

## CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ISOLADOS E DE UM CONCENTRADO PROTÉICO DE SOJA PRODUZIDO NO BRASIL<sup>1/</sup>

Miriam Fontes Araújo<sup>2/</sup>  
José Carlos Gomes<sup>3/</sup>  
Renato Sant'Anna<sup>4/</sup>  
Dirceu J. Silva<sup>5/</sup>

### 1. INTRODUÇÃO

A demanda de proteína de origem vegetal vem aumentando nos últimos anos, devido, principalmente, aos custos mais baixos e a algumas propriedades específicas de interesse estético e organoléptico. Como a conversão da proteína vegetal em animal é, na maioria das vezes, de baixo rendimento, esse produto é, naturalmente, de custo mais elevado (6). O uso da proteína de soja como ingrediente em alimentos tradicionais ou no desenvolvimento de novos pode contribuir imensamente no aspecto nutricional e funcional.

Aproximadamente 90% das proteínas da soja, em sua maior parte globulinas, são proteínas de reserva do grão. As outras são hemaglutininas, inibidores de tripsina, lipoproteínas e enzimas (10). As frações 7 S e 11 S são os principais componentes protéicos e constituem a maior parte da proteína total (14). Os inibidores de tripsina e hemaglutininas são componentes antinutricionais (12), por isso de-

---

<sup>1/</sup> Parte da tese de Miriam Fontes Araújo, para a obtenção do título de «Magister Scientiae» em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aceito para publicação em 13-02-1986.

<sup>2/</sup> Bolsista do CNPq e, posteriormente, da CAPES.

<sup>3/</sup> Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. 36570 Viçosa, MG.

<sup>4/</sup> Departamento de Biologia Geral da UFV. 36570 Viçosa, MG.

<sup>5/</sup> Departamento de Zootecnia da UFV. 36570 Viçosa, MG.

vem ser inativados. Também as isozimas lipoxigenases são indesejáveis, pois catalisam a oxigenação de ácidos graxos polinsaturados, que contêm 1,4 cis, cis-pentadieno (20). Os produtos oriundos da oxidação, como hexanal e pentanal, dentre outros, conferem sabor e aroma indesejáveis aos produtos da soja (2). A atividade da urease (E. C. 3.5.1.3), índice de urease, está correlacionada com a inativação, por tratamento térmico, desses fatores indesejáveis (13).

A composição química de isolados e concentrados protéicos de soja varia acentuadamente, dependendo do processo utilizado para extrair, recuperar e neutralizar as proteínas. Carbonatos ou hidróxidos de cálcio, magnésio ou sódio são freqüentemente utilizados para neutralizar o precipitado isoeletrico (10, 11, 18). A neutralização do precipitado isoeletrico antes da secagem é, muitas vezes, preferida, por resultar em isolados protéicos com maior dispersabilidade e solubilidade (3).

O objetivo do presente trabalho foi determinar as características químicas de cinco isolados e um concentrado protéico de soja produzidos no Brasil.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados protéicos de soja (Proteimax 90 - SH, Proteimax 90 - HG, Proteimax 90 - NB, Proteimax 90 - HÇ e Proteimax 90 - LG) e o concentrado protéico de soja (Proteimax 70) foram fornecidos pela SANBRA (Sociedade Algodoeira do Nordeste Brasileiro).

A umidade foi determinada segundo o procedimento descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (15). Placas de Petri com 2,0 g de amostra ( $\pm 0,1$  mg) foram aquecidas, durante 3 horas e meia, em estufa, a 105°C.

Utilizou-se o método semi-micro Kjeldahl, segundo o procedimento descrito por GOMES *et alii* (9), na determinação de proteína.

As determinações de cinzas foram feitas conforme o método descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (15). A solução mineral foi preparada e utilizada nas determinações de Ca, Mg, Na, K e P.

O sódio e o potássio foram determinados por fotometria de chama e o cálcio e o magnésio por espectrofotometria de absorção atômica. O método utilizado na determinação de fósforo foi uma modificação do método inicial de Fiske e Subbarow (1925), conforme proposição de CHEN *et alii* (4).

