

AUTORES
AUTHORS

✉ **Aparecida Sônia de SOUZA**
Flávia Maria NETTO

Departamento de Alimentos e Nutrição,
Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP,
Cx.P. 6121, CEP 13083-970, Cidade Universitária, Campinas, SP, Brasil,
Fone: 0055-19-37884080,
Fax: 0055-19-37884060,
e-mail: sonia@fea.unicamp.br;
flavia@fea.unicamp.br

RESUMO

O presente trabalho objetivou estudar alterações de algumas propriedades estruturais e da solubilidade de isolados protéicos de soja (IPSS) obtidos de grãos irradiados e armazenados. Os IPSS foram produzidos laboratorialmente a partir de grãos não irradiados (controle) e irradiados com fonte de cobalto (2,0 e 5,0 kGy) e com acelerador de elétrons (2,0 kGy), e armazenados por um período de 12 meses. A fluorescência intrínseca dos isolados indicou não ter ocorrido alterações estruturais importantes devido à irradiação ou ao armazenamento. O conteúdo de grupos sulfidrilas livres aumentou com a irradiação, sofrendo poucas alterações ao longo dos 12 meses de armazenamento. Houve aumento da proporção relativa de frações hidrofóbicas, observada por CLAE- fase reversa em todos os isolados após 4 meses de armazenamento dos grãos. Como resultado destas alterações, a solubilidade dos IPSS de grãos irradiados foram superiores aos dos isolados obtidos de grãos não irradiados, apresentando diminuição ao longo do armazenamento.

SUMMARY

The aim of this work was to study changes in some structural properties and in solubility of soy protein isolates (SPIs) obtained from stored irradiated grains. The SPIs were produced in our laboratory from defatted soy flour of unirradiated (control) and irradiated grains with Cobalto-60 radiation source (2.0 and 5.0 kGy) and electron accelerator (2.0 kGy), and stored for 12 months. The intrinsic fluorescence of the isolates showed that no important structural alterations occurred due irradiation or storage. The amount of free sulfhydryl groups enhanced with the irradiation, without further significant changes along the 12 months of storage. There was an increased on the proportion of the hydrophobics fractions, showed by the RP-HPLC profile, for all the isolates after 4 months of storage of the grains. As a result of these alterations, the solubility of the SPIs of irradiated grains was higher than those of the unirradiated grains SPIs, decreasing with the storage time.

PALAVRAS-CHAVE
KEY WORDS

irradiação gama, acelerador de elétrons, isolado
protéico de soja, estocagem, solubilidade.
gamma irradiation; electrons accelerator;
soy protein isolate, storage, solubility.

1. INTRODUÇÃO

A irradiação de alimentos pode ser aplicada em diversos alimentos com diferentes objetivos: esterilização de materiais, retardo do amadurecimento de frutas, descontaminação de especiarias, conservação de carnes, de tubérculos, de grãos e controle de insetos (CDTN, 2005). Essa tecnologia é aprovada em mais de 40 países, para mais de 50 diferentes alimentos, mas ainda é muito pouco difundida (MDS NORDION, 2004). Para a soja, de grande importância econômica para o Brasil, o uso da irradiação tem como objetivo principal a desinfestação de grãos.

Embora a energia da irradiação utilizada em alimentos seja baixa (1 a 10 kGy), os três macronutrientes—proteínas, carboidratos e lipídeos podem ser afetados. Várias pesquisas têm mostrado que ocorrem alterações nas propriedades físico-químicas de proteínas após o uso da irradiação, tanto em soluções diluídas como no estado sólido. As ligações que estabilizam as estruturas secundárias e terciárias de proteínas podem ser destruídas causando mudanças conformacionais (BYUN & KANG, 1994; BYUN et al., 1995; ABU-TARBOUSH, 1998; GROLICHOVÁ et al. 2004). A irradiação tem se mostrado eficiente na redução de oligossacarídeos, inibidores de tripsina e quimotripsina e melhora a produção de leite de soja e tofu (IYER et al., 1980; RAO & VAKIL, 1983; BYUN et al., 1993).

A manutenção da qualidade dos grãos de soja após a colheita depende do local, umidade, temperatura e do tempo de armazenamento. A estocagem favorece mudanças físico-químicas e bioquímicas como: escurecimento de sua superfície, aumento do tempo de hidratação, redução do teor de sólidos e solubilidade protéica, decréscimo no conteúdo de fitatos, conversão estrutural das isoflavonas e oxidação de lipídeos (THOMAS et al., 1989; CAI & CHANG, 1999; HOU & CHANG, 2003; HOU & CHANG, 2004).

