concentração de isoflavonas totais nos grãos de soja descascados (99,31 mg/100 g) e inteiros (96,01 mg/100 g) e teor mais reduzido nas cascas das sementes (47,75 mg/100 g). Foi ainda observado um teor maior de isoflavonas totais nos grãos de soja amarelos (197,80 mg/100 g) em relação ao valor detectado nos grãos de soja com tegumento preto (96,01 mg/100 g), esse último dentro da faixa observada no presente estudo (92,02 a 213,47 mg/100 g). No entanto, resultado diferente foi relatado por Cho et al. (2013), o qual não mostrou diferença para conteúdo de isoflavonas presentes em grãos de soja preta (237,40 mg/100 g) e soja amarela (239,34 mg/100 g). No mesmo estudo, grãos de soja verde apresentaram maior teor de isoflavonas (307,94 mg/100 g) e grãos de soja com tegumento marrom menor valor (182,18 mg/100 g).

Quando considerada a concentração de isoflavonas individuais nas quatro linhagens de soja preta avaliadas, percebe-se que, com exceção do conteúdo de glicitina (15,85 a 30,93 mg/100 g), que foi superior nas quatro linhagens estudadas, os teores de daidzina (28,04 a 69,45 mg/100 g) e genistina (41,05 a 77,31 mg/100 g) observados por Lee e Cho (2012) em cinco cultivares de soja preta foram semelhantes aos valores relatados nas quatro amostras avaliadas nesta pesquisa (30,55 a 78,97 mg/100 g e 38,82 a 103,78 mg/100 g, respectivamente).

Em relação à presença de isoflavonas totais em grãos de soja preta, pode-se considerar que o conteúdo deste composto nas quatro linhagens de soja (92,02 a 213,47 mg/100 g), está dentre as diferentes faixas descritas na literatura por vários autores, tais como Xu e Chang (2008) (96,01 mg/100 g), Kumar et al. (2010) (46,49 a 147,88 mg/100 g), Lee e Cho (2012) (75,22 a 160,80 mg/100 g) e Ha et al. (2009) (98,72 a 297,99 mg/100 g). Os teores mais expressivos de isoflavonas totais em sementes de soja com tegumento preto foram observados em estudos realizados por Cho et al. (2013) (72,30 a 390,46 mg/100 g).

Os resultados observados neste estudo estão de acordo com os dados já reportados em grãos de soja preta. Pode-se ainda considerar que a variação

entre os teores de isoflavonas presentes nas linhagens de soja avaliadas, principalmente em relação à reduzida concentração na linhagem BRM09-50901, foi devido principalmente ao fator linhagem, uma vez que as amostras foram desenvolvidas na mesma época de crescimento, localização geográfica e condições ambientais de desenvolvimento.

Quanto à concentração de carotenoides, a luteína foi o composto majoritário nas quatro linhagens de soja preta, com teores que variaram de 214,78 a 331,09 $\mu\text{g}/100\text{ g}$. Os maiores valores foram observados nas linhagens BRM09-50901 (280,64 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) e BRM09-50995 (331,09 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), representando, respectivamente, 67,35% e 58,75% do total de carotenoides presentes nas amostras. A BRM11-51400 foi a linhagem com o teor mais reduzido deste carotenoide, diferindo estatisticamente das demais linhagens (Tabela 7).

Tabela 7. Teores de carotenoides ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) presentes nos grãos das linhagens de soja preta.

Linhagem	Luteína	β -caroteno	Totais
BRM09-50901	280,64 ^{ab} ±23,50	62,98 ^b ±9,61	416,66 ^b ±32,27
BRM09-50995	331,09 ^a ±46,42	103,66 ^a ±24,15	563,75 ^a ±78,54
BRM09-50682	258,60 ^{bc} ±25,13	57,30 ^b ±3,93	388,08 ^b ±34,97
BRM11-51400	214,78 ^c ±8,70	76,44 ^b ±7,37	360,56 ^b ±23,65