Para a determinação do pH da solução protéica, adicionou-se exatamente 1,0 g de proteína a 100 ml de água destilada. A solução foi agitada durante 30 minutos, com um agitador magnético, e o pH foi medido.

A hidrólise ácida foi utilizada na determinação dos aminoácidos, com exceção do triptofano. Na análise quantitativa dos aminoácidos, aplicou-se a técnica da cromatografia de troca iônica, conforme SPACKAMAN e STANFORD (17), utilizando-se um analisador automático de aminoácidos BECKMAN, modelo 121.

O triptofano foi determinado separadamente, por hidrólise básica, e quantificado pelo método colorimétrico descrito por OPIÉNSKA-BLAUTH *et alii* (16).

Para a determinação da atividade da urease (E.C. 3.5.1.3.), utilizou-se o método descrito pela A.O.C.S. (1), que consiste na medida do aumento do pH ocasionado pela liberação de amônia de uma solução fosfato-uréia, resultante da atuação da urease.

Para efeito de comparação dos perfis eletroforéticos dos isolados e concentrado protéico, obteve-se uma preparação de proteínas de soja, mostrada na Figura 1. Utilizou-se, para tal fim, a variedade UFV-5, safra 82/83.

Para a determinação do perfil eletroforético, a proteína das amostras foi extraída com 2 ml do tampão de extração, modificado de acordo com DELEPE-

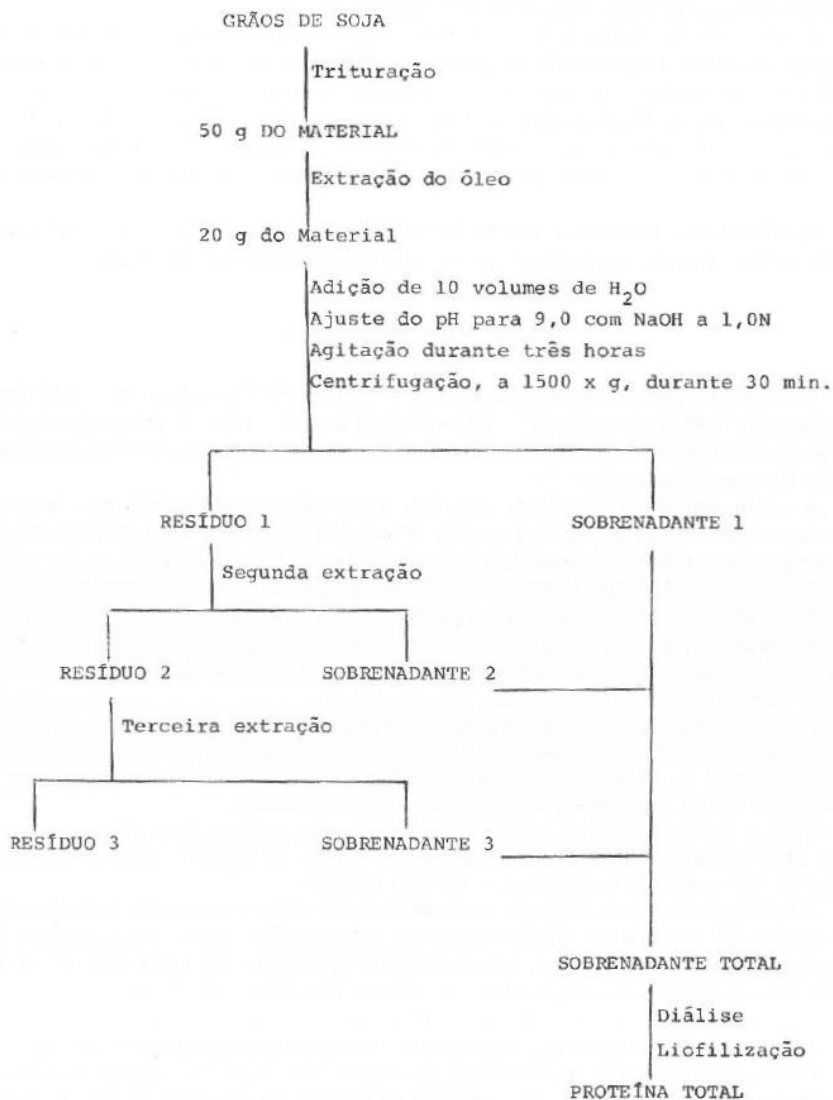


FIGURA 1 - Diagrama da extração das proteínas da soja.