O efeito da estocagem ou da irradiação de grãos de soja nas propriedades funcionais e estruturais das proteínas já foram abordados em diversos trabalhos (BYUN & KANG, 1995; ALVAREZ et al., 1996; ABU-TARBOUSH, 1998; LACROIX et al, 2002; HOU & CHANG, 2003; KIM et al., 2003; HOU & CHANG, 2004), no entanto, o efeito da associação desses dois tratamentos ainda não foi estudado. O presente trabalho teve como objetivo investigar o efeito da irradiação em grãos de soja e tempo de armazenamento nas características estruturais e solubilidade de isolados protéicos produzidos a partir desses grãos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Material

Foram utilizados grãos de soja da cultivar Embrapa 48, fornecidos pela "Brejeiro" (Produtos Orlândia S/A, SP, Brasil), da safra do primeiro semestre de 2003.

2.1 Irradiação dos grãos de soja

A irradiação dos grãos de soja foi realizada no

Instituto de Pesquisas Nucleares (IPEN) localizado na cidade de São Paulo (SP, Brasil). Os grãos de soja embalados em sacos de papel foram submetidos à irradiação gama com níveis de 2,0 e 5,0 kGy com fonte de ⁶⁰Cobalto, Gammacell 220 (Atomic Energy of Canada Ltda.). A taxa da dose empregada foi de 4,47 kGy/s. Um terceiro lote foi embalado em sacos plásticos com altura máxima de 7,0 mm e irradiado com dose de 2,0 kGy, utilizando feixe de elétrons, Dynamitron II Electron Beam Acelerador (Radiation Dynamics, Inc., N.Y. USA), com energia de 1,499 MeV. Após a irradiação com feixe de elétrons, os grãos foram transferidos para sacos de papel. Um quarto lote foi utilizado como grupo controle (não irradiado).

2.2 Armazenamento dos grãos de soja

Todos os lotes (tratados com raios gama, feixe de elétrons e o grupo controle) foram armazenados em ambiente sem controle de temperatura e umidade relativa. Medidas da temperatura e umidade relativa do local de armazenamento foram realizadas diariamente e variaram entre 24 a 27°C e 55 a 67%, respectivamente. O armazenamento teve duração de doze meses. A retirada de amostras e avaliação foram feitas a cada quatro meses.

2.3 Obtenção das farinhas e isolados protéicos de soja

As farinhas desengorduradas e os isolados obtidos dos grãos irradiados e controle foram produzidos de acordo com método descrito por PETRUCELLI & ANÓN (1995). Os isolados obtidos de grãos irradiados, não irradiados foram denominados da seguinte forma: IPS-C (obtidos de grãos não irradiados); IPS-2kGy (obtidos de grãos gama irradiados com 2 kGy); IPS-5kGy (obtidos de grãos gama irradiados com 5 kGy); IPS-ACEL (obtidos de grãos irradiados com 2 kGy utilizando-se feixe de elétrons).

Análise dos isolados protéicos de soja (IPSS)

2.4 Composição Centesimal

Teor de umidade, proteína e cinzas foram determinados segundo AOAC (1995) e de lipídeos pelo método BLIGH & DYER (1959).

2.5 Grupos sulfidrila livres

Foram determinados de acordo com a metodologia descrita por BEVERIDGE et al. (1974). Amostras com 100 mg de isolado protéico de soja foram dissolvidos em 10 mL de tampão contendo 0,086 M de Tris-HCl, 0,09 M glicina, 0,004 M de EDTA e 8 M de uréia, pH 8,0. Após completa homogeneização, centrifugou-se a 10000xg por 10 min à temperatura ambiente. O sobrenadante foi filtrado em membrana 0,45 µm da Millipore (Billerica, MA, USA). Trinta µL do reagente de Ellman (4 mg/mL em tampão Tris-HCl- glicina-EDTA, pH 8,0) foi adicionado em 3 mL de alíquota. A absorbância foi lida a 412 nm. Foram realizadas duas extrações e cada extração foi analisada com três repetições.