O conteúdo de β -caroteno nas linhagens de soja foi na faixa de 57,30 a 103,66 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, sendo que a BRM09-50995 apresentou maior teor deste composto, enquanto as linhagens BRM09-50901, BRM09-50682 e BRM11-51400 não diferiram estatisticamente. Slavin et al. (2009) analisam o perfil e quantificaram os teores de carotenoides na parte etérea do grão (μg de carotenoide/g de óleo), e identificaram quatro diferentes carotenoides: luteína, β -caroteno, criptoxantina e zeaxantina, em teores que variaram de 171,8 a 510,3 $\mu\text{g}/\text{g}$, 30,4 a 49,1 $\mu\text{g}/\text{g}$, 1,9 a 6,9 $\mu\text{g}/\text{g}$ e 60,0 a 217,4 $\mu\text{g}/\text{g}$, respectivamente.

Segundo Blanco e Bressani (1991), a qualidade de uma proteína é entendida como a sua capacidade em satisfazer às necessidades nutricionais do organismo humano por aminoácidos, principalmente os essenciais, para fins de síntese proteica. É reconhecida a importância da qualidade nutricional da soja, pois segundo Lambein et al. (2005), grande parte dos aminoácidos

essenciais ao organismo humano, se encontra disponível nas sementes de soja.

Nas linhagens de soja preta foram identificados sete aminoácidos não essenciais (ácido aspártico, serina, ácido glutâmico, glicina, alanina, arginina e prolina) e onze aminoácidos essenciais (histidina, treonina, tirosina, valina, lisina, isoleucina, leucina, fenilalanina, triptofano, cisteína e metionina). Não foi observada diferença estatística entre os teores de aminoácidos presentes nas linhagens, que por consequência apresentam semelhante qualidade proteica. Os aminoácidos mais abundantes foram o ácido glutâmico, arginina, ácido aspártico e a leucina (Tabela 8). Resultados semelhantes foram reportados por Viera et al. (1999), que observaram em seis cultivares de soja os teores médios de ácido glutâmico de 21,49 g/100 g, ácido aspártico de 13,85 g/100 g e leucina de 7,55 g/100 g. O sabor da soja, para ser utilizada como *edamame*, deve ser suave, levemente adocicado, devido à presença dos aminoácidos alanina e ácido glutâmico, sacarose e mesmo amido. O conjunto desses compostos confere o sabor *umami* à soja (Silva et al., 2012), classificado como quinto gosto. O aminoácido glutâmico, junto com peptídeos livres, seria responsável pela sensação do sabor *umami* (Hajeb; Jinap, 2015; Kim et al., 2017). Resultados desse trabalho mostram que todas as linhagens avaliadas apresentaram alto teor de ácido glutâmico, o que se deve ao envolvimento de parentais tipos vegetais na genealogia desses genótipos.

A cisteína e a metionina foram os aminoácidos detectados em menores concentrações nas linhagens estudadas, apresentando valores que variaram de 0,28 a 0,33 g/100 g e 0,24 a 0,26 g/100 g de proteína, respectivamente. Quando comparado com a recomendação de aminoácidos essenciais para adultos (FAO, 2007), com exceção dos teores de aminoácidos sulfurados e da lisina, que foram inferiores, as linhagens de soja preta analisadas apresentaram teores de aminoácidos essenciais superiores ao recomendado.

Além da quantidade de proteína ingerida diariamente, a sua composição em aminoácidos essenciais deve ser considerada. Uma combinação reconhecida neste aspecto em relação às proteínas vegetais é a combinação de leguminosas e cereais que se complementam em relação à composição de aminoácidos essenciais (Liener, 1972).

Com base nos resultados obtidos nesse estudo, verificou-se que as quatro linhagens de soja são adequadas ao consumo humano, pois apresentam

características químicas semelhantes à soja de tegumento amarelo. Entretanto, a avaliação de soja preta foi relevante porque o produto é pouco conhecido no mercado brasileiro. Avaliações de linhagens especiais provenientes do melhoramento genético para obtenção de cultivares adequadas ao consumo humano são necessárias, porque uma vez caracterizadas, podem ser destinadas para diferentes processamento e usos. Entre as linhagens de soja preta analisadas, a BRM09-50995 apresentou boas características químicas, podendo ser recomendada para cultivo comercial, o que também depende da presença de boas características agrônômicas.