LAIRE e CHUA (7), mediante a adição de uréia a 6M e substituição de LIDS (duodecil sulfato de lítio) por SDS (duodecil sulfato de sódio). O resíduo insolúvel da centrifugação foi descartado. A proteína foi dissociada, em seus polipeptídios, por meio da adição de  $\beta$ -mercaptoetanol e de tratamento, por três minutos, em banho-maria, a 100°C. Aplicaram-se 10  $\mu$ l do sobrenadante num gel de poliacrilamida, conforme DELEPELAIRE e CHUA (7), exceto que o gel foi formado por um gradiente linear com concentração de 10-18% em acrilamida, com 6M de uréia, em 1,5M de Tris-HCl, pH 8,8, com 0,2% de SDS. Com a finalidade de melhorar a resolução, adicionou-se um gel empilhador a 5% de acrilamida, que continha bis acrilamida, 0,2% de SDS e 6M de uréia. O tampão do eletrodo foi usado de acordo com DELEPELAIRE e CHUA (7). A eletroforese foi conduzida durante cinco horas, com voltagem constante de 150 V, à temperatura ambiente. Os polipeptídios separados foram revelados com «Comassie brilliant blue R-250», em metanol/ácido acético/água (25: 7,5: 67,5 v/v/v), e o gel foi descolorido com metanol/ácido acético/água (45: 9: 46 v/v/v).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Quadro 1 apresenta as características químicas dos produtos protéicos de soja. Pode-se observar que o Proteimax 90 -NB apresentou teor de proteína superior ao dos demais isolados (96,0%), talvez devido à incorporação de maior quantidade de albuminas, o que concorreu para a elevação do teor protéico.

Com relação à composição em minerais, observa-se que o Proteimax 90-LV apresentou elevado teor de cálcio (0,92%) e magnésio (0,51%) e baixo teor de sódio (0,13%), em comparação aos demais produtos protéicos, provavelmente devido à adição de sais desses cátions durante o processamento.

Não foram observadas diferenças expressivas no teor de potássio e fósforo entre os produtos protéicos. Todos eles foram neutralizados antes da secagem, conforme os valores de pH relacionados no Quadro 1.

A composição em aminoácidos desses isolados e do concentrado protéico de soja é muito semelhante, conforme se vê no Quadro 2. Deve-se ressaltar que o teor de cistina foi provavelmente subestimado, pois não foi efetuada uma oxidação com ácido per fórmico antes da hidrólise ácida.

O Quadro 3 compara a composição em aminoácidos essenciais desses produtos protéicos da soja com a composição FAO-73 (8). A proteína total da soja apresenta uma composição em aminoácidos bem balanceada, exceto deficiência de aminoácidos sulfurados (12, 19). A treonina apareceu como o segundo aminoácido limitante para todos os isolados protéicos, e o triptofano foi o terceiro limitante para três deles. Os outros não apresentaram o terceiro aminoácido limitante. Quanto ao concentrado protéico, Proteimax 70, não apresentou nem o segundo nem o terceiro aminoácido limitante. Um concentrado obtido por WOLF (19) teve o mesmo comportamento.

O Proteimax 90-NB apresentou o maior «escore químico», dentre os isolados. Esse isolado também teve o maior teor de proteínas (Quadro 1). Possivelmente, o maior teor de albuminas desse isolado concorreu para o aumento do teor de aminoácidos sulfurados.