2.6 Fluorescência Intrínseca

As medidas de fluorescência dos isolados protéicos de

soja (0,5 mg/mL em 0,01 M de tampão fosfato pH 7,4) foram realizadas utilizando-se fluorímetro (Hitachi Instrument Co, modelo F-4500, Tóquio, Japão), segundo metodologia descrita por KALAPATHY et al. (1997). O comprimento de excitação foi de 280 nm e os de emissão na faixa de 300-450 nm. As curvas obtidas foram normalizadas em função das concentrações das proteínas dos isolados, determinadas espectrofotometricamente em 280 nm com $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ de 1,204.

2.7 Cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa (CLAE-FR)

O perfil cromatográfico dos isolados protéicos de soja foi determinado segundo metodologia descrita por OOMAH et al. (1994). Foi utilizado gradiente linear de 20 a 65% de acetonitrila e 0,1% de TFA no tempo de 60 minutos com fluxo de 1,0 mL/min e detecção a 280 nm (0,02 AUFS). O cromatógrafo líquido (modelo 9075, injetor, modelo 9012, detector UV/VIS, modelo 9050) e coluna C18 FR100 (5 m, 4,6 mm X 25,0 cm) utilizados foram todos da Marca Varian (Palo Alto, Califórnia, USA). Foram realizadas duas extrações e cada

extração analisada em duplicata. Os cromatogramas foram divididos em três regiões: região I, de 0 a 8 min de eluição (eluente com 0-20% de acetonitrila e 0,1% TFA); região II, de 8 a 16 min de eluição (eluente com 20-35% de acetonitrila e 0,1% TFA); região III de 16 a 40 min (eluente com 35-65% de acetonitrila e 0,1% TFA).

2.8 Solubilidade

A solubilidade dos isolados protéicos de soja foi determinada em água destilada com pH ajustado para 7,0 de acordo com o método de MORR et al. (1985) e o teor protéico do sobrenadante foi determinado pelo método de KJELDAHL (AOAC, 1995). Foram realizadas duas extrações e cada extração foi analisada com 3 repetições.

2.9 Análise Estatística

As médias foram comparadas por análise de variância e quando diferentes, pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% (COCKRAN & COX, 1957). Utilizou-se o programa STATISTICA para Windows, versão 5.0 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA).

Tabela 1 Composição centesimal aproximada dos isolados protéicos de soja (IPSS).

IPS	Proteína	Lipídeos	Umidade	Cinzas
Tempo de armazenamento 0 meses				
IPS-C	85,03 ± 0,16	2,40 ± 0,24	2,60 ± 0,06	3,13 ± 0,05
IPS-2,0 kGy	85,37 ± 0,75	3,23 ± 0,30	3,37 ± 0,13	2,67 ± 0,05
IPS-5,0 kGy	86,99 ± 0,59	2,26 ± 0,55	3,09 ± 0,12	2,97 ± 0,05
IPS-Acel	84,31 ± 0,45	2,57 ± 0,13	3,93 ± 0,27	3,03 ± 0,05
Tempo de armazenamento 4 meses				
IPS-C	84,07 ± 0,63	2,95 ± 0,46	3,05 ± 0,09	2,84 ± 0,02
IPS-2,0 kGy	82,61 ± 0,50	3,87 ± 0,23	3,31 ± 0,10	2,94 ± 0,02
IPS-5,0 kGy	87,07 ± 0,36	2,67 ± 0,35	4,36 ± 0,14	3,17 ± 0,01
IPS-Acel	88,35 ± 0,71	2,26 ± 0,16	5,99 ± 0,14	3,01 ± 0,02
Tempo de armazenamento 8 meses				
IPS-C	90,55 ± 0,76	1,32 ± 0,17	2,75 ± 0,22	3,51 ± 0,02
IPS-2,0 kGy	88,49 ± 0,56	1,71 ± 0,05	3,48 ± 0,05	3,42 ± 0,01
IPS-5,0 kGy	91,29 ± 0,16	1,66 ± 0,16	2,71 ± 0,04	3,62 ± 0,02
IPS-Acel	95,02 ± 0,01	1,24 ± 0,08	3,49 ± 0,02	3,67 ± 0,02
Tempo de armazenamento 12 meses				
IPS-C	87,71 ± 0,72	1,96 ± 0,28	3,89 ± 0,12	3,56 ± 0,04
IPS-2,0 kGy	96,36 ± 0,34	1,34 ± 0,18	4,47 ± 0,16	3,37 ± 0,04
IPS-5,0 kGy	96,79 ± 0,68	1,29 ± 0,15	5,98 ± 0,16	3,42 ± 0,03
IPS-Acel	96,08 ± 0,54	1,40 ± 0,17	5,67 ± 0,31	3,38 ± 0,01