Tabela 8. Teores de aminoácidos (g/100 g de proteína) nos grãos de linhagens de soja preta.

Aminoácidos	BRM09-50901	BRM09-50995	BRM09-50682	BRM11-51400
Não essenciais				
Ácido aspártico	8,79 ^a ±0,18	8,77 ^a ±0,29	8,17 ^a ±0,24	8,49 ^a ±0,16
Serina	5,20 ^a ±0,23	5,15 ^a ±0,25	4,89 ^a ±0,12	4,75 ^a ±0,11
Ácido glutâmico	14,84 ^a ±0,36	14,82 ^a ±0,52	14,83 ^a ±0,41	14,10 ^a ±0,25
Glicina	3,01 ^a ±0,10	3,52 ^a ±0,25	3,44 ^a ±0,50	2,71 ^a ±0,05
Alanina	3,61 ^a ±0,12	3,62 ^a ±0,13	3,42 ^a ±0,12	3,31 ^a ±0,05
Arginina	9,45 ^a ±0,43	9,28 ^a ±0,44	9,08 ^a ±0,30	9,43 ^a ±0,17
Prolina	5,42 ^a ±0,24	5,39 ^a ±0,25	5,18 ^a ±0,24	4,68 ^a ±0,08
Essenciais				
Histidina	3,04 ^a ±0,16	3,06 ^a ±0,21	2,91 ^a ±0,07	2,83 ^a ±0,05
Treonina	4,59 ^a ±0,22	4,50 ^a ±0,20	4,38 ^a ±0,11	4,13 ^a ±0,08
Tirosina	4,47 ^a ±0,21	4,40 ^a ±0,19	4,36 ^a ±0,15	3,96 ^a ±0,06
Valina	4,66 ^a ±0,19	4,62 ^a ±0,20	4,43 ^a ±0,18	4,10 ^a ±0,08
Lisina	4,32 ^a ±0,11	4,33 ^a ±0,15	4,00 ^a ±0,12	4,17 ^a ±0,05
Isoleucina	4,59 ^a ±0,18	4,52 ^a ±0,20	4,38 ^a ±0,20	4,01 ^a ±0,07
Leucina	7,38 ^a ±0,30	7,63 ^a ±0,35	7,40 ^a ±0,34	6,79 ^a ±0,13
Fenilalanina	6,36 ^a ±0,28	6,25 ^a ±0,26	6,24 ^a ±0,22	5,61 ^a ±0,09
Triptofano	0,83 ^a ±0,05	0,95 ^a ±0,05	0,92 ^a ±0,01	0,79 ^a ±0,05
Aminoácidos sulfurados				
Cisteína	0,75 ^a ±0,03	0,80 ^a ±0,04	0,77 ^a ±0,01	0,89 ^a ±0,03
Metionina	0,68 ^a ±0,03	0,66 ^a ±0,03	0,67 ^a ±0,03	0,72 ^a ±0,01

Conclusões

As linhagens de soja preta apresentaram a mesma qualidade nutricional em relação aos seus teores proteicos, podendo, desta maneira, serem igualmente indicadas para o consumo humano quando considerada a presença deste nutriente nos grãos.

Em relação aos fatores antinutricionais, os teores de fitatos presentes em todas as linhagens estavam dentro dos limites considerados aceitáveis para sementes de soja (1% a 2,3%).

A linhagem BRM09-50995 apresentou o menor teor de inibidor de tripsina e maior teor dos compostos bioativos (antocianinas, isoflavonas e carotenoides), além da possibilidade de melhor sabor, devido às concentrações de sacarose e de ácido glutâmico, que conferem a esse genótipo características superiores para o consumo humano.

Referências

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Approved methods of AACC. 9^a ed. St. Paul: AACC, 1995.

AGOSTINI, J. S.; IDA, E. I. Caracterização parcial e utilização da fitase extraída de sementes germinadas de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 6, p. 1041-1047, 2006.