A ausência da atividade de urease (E.C. 3.5.1.3) mostrou a eficiência do tratamento térmico recebido por esses produtos protéicos. Com base nesse índice (5, 13), concluiu-se que fatores indesejáveis, tais como lipoxigenases, inibidores de tripsina e hemaglutininas, foram inativados.

QUADRO 1 -- Características químicas dos produtos protéicos da soja

| Produtos<br>protéicos | Proteína a,b<br>(Nx6,25) | pH<br>b,c | Cinza a,b<br>% | Ca a,b<br>% | Mg a,b<br>% | Na a,b<br>% | K a,b<br>% | P a,b<br>% |
|-----------------------|--------------------------|-----------|----------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|
| Proteinax 90-SH       | 93,7                     | 6,47      | 4,82           | 0,06        | 0,02        | 1,08        | 0,10       | 0,59       |
| Proteinax 90-HG       | 93,6                     | 6,67      | 4,15           | 0,05        | 0,03        | 0,96        | 0,12       | 0,60       |
| Proteinax 90-NB       | 96,0                     | 6,29      | 3,64           | 0,09        | 0,03        | 0,87        | 0,15       | 0,60       |
| Proteinax 90-LV       | 92,2                     | 7,11      | 4,03           | 0,92        | 0,51        | 0,13        | 0,14       | 0,57       |
| Proteinax 90-LC       | 92,1                     | 6,62      | 4,49           | 0,18        | 0,04        | 0,98        | 0,19       | 0,64       |
| Proteinax 70          | 69,0                     | 6,32      | 4,49           | 0,18        | 0,04        | 0,98        | 0,19       | 0,64       |

a - Base de matéria seca.

b - Média de testes em duplicata.

c - pH dos produtos protéicos, solução a 1%.

QUADRO 2 - Composição em aminoácidos dos produtos protéicos da soja

| Aminoácidos     | g aminoácido/ 100 g proteína |        |        |        |        |        |
|-----------------|------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                 | Protei                       | Protei | Protei | Protei | Protei | Protei |
|                 | max                          | max    | max    | max    | max    | max    |
|                 | 90-SH                        | 90-HG  | 90-NB  | 90-LV  | 90-LG  | 70     |
| Lisina          | 6,53                         | 6,25   | 6,41   | 6,63   | 6,64   | 6,81   |
| Histidina       | 2,60                         | 2,57   | 2,62   | 2,70   | 2,71   | 2,76   |
| Amônia          | 2,29                         | 2,25   | 2,26   | 2,34   | 2,34   | 2,20   |
| Arginina        | 8,77                         | 8,38   | 8,57   | 8,94   | 8,91   | 8,14   |
| Ácido aspártico | 12,99                        | 12,44  | 12,68  | 13,06  | 12,89  | 12,36  |
| Treonina        | 3,45                         | 3,40   | 3,50   | 3,60   | 3,54   | 4,16   |
| Serina          | 5,15                         | 4,94   | 5,04   | 5,20   | 5,16   | 5,19   |
| Ácido glutâmico | 22,59                        | 21,52  | 21,57  | 22,51  | 22,24  | 19,75  |
| Prolina         | 5,86                         | 5,53   | 5,63   | 5,83   | 5,79   | 5,72   |
| Glicina         | 4,22                         | 4,09   | 4,24   | 4,32   | 4,24   | 4,58   |
| Alanina         | 3,99                         | 3,89   | 3,98   | 4,14   | 4,07   | 4,72   |
| Cistina         | 0,77                         | 0,69   | 0,90   | 0,86   | 0,82   | 0,80   |
| Valina          | 5,26                         | 5,09   | 5,28   | 5,44   | 5,34   | 5,73   |
| Metionina       | 1,57                         | 1,58   | 1,59   | 1,55   | 1,58   | 1,62   |
| Isoleucina      | 5,43                         | 5,23   | 5,39   | 5,59   | 5,46   | 5,51   |
| Leucina         | 8,57                         | 8,24   | 8,46   | 8,77   | 8,59   | 8,83   |
| Tirosina        | 3,93                         | 3,73   | 3,83   | 3,94   | 3,92   | 3,82   |
| Fenilalanina    | 6,42                         | 5,67   | 5,80   | 6,02   | 5,92   | 5,80   |
| Triptofano*     | 0,94                         | 0,88   | 0,98   | 1,00   | 1,08   | 1,30   |

\* Determinado separadamente por hidrólise básica e colorimetria.