Média ± desvio-padrão, n=3, em base seca;

Fator de conversão = N x 6,25;

IPS-C= isolado protéico de soja controle; IPS-2 kGy = isolado protéico de soja 2 kGy; IPS-5 kGy = isolado protéico de soja 5 kGy; IPS-Acel = isolado protéico de soja acelerador de elétrons.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal dos isolados protéicos de soja obtidos ao longo do armazenamento encontra-se na Tabela 1. Os teores de proteína encontrados neste trabalho, 82,6 a 96,8%, estão dentro da faixa de valores relatada por HENN & NETTO (1998) e SINGH et al. (1994) para isolados comerciais. O teor de lipídeos (1,3 a 3,9%), foram inferiores aos observados por HENN & NETTO (1998) para isolados comerciais (3,0 a 4,7%). O teor de proteínas, lipídeos, carboidratos e umidade em isolados protéicos dependem de

vários fatores como cultivar, condições físico-químicas dos grãos e principalmente do tipo de processamento utilizado (HOU & CHANG, 1998). Como um mesmo lote de grãos foi utilizado, as variações observadas neste trabalho podem ser resultado de variações no processo bem como de alterações nos componentes dos grãos devido à irradiação e às condições de armazenamento.

Os grupos sulfidrila livres das proteínas são sensíveis à irradiação (GROLICHOVÁ et al. 2004), que pode causar redução das ligações dissulfeto e/ou oxidação dos grupos sulfidrila (SIMIC, 1983). O armazenamento também pode causar a oxidação dos grupos sulfidrila e formação de pontes

Tabela 2 Grupos sulfidrila livres (Mol SH/g proteína) dos isolados protéicos de soja (IPSs).

IPS	Tempo de armazenamento (meses)			
	0	4	8	12
IPS-C	2,69 ± 0,11 ^{bA}	2,95 ± 0,16 ^{bA}	2,94 ± 0,01 ^{bA}	2,80 ± 0,06 ^{bA}
IPS-2,0 kGy	3,24 ± 0,18 ^{aA}	3,40 ± 0,12 ^{aA}	3,00 ± 0,04 ^{bA}	3,29 ± 0,05 ^{aA}
IPS-5,0 kGy	3,52 ± 0,04 ^{aA}	3,30 ± 0,19 ^{aB}	3,93 ± 0,33 ^{aA}	2,99 ± 0,09 ^{bB}
IPS-Acel	3,56 ± 0,38 ^{aB}	3,34 ± 0,20 ^{aBC}	3,90 ± 0,35 ^{aA}	2,97 ± 0,09 ^{bC}

Média ± desvio padrão, n=3.

Letras maiúsculas (linha) e minúsculas (coluna) iguais indicam semelhanças estatísticas entre si (P 0,05).

Tabela 3 Comprimento de onda de emissão máxima (máx.) para os isolados protéicos de soja (IPSs).

IPS	Tempo de armazenamento (meses)			
	0	4	8	12
IPS-C	336,0 ± 0,39 ^{aA}	336,8 ± 0,00 ^{aA}	336,8 ± 0,00 ^{aA}	335,2 ± 0,00 ^{aA}
IPS-2,0 kGy	335,2 ± 0,26 ^{aA}	336,8 ± 0,00 ^{aA}	335,2 ± 0,00 ^{aA}	335,7 ± 0,65 ^{aA}
IPS-5,0 kGy	335,2 ± 0,00 ^{aA}	335,2 ± 0,00 ^{aA}	336,8 ± 0,00 ^{aA}	336,8 ± 2,26 ^{aA}
IPS-Acel	335,2 ± 0,00 ^{aA}	335,2 ± 0,00 ^{aA}	333,6 ± 0,00 ^{aA}	336,0 ± 1,13 ^{aA}

Letras maiúsculas (linha) e minúsculas (coluna) iguais indicam semelhanças estatísticas entre si (P>0,05).

Tabela 4 Intensidade de fluorescência máxima para os isolados protéicos de soja (IPSs).