AL-WESALI, M.; LAMBERT, N.; WELHAM, T.; DOMONEY, C. The influence of pea seed trypsin inhibitors on the in vitro digestibility of casein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 68, p. 431-437, 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 17th ed., Gaithersburg, Maryland: AOAC International, 2000.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 18th ed. Washington, DC. 2005. 1 CD-ROM.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 18th ed. Washington, DC. 2010.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. 6 ed. Champaign, EUA: AOCS, 2009.

ASTAD, I. R.; PAICE, A. G. Black soybean (*Glycine max* L. Merrill) seed's antioxidant capacity. In: PREEDY, V. R.; WATSON, R. R.; PATEL, V. B. **Nuts and seeds in health and disease prevention**. USA: Elsevier Inc., 2011. p. 229-236.

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, p. 921-926, 2006.

BATISTA, I. F. C.; OLIVA, M. L. V.; ARAUJO, M. S.; SAMPAIO, M. U.; RICHARDSON, M.; FRITZ, H.; SAMPAIO, C. A. M.; Primary structure of a Kunitz-type trypsin inhibitor from *enterolobium contortisiliquum* seeds. **Phytochemistry**, v. 41, p. 1017-1022, 1996.

BAVIA, A. C. F.; SILVA, C. E. da; FERREIRA, M. P.; LEITE, R. S.; MANDARINO, J. M. G.; CARRÃO-PANIZZI, M. C. Chemical composition of tempeh from special soybean cultivars. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v. 32, n. 3, p. 613-620, 2012.

BLANCO, A.; BRESSANI, R. Biodisponibilidad de aminoácidos in el frijol (*Phaseolus vulgaris*). **Archivos Latinoamericano de Nutrición**, v. 41, p. 38-51, 1991.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; BELÉIA, A. P.; KITAMURA, K.; OLIVEIRA, M. C. N. Effects of genetics and environment on isoflavone content of soybean from different regions of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1787-1795, 1999.

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

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MIRANDA, M. Z. de; FELBERG, I.; GODOY, R. L. de O.; SANTIAGO, M. C. P. de A. **Avaliação de soja preta para consumo como edamame**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2018. 20 p. (Embrapa Trigo. Boletim de pesquisa e desenvolvimento online, 89). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/179670/1/ID44351-2018BPDOI89.pdf>>.

CHEN, M. N.; RAO, Y. H.; ZHENG, Y.; WEI, S. Q.; LI, Y.; GUO, T.; YIN, P. Association between Soy Isoflavone Intake and Breast Cancer Risk for Pre- and Post-Menopausal Women: A Meta-Analysis of Epidemiological Studies. 2^a ed. **Plos One**, v. 9, e89288, 2014.

CHO, K. M.; HA, T. J.; LEE, Y. B.; SEO, W. D.; KIM, J. Y.; RYU, H. W.; JEONG, S. H.; KANG, Y. M.; LEE, J. H. Soluble phenolics and antioxidant properties of soybean (*Glycine mal L.*) cultivars with varying seed coat colours. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 1065-1076, 2013.

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

DUENAS, M.; HERNADEZ, T. E. Assessment of in vitro antioxidant activity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. **Food Chemistry**, v. 98, p. 95-103, 2006.

FERNANDES, I.; FARIA, A.; CALHAU, C.; FREITAS, V.; MATEUS, N. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of functional foods**, v. 7, p. 54-66, 2013.

FAO. World Health Organization. Evaluation on protein and amino acid requirements in human nutrition: report of the joint FAO/WHO/ONU Expert consultation on protein and amino acid requirement in human nutrition. Geneva: United Nation University. 2007. (WHO Technical Report Series, n° 935)

FUKUTAKE, M.; TAKAHASHI, M.; ISHIDA, K.; KAWAMURA, H.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. **Food Chemistry Toxicology**, v. 34, p. 457-461, 1996.

GANESAN, K.; XU, B. A Critical Review on Polyphenols and Health Benefits of Black Soybeans. **Nutrients**, v. 9, 455, 2017.