A Figura 2 mostra o eletroferograma dos produtos protéicos da soja e do isolado, preparado conforme a Figura 1. Observa-se que a banda referente às lipoxigenases está virtualmente ausente nos isolados e concentrados comerciais de soja. Essa banda, no entanto, aparece nitidamente nas amostras que não sofreram processamento industrial. O isolado Proteimax 90-SH apresentou uma modificação nítida na fração  $\beta$ , com o aparecimento de uma banda entre as frações  $\beta$  e  $A_3$ .

#### 4. RESUMO

Cinco isolados e um concentrado protéico de soja produzidos industrialmente no Brasil tiveram a sua composição química determinada. Todos os isolados apresentaram teor de proteínas (Nx6.25) superior a 90%, enquanto o concentrado protéico apresentou 69%. Um deles apresentou teores elevados de cálcio e magnésio e baixo teor de sódio. As variações dos teores de potássio e fósforo foram pequenas.

QUADRO 3 - Composição em aminoácidos essenciais dos produtos protéicos da soja, em comparação com a proteína padrão da FAO/WHO, 1973 (8).

| Aminoácido       | g aminoácido/ 100 g proteína |                    |                    |                    |                    |                    |               |                 |                     |  |
|------------------|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|-----------------|---------------------|--|
|                  | FAO-73                       | Proteinax<br>90-SH | Proteinax<br>90-HG | Proteinax<br>90-NB | Proteinax<br>90-LV | Proteinax<br>90-IG | Isola<br>do** | Proteinax<br>70 | Concen-<br>trado*** |  |
| Lisina           | 5,5                          | 6,53               | 6,25               | 6,41               | 6,63               | 6,64               | 5,7           | 6,81            | 6,6                 |  |
| Metionina +      |                              |                    |                    |                    |                    |                    |               |                 |                     |  |
| Cistina          | 3,5                          | 2,34               | 2,27               | 2,49               | 2,41               | 2,40               | 2,3           | 2,42            | 2,9                 |  |
| Triptofano       | 1,0                          | 0,94               | 0,88               | 0,98               | 1,00               | 1,08               | 1,0           | 1,30            | 1,4                 |  |
| Treonina         | 4,0                          | 3,45               | 3,40               | 3,50               | 3,60               | 3,54               | 3,8           | 4,16            | 4,3                 |  |
| Isoleucina       | 4,0                          | 5,43               | 5,23               | 5,39               | 5,59               | 5,46               | 5,0           | 5,51            | 4,9                 |  |
| Leucina          | 7,0                          | 8,57               | 8,24               | 8,46               | 8,77               | 6,59               | 7,9           | 8,83            | 8,0                 |  |
| Fenilalanina +   |                              |                    |                    |                    |                    |                    |               |                 |                     |  |
| Tirosina         | 6,0                          | 10,35              | 9,40               | 9,63               | 9,96               | 9,84               | 5,9*          | 9,62            | 5,3*                |  |
| Valina           | 5,0                          | 5,26               | 5,09               | 5,28               | 5,44               | 5,34               | 5,2           | 5,73            | 5,0                 |  |
| "Escore" químico |                              | 66,86              | 64,86              | 71,14              | 68,86              | 68,57              | 65,71         | 69,14           | 82,86               |  |
| 1º limitante     |                              | Met+Cys            | Met+Cys            | Met+Cys            | Met+Cys            | Met+Cys            | Met+Cys       | Met+Cys         | Met+Cys             |  |
| 2º limitante     |                              | Thr                | Thr                | Thr                | Thr                | Thr                | Thr           | -               | -                   |  |
| 3º limitante     |                              | Trp                | Trp                | Trp                | -                  | -                  | -             | -               | -                   |  |
| E/T%             | 36,0                         | 42,87              | 40,76              | 42,14              | 43,40              | 42,89              | -             | 44,38           | -                   |  |

\* Considerada apenas a fenilalanina.