IPS	Tempo de armazenamento (meses)			
	0	4	8	12
IPS-C	2237 ± 2,12 ^{aA}	1692 ± 0,00 ^{cD}	1846 ± 0,00 ^{cC}	2051 ± 0,00 ^{dB}
IPS-2,0 kGy	1700 ± 4,24 ^{dB}	1696 ± 0,00 ^{bB}	1781 ± 0,00 ^{dC}	1952 ± 0,00 ^{cA}
IPS-5,0 kGy	2096 ± 0,00 ^{cB}	1614 ± 0,00 ^{dD}	1854 ± 0,00 ^{bAC}	2163 ± 0,00 ^{bA}
IPS-Acel	2137 ± 0,00 ^{bB}	1744 ± 0,00 ^{aD}	2095 ± 0,00 ^{aC}	2199 ± 0,00 ^{aA}

Letras maiúsculas (linha) e minúsculas (coluna) iguais indicam semelhanças estatísticas entre si (P>0,05).

dissulfeto (HOSHI et al., 1982). O conteúdo de grupos sulfidrilas livres dos isolados obtidos variou de 2,69 a 3,93 Mol SH/g proteína (Tabela 2). O teor dos grupos SH aumentou em torno de 30% com a irradiação, no entanto, não foram observadas diferenças entre os níveis de irradiação ($p > 0,05$). No decorrer do armazenamento, os teores permaneceram basicamente constantes, com diminuição para os IPs obtidos dos grãos irradiados com 5 kGy e por feixe de elétrons (2 kGy), observada após 12 meses de estocagem. Sob condições de armazenamento mais severas, 84% de umidade relativa e 30°C, HOU & CHANG (2004) observaram decréscimo de 62% (1,82-0,69 Mol SH/ g proteína) dos grupos SH livres da glicina isolada de grãos não irradiados após 7 meses de armazenamento. Umidades relativas mais baixas (57%) durante o armazenamento resultaram em menor diminuição dos teores de SH livres, 16%, após 18 meses de estocagem. Esses valores estão dentro da faixa reportada WAGNER & AÑON (1990), de 0,48 a 5,9 Mol SH/g de proteína para isolados protéicos de soja comerciais.

Na Figura 1 estão apresentados os perfis cromatográficos dos IPs obtidos de grãos tratados e armazenados por diferentes períodos. Não foram observadas diferenças entre os cromatogramas do tempo zero, indicando que o nível e tipo de irradiação não causaram modificações no perfil de hidrofobicidade das proteínas. Após 4 meses de armazenamento, no entanto, observou-se, para todos os tratamentos, diminuição do número e da altura dos picos da região I, mais hidrofílica, concomitante ao aumento da altura dos picos na região III, mais hidrofóbica. Aos oito e doze meses de armazenamento não foram observadas alterações importantes no perfil dos isolados, mantendo-se as características observadas aos quatro meses. Como os isolados não foram totalmente solubilizados no eluente, estes resultados sugerem que houve formação de agregados insolúveis, formados principalmente pelas frações mais hidrofílicas.

Os espectros de fluorescência intrínseca, comprimento de onda de emissão máxima e intensidade de fluorescência dos isolados protéicos obtidos dos grãos irradiados e armazenados estão apresentados na Figura 2 e Tabelas 3 e 4.

Não houve deslocamento da emissão máxima dos espectros de fluorescência, independentemente do nível, tipo de irradiação e tempo de armazenamento. No tempo zero de armazenamento, a intensidade de fluorescência do IPS-2kGy foi menor que a dos demais isolados. A intensidade de fluorescência, de forma geral, mostrou pequeno decréscimo após 4 e 8 meses de armazenamento, voltando aos 12 meses, a apresentar valores próximos aos obtidos no início da estocagem. Os resultados encontrados sugerem que não ocorreram alterações importantes na estrutura molecular das proteínas da soja, seja devido ao tratamento de irradiação ou ao armazenamento. BYUN & KANG (1994) não observaram alterações nos espectros de emissão máxima das proteínas de grãos soja irradiados com doses de 0 a 10 kGy; a diminuição da intensidade de fluorescência foi observada apenas com doses de irradiação de 20 kGy. Segundo os autores, esta diminuição pode ser resultado do rompimento de pontes de hidrogênio e quebra de ligações dissulfídicas, entre outras reações, provocadas por altas doses de irradiação.