GOUVÊA, A. C. M. S.; ARAUJO, M. P.; SCHULZ, D. F.; PACHECO, S.; GODOY, R. L. DE O.; CABRAL, L. M. C. Anthocyanins Standards (cyanidin-3-O-glucoside and cyanidin-3-O-rutinoside) isolation from freeze-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, p. 1-4, 2012.

HA, T. J.; LEE, J. H.; SHIN, S.; SHIN, S.; HAN, S.; KIM, H.; KO, J.; LEE, M.; PARK, K. Changes in anthocyanin and isoflavone concentrations in black seed-coated soybean at different planting location. **Journal of Crop Science and Biotechnology**. v. 12, p. 78-86, 2009.

HAJEB, P.; JINAP, S. Umami taste components and their sources in Asian foods. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 6, p. 778-791, 2015.

HARLAND, B. F.; NARULA, G. Phytate and its hydrolysis products. **Nutrition Research Reviews**, v. 19, p. 947-996, 1999.

HE, J.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins: natural colorants with health promoting properties. **Food Science and Technology**, v. 1, p. 163-187, 2010.

HEANEY, R. P.; WEAVER, C. M.; FITZSIMMONS, M. L. Soybean phytate content: effect on calcium absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, p.745-747, 1991.

HONG, G. E.; MANDAL, P. K.; LIM, K. W.; LEE, C. H., Fermentation increases isoflavone aglycone contents in black soybean pulp. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 7, n. 6, p. 502-511, 2012.

HUNG, Y. H.; HUANG, H. Y.; CHOU, C. C. Mutagenic and antimutagenic effects of methanol extracts of unfermented and fermented black soybeans. **International Journal of Food Microbiology**, v. 118, p. 62-68, 2007.

JENG, T. L.; SHIH, Y. J.; WU, M. T.; SUNG, J. M. Comparisons of flavonoids and anti-oxidative activities in seed coat, embryonic axis and cotyledon of black soybeans. **Food Chemistry**, v. 123, p. 1112-1116, 2010.

JIN-RUI.; ZHANG, M. W.; XING-HUA, L.; ZHANG-XIONG, L.; RUI-FEN.; LING, S.; LI-JUAN, Q. Correlation between antioxidant and the content of total phenolics and anthocyanin in black soybean accessions. **Agricultural Science in China**, v. 6, p. 150-158, 2007.

JOHNSON, L. A.; WHITE, P. J.; GALLOWAY, R. (Ed.). Soybeans: chemistry, production, processing, and utilization. New York: AOCS Publishing, 2008. 42 p. (AOCS Monograph Series on Oilseeds).

JOHNSON, D.; WANG, S.; SUZUKI, A. Edamame: a vegetable soybean for Colorado. In: JANICK, J. (Ed.). **Perspective in new crops and new uses**. Alexandria: ASHS Press, 1999. p. 385-387.

KANAMOTO, Y.; YAMASHITA, Y.; NANBA, F.; YOSHIDA, T.; TSUDA, T.; FUKUDA, I.; NAKAMURA-TSURUTA, S.; ASHIDA, H. A black soybean seed coat extract prevents obesity and glucose intolerance by up-regulating upcoupling proteins and down-regulating inflammatory cytokines in high-fat diet-fed mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 8985-8993, 2011.

KIM, J.-A.; HONG, S.-B.; JUNG, W.-S.; YU, C.-Y.; MA, K.-H.; GWAG, J.-G.; Chung, I.-M., Comparison of isoflavones composition in seed, embryo, cotyledon and seed coat of cooked-with-rice and vegetable soybean (*Glycine max* L.) varieties. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 738-744, 2007.

KIM, J. M.; KIM, J. S.; YOO, H.; CHOUNG, M. G.; SUNG, M. K., Effects of black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seed coats and its anthocyanidins on colonic inflammation and cell proliferation in vitro and in vivo. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8427-8433, 2008.

KIM, K.; LIM, K. M.; KIM, C. W.; SHIN, H. J.; SEO, D. B.; LEE, S. J.; NOH, J. Y.; BAE, O. N.; SHIN, S.; CHUNG, J. H. Black soybean extract can attenuate thrombosis through inhibition of collagen-induced platelet activation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, p. 964-970, 2011.