\*\* Valores de Rackis *et alii* (1961), citados por WOLF (19).

\*\*\* Valores de Meyer *et alii* (1966), citados por WOLF (19).

E/T% Soma da porcentagem de aminoácidos essenciais.

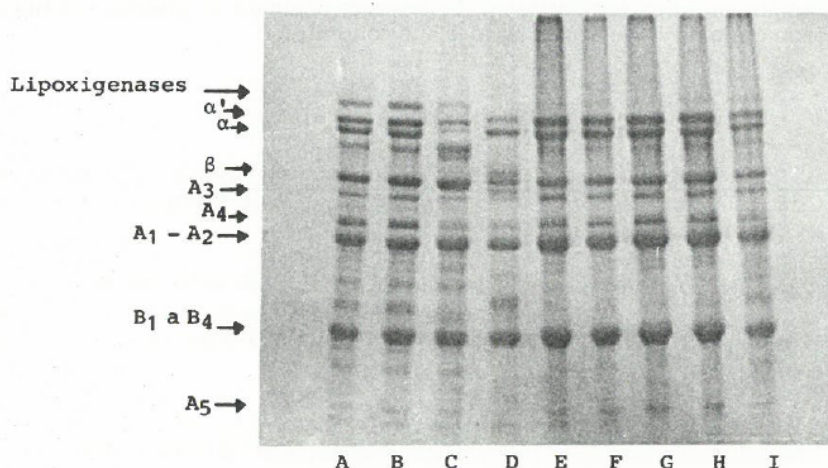


FIGURA 2 - Eletroferograma das seguintes amostras protéicas de soja: A - soja triturada (UFV 5); B - soja triturada e desengordurada (UFV 5); C - Proteína extraída da soja, conforme a Figura 1; D - Proteimax 90-SH; E - Proteimax 90-HG; F - Proteimax 90-NB; G - Proteimax 90-LV; H - Proteimax 90-LG; I - Proteimax 70. 10 µl da amostra foram aplicados num gel formado por gradiente de acrilamida de 10-18%, com 0,2% de SDS e 6M de uréia. α, α' e β - Polipeptídios da fração, 7S. A1, A2, A3, A4 e A5 - Polipeptídios ácidos da fração 11S. B1 a B4 - Polipeptídios básicos da fração 11S.

Os valores de pH de soluções aquosas indicaram a neutralidade desses produtos. Todos eles apresentaram composição em aminoácidos muito semelhante.

Nenhum deles apresentou atividade ureásica, confirmando a inativação dos fatores antinutricionais. O perfil eletroforético em gel de poliácridamida com sulfato de duodecil e uréia mostrou a presença da maioria das proteínas dos grãos de soja nos isolados e no concentrado protéico.

## 5. SUMMARY

### (CHEMICAL CHARACTERIZATION OF SOYBEAN PROTEIN ISOLATES AND CONCENTRATE PRODUCED IN BRAZIL)

Five soybean protein isolates and one concentrate produced in Brazil were characterized by their chemical composition. All isolates showed protein (Nx6.25) level above 90%, and the concentrate, 69%. One of the isolates was high in calcium and magnesium content and low in sodium. Small variations were observed in the level of potassium and phosphorus. Aqueous solutions of these products indicated neutrality. Aminoacid composition was similar for all of them. Antinu-

tritional components were inactivated as indicated by the absence of urease activity. Electrophoretic pattern in polyacrylamide gels containing Sodium Duodecyl Sulfate and urea demonstrated the presence of almost all proteins existing in soybean grain in the analyzed isolates and concentrate.