KIM, H. K.; KIM, J. N.; HAN, S. N.; NAM, J. H.; NA, H. N.; HA, T. J. Black soybean anthocyanins inhibit adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. **Nutrition Reviews**, v. 32, p. 770-777, 2012.

KIM, M. J.; YANG, H. J.; KIM, J. H.; AHN, C.-W.; LEE, J. H.; KIM, K. S.; KWON, D. Obesity-Related Metabolomic Analysis of Human Subjects in Black Soybean Peptide Intervention Study by Ultraperformance Liquid Chromatography and Quadrupole-Time-of-Flight Mass Spectrometry. **Journal of Obesity**, v. 2013, 2013.

KIM, S.-Y.; WI, H.-R.; CHOI, S.; HA, T. J.; LEE, B. W.; LEE, M. Inhibitory effect of anthocyanin-rich black soybean testa (*Glycine max* (L.) Merr.) on the inflammation induced adipogenesis in a DIO mouse model. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 623-633, 2015.

KIM, Y.; KIM, E.-Y.; SON, H. J.; LEE, J.-J.; CHOI, Y.-H.; RHYU, M.-R. Identification of a key umami-active fraction in modernized Korean soy sauce and the impact thereof on bitter-masking. **Food Chemistry**, v. 233, p. 256-262, 2017.

KUMAR, V.; RANI, A.; DIXIT, A. K.; PRATAP, D.; BHATNAGAR, D. A comparative assessment of total phenolic content, ferric reducing-anti-oxidative power, free radical-scavenging activity, vitamin C and isoflavones content in soybean with varying seed coat colour. **Food Research International**, v. 43, p. 323-328, 2010.

- KUNITZ, M. Crystallization of a trypsin inhibitor from soybeans. **Science**, v. 101, p.668 - 669. 1945.
- KUSUNOKI, M.; SATO, D.; TSUTSUMI, K.; TSUTSUI, H.; NAKAMURA, T.; OSHIDA, Y. Black soybean extract improves lipid profiles in fenofibrate-treated type 2 diabetics with postprandial hyperlipidemia. **Journal of Medicinal Food**, v. 18, n. 6, 2015.
- LAMBEIN, F.; KUO, Y-H.; IKEGAMI, F.; KUSAMA-EGUCHI, K.; ENNEKING, D. Grain legumes and human health. In: INTERNATIONAL FOOD LEGUMES RESEARCH CONFERENCE, 4., 2005. New Delhi, India. **Proceedings...** New Delhi, India, 2005. (IFLRC-IV).
- LAMBERT, M. N. T; HU, L. M.; JEPPESEN, P.B. A systematic review and meta-analysis of the effects of isoflavone formulations against estrogen-deficient bone resorption in peri- and postmenopausal women. **American Journal Of Clinical Nutrition**, v. 106, n. 3, p. 801-811, 2017.
- LEE, J. H.; CHO, K. M. Changes occurring in compositional components of black soybeans maintained at room temperature for different storage periods. **Food Chemistry**, v. 131, p. 161-169, 2012.
- LEE, J.; HWANG, Y. S.; CHANG, W. S.; MOON, J. K.; CHOUNG, M. G. Seed Maturity differentially mediates metabolic responses in black soybean. **Food Chemistry**. v .141, p. 2052-2059, 2013.
- LEE, J. H.; KANG, N. S.; SHIN, S. O.; SHIN, S. H.; LIM, S. G.; SUH, D. Y.; BAEK, I. Y.; PARK, K. Y.; HA, T. J. Characterisation of anthocyanins in the black soybean (*Glycine max L.*) by HPLC-DAD-ESI/MS analysis. **Food Chemistry**, v. 112, p. 226–231, 2009.
- LIENER, I. E. Nutritional value of food protein products. In: SMITH, A. K.; CIRCLE, S. J. (Ed.). **Soybeans: Chemistry and technology**. Westport: The AVI Publishing, 1972. p. 203-277.
- LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 34, p. 31-67, 1994.
- LIN, P. Y.; LAI, H. M. Bioactive compounds in legumes and their germinated products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 3807-3814, 2006.
- LIU, K. Nonfermented oriental soyfoods. In LIU, K. (Ed.). **Soybeans: Chemistry, Technology, and Utilization**. New York: Aspen Publishers, 1999. p. 532.
- LIU, K. Soybean as a powerhouse of nutrients and phytochemicals. In: LIU, K. (Ed.). **Soybeans as functional foods and ingredients**. Champaign, Illinois: AOCS Press, 2004. p. 1-22.
- MACRAE, R. Food Science and technology – A series of monographs: HPLC in food analysis. Editora Academic Press, 2ª ed. 1998, P.77
- MASUDA, R. Quality requirement and improvement of vegetable soybean. In: WORKSHOP HELD AT KENTING, 1991, Taiwan. Vegetable soybean: research needs for production and quality improvement: **Proceedings**. Taiwan: Asian Vegetable Research and Development Center, 1991. p. 92-102. Editor: SHANMUNGASUNDARAM, S.

- MOREIRA, A. A.; MANDARINO, J. M. G.; NEVES-SOUZA, R. D.; LEITE, R. S.; OLIVEIRA, M. A. Ácido fítico em soja. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 23, p. 393-398, 2012.
- OLIVEIRA, M. A.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; LEITE, R. S.; CAMPOS FILHO, P. J.; VICENTINI, M. B. Quantificação dos teores de açúcares, oligossacarídeos e amido em genótipos/cultivares de soja (*Glycine Max* (L) Merrill especiais utilizados para alimentação humana. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, p. 23-29, 2010.
- OMOSIYE, O.; CHERYAN, M.; Low-phytate, full-fat protein product by ultrafiltration of aqueous extracts of whole soy beans. **Cereal Chemistry Journal**, v. 56, 58-62, 1979.
- ONOMI, T.; KATAYAMA, Y. O. Effect of dietary level of phytic acid on hepatic and serum lipid status in rats fed a high-sucrose diet. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, v. 68, p.1379-1381, 2004.
- PARK, Y. K.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; MASCARENHAS, H. S.; SCAMPARINI, A. R. P. Conversão de malonil- β -glicosilisoflavonas em isoflavonas glicosiladas presentes em alguns cultivares de soja brasileira. **Ciência e Tecnologia dos alimentos**, v. 22, p. 130-135, 2002.
- PEREIRA, J. de N.; GODOY, R. L. de O.; FELBERG, I.; ESTEVES, T. C. F.; SANTIAGO, M. C. P. de A.; CARRÃO, M. C. Avaliação de metodologias de extração e caracterização do perfil de antocianinas em soja preta por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectrometria de massas (MS). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 24; CONGRESSO DO INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE FRUTOS TROPICAIS, 4, 2014, Aracaju. Inovação e sustentabilidade em Ciência e Tecnologia de Alimentos: anais. [S.l.]: SBCTA, 2014.
- PÍPOLO, A. E. **Influência da temperatura sobre as concentrações de proteína e óleo em sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 2002. 128 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.
- PREDDY, V. R.; WATSON, R. R.; PATEL, V. B. **Nuts and seeds in health and disease prevention**. USA: Elsevier Inc., 2011. p. 1189.
- PRICE, K. R.; LEWIS, J.; WYATT, G. M.; FENWICK, G. R. Flatulence-causes, Relation to diet and remedies. **Nahrung**, v. 32, p. 609-626, 1988.
- QURESHI, N.; LOLAS, A.; BLASCHEK, H. P. Soy molasses as fermentation substrate for production of butanol using *Clostridium beijerinckii* BA101. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 290-295, 2001.
- RACKIS, J. J.; GUMBMAN, M. R. Proteases inhibitors: physiological properties and nutritional significance. **Antinutrients an Natural Toxicants in Foods**, v. 203, 1982.
- RANGEL, M. A. S.; CAVALHEIRO, L. R.; CAVICHIOLLI, D.; CARDOSO, P. C. **Efeito do genótipo e do ambiente sobre os teores de óleo e proteína nos grãos de soja, em quatro ambientes da Região Sul de Mato Grosso do Sul, safra 2002/ 2003**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 17).