## 6. LITERATURA CITADA

1. A.O.C.S. Tentative method Ba 9-58 - Urease activity. In: SMITH, A.K. & CIRCLE, S.J. (ed.). *Soybeans: Chemistry and Technology*. Westport, Connecticut, Avi Publishing Company, 1978. Vol. 1. p. 454-456.
2. ARAI, S. Deterioration of food proteins by binding unwanted compounds such as flavors, lipids and pigments. In: *Chemical Deterioration of Proteins*. Washington, American Chemical Society, 1980. p. 195-209 (ACS Symposium Series 123).
3. BAKER, E.C. & MUSTAKAS, G.C. Heat inactivation of trypsin inhibitor, lipoxigenase and urease in soybeans: Effect of acid and base additives. *Journal of American Oil Chemists Society*, 50(5):137-141, 1973.
4. CHEN, P.S.; TORIBARA, T.Y. & WARNER, H. Microdetermination of phosphorus. *Analytical Chemistry*, 28(11):1756-1758, 1956.
5. CIRCLE, S.J. & SMITH, A.K. Processing soy flours, protein concentrates and protein isolates. In: CIRCLE, S.J. & SMITH, A.K., (ed.). *Soybeans: Chemistry and Technology*. Westport, Connecticut, Avi Publishing Company, 1978. Vol. 1, p. 294-338.
6. COSTA, S.I.; DIETRICH, Q.Q.; MORETTI, V.A.; CANTO, W.L. & COBRE, R.V. O emprego da soja na alimentação humana. *Boletim do ITAL*, 46:1-24, 1976.
7. DELEPELAIRE, P. & CHUA, N.H. Lithium dodecyl sulfate/polyacrylamide gel electrophoresis of thylakoid membranes at 4°C: Characterizations of two additional chlorophyll in a proteins complexes. *Proc. National Academy of Science*, 76(1):111-115, 1979.
8. FAO. *Necesidades de energia y de proteínas: Informe de un Comité Especial Mixto FAO/OMS de Expertos*. Roma, 1973. 138 p. (Serie de Informes Técnicos, 522).
9. GOMES, J.C.; KOCH, U. & BRUNNER, J.R. Isolation of a trypsin inhibitor from navy beans by affinity chromatography. *Cereal Chemistry*, 56(6):525-529, 1979.
10. KINSELLA, J.R. Functional properties of soy proteins. *Journal of American Oil Chemists Society*, 56(3):242-258, 1979.
11. KNORR, D. Effect of recovery methods on yield, quality and functional properties of potato protein concentrates. *Journal of Food Science*, 45(5):1183-1186, 1980.

12. LIENER, I.E. Nutritional value of food protein products. In: SMITH, A.K. & CIRCLE, S.J. (ed.). *Soybeans: Chemistry and Technology*. Westport, Connecticut, Avi Publishing Company, 1978. v.1. p. 203-277.
13. McNAUGHTON, J.L. Color, trypsin inhibitor and urease activity as it affects growth of broilers. *Journal of American Oil Chemists Society*, 58(3):321-324, 1981.
14. MILLERD, A. Biochemistry of legume seed proteins. *Annual Review of Plant Physiology*, 26:53-72, 1975.
15. *NORMAS analíticas do Instituto Adolfo Lutz*, 2 ed. São Paulo, 1976, v.1. 371 p.
16. OPIENSKA-BLAUTH, J., CHAREZINSKI, M. & BEBEC, H. A new, rapid method of determining tryptophan. *Analytical Biochemistry*, 6(1):69-76, 1963.
17. SPACKMAN, D.H. & STANFORD, M. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Analytical Chemistry*, 30(7):1190-1206, 1958.
18. WOLF, W.J. Soybean proteins: Their functional, chemical e physical properties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 18(6):969-976, 1970.
19. WOLF, W.J. Legumes: seed composition and structure, processing into protein products and protein properties. In: WHITAKER, J.R. (ed.). *Food proteins*. Westport, Connecticut, Avi Publishing Co., 1977. p. 291-314.
20. VLIEGENTHART, J.F.G.; VELDINK, G.A. & BOLDINGH, J. Recent Progress in the Study on the Mechanism of Action of Soybean Lipoyxygenase. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 27(3):623-626. 1979.