RIENKS, J.; BARBARESCO, J.; NOTHLINGS, U. Association of isoflavone biomarkers with risk of chronic disease and mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **Nutrition Reviews**. v. 75, ed.8, p. 616-641, 2017.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. Washington DC: International Life Sciences Institute (ILSI) Press, 1999. 64 p.

SANDBERG, A. S.; CARLSSON, N. G.; SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta- and hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. **Journal of Food Science**, v. 54, p. 159-161, 1989.

SASS-KISS, A.; KISS, J.; MILOTAY, P.; KEREK, M. M.; TOTH-MARKUS, M. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. **Food Research International**, v. 38, p. 1023–1029, 2005.

SCOTTÁ, B. A.; GOMIDE, A. P. C.; CAMPOS, P.F.; BARROCA, C. C.; FORMIGONI, A. S.; FERREIRA, S. V. Utilização de fitase na alimentação de aves e suínos. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 2, Art. 1660, jan., 2014.

SILVA, J. B. da; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; PRUDÊNCIO, S. H. Chemical and physical composition of grain-type and food-type soybean for food processing. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 7, p. 777- 784, 2009.

SILVA, J. B.; PRUDENCIO, S. H.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; GREGORUT, C.; FONSECA, J. F.; MATTOSO, L. H. C. Study on the flavour of soybean cultivars by sensory analysis and electronic tongue. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 8, p. 1630-1638, 2012.

STATISTICA data analysis software system. Version 7.1. [Tulsa]: Statsoft, 2005.

SHIH, M. C.; YANG, K. T.; KUO, S. J. Quality and antioxidant activity of black soybean tofu as affects by bean cultivar. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 67, p. 480-484, 2002.

SLAVIN, M.; CHENG, Z.; LUTHER, M.; KENWORTHY, Y. L. Antioxidant properties and phenolic, isoflavone, tocopherol and carotenoid composition of Maryland-grown soybean lines with altered fatty acid profiles. **Food Chemistry**, v. 114, p. 20–27, 2009.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteínas e lecitinas. **Revista de Nutrição**, v. 13, p. 3-9, 2000.

TAKAHASHI, R.; OHMORI, R.; KIYOSE, C.; MOMIYAMA, Y.; OHSUZU, F.; KONDO, K. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, p. 4578-4582, 2005.

WANG, T. Minor Constituents and Phytochemicals of soybeans. In: JOHNSON, L. A.; WHITE, P. J.; GALLOWAY, R. (Ed.). Soybeans: Chemistry, Production, Processing and Utilization. New York: AOCS Publishing, 2008. p. 297-329. (AOCS Monograph Series on Oilseeds).

WANG, D.; MA, Y.; ZHANG, C.; ZHAO, X. Thermal characterization of the anthocyanins from black soybean (*Glycine max L.*) exposed to thermogravimetry. **Food Science and Technology**, v. 55, p. 645-649, 2014.

WILCKE, H. L.; HOPKINS, D. T.; WAGGLE, D. H. (Ed.). **Soy protein and human nutrition**. Academic Press: New York, 1979. 187 p.

XU, B.; CHANG, S. K. Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean, and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins, and isoflavones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8365-8373, 2008.

ZHANG, R. F.; ZHANG, F. X.; ZHANG, M. W.; WEI, Z. C.; YANG, C. Y.; ZHANG, Y.; TANG, X. J.; DENG, Y. Y.; CHI, J. W. Phenolic Composition and Antioxidant Activity in Seed Coats of 60 Chinese Black Soybean (*Glycine max* L. Merr.) Varieties. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5935-5944, 2011.

ZOU, Y.; CHANG, S. K. C. Effect of black soybean extract on the suppression of the proliferation of human AGS gastric cancer cells via the induction of apoptosis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 59, p. 4597-4605, 2011.

WANG, H.; MURPHY, P. A. Isoflavone Content in Commercial Soybean Foods, **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 42, n. 8, p. 1666-1673, 1994.



Agroindústria de Alimentos