Os resultados da solubilidade protéica dos isolados obtidos de grãos irradiados e não irradiados estão apresentados na Figura 3. No tempo zero, a solubilidade dos IPs obtidos de grãos irradiados aumentou em função da dose de irradiação utilizada, variando de 87%, para o IPS-C, a 99%, para o IPS-5kGy. Comportamento semelhante foi observado por DOGBEVI et al. (2000), enquanto HAFEZ et al. (1985) relataram que irradiação de grãos de soja, nos níveis de 1,0 a 10 kGy, não afetou a solubilidade das proteínas. O aumento da solubilidade das proteínas dos isolados dos grãos irradiados pode estar relacionado ao aumento dos grupos sulfidrilas livres e/ou à desamidação dos aminoácidos glutamina e asparagina, induzida pela irradiação, aumentando as cargas negativas (DOGBEVI et al. 2000). BYUN & KANG (1995) e HAFEZ et al. (1985) reportaram que somente doses mais elevadas, de 10 a 100 kGy, resultaram na diminuição da solubilidade das proteínas de soja. Segundo esses autores, a diminuição da solubilidade é resultado da desnaturação parcial e do rompimento da estrutura secundária das proteínas.

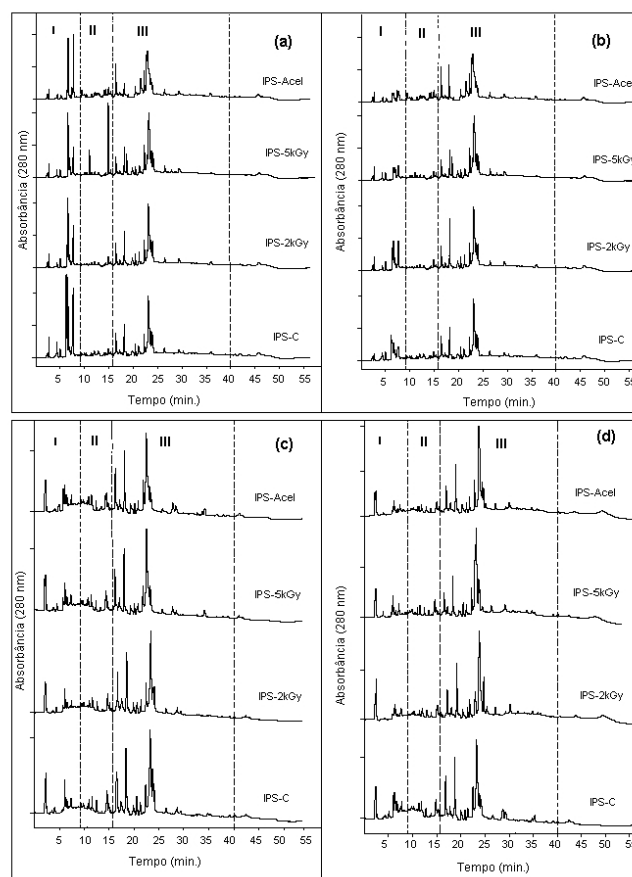


Figura 1. Cromatogramas de CLAE-FR dos IPs obtidos de grãos irradiados, não irradiados correspondentes aos (a) zero meses; (b) quatro meses; (c) oito meses e (d) doze meses de armazenamento. IPSC= isolado protéico de soja controle; IPS-2kGy = isolado protéico de soja 2 kGy; IPS-5kGy = isolado protéico de soja 5 kGy; IPS-Acel = isolado protéico de soja acelerador de elétrons. Condições cromatográficas: Coluna C18 FR100 (Varian); gradiente linear de 20 a 65% de acetonitrila e 0,1% de TFA; tempo de 60 minutos; fluxo de 1,0 mL/min; detecção a 280 nm (0,02 AUFS).

A solubilidade dos IPSs obtidos de grãos irradiados diminuiu ao longo do armazenamento, apresentando solubilidades iguais ($p > 0,05$) após 12 meses de armazenamento. O IPS-C, ao contrário, apresentou aumento de solubilidade no decorrer dos oito primeiros meses de armazenamento (95,82 a 96,50%), atingindo valores próximos aos obtidos de grãos irradiados, diminuindo aos 12 meses de armazenamento (84,70%).

Segundo DAMODARAN (1997), a solubilidade de uma proteína é a manifestação termodinâmica do equilíbrio entre a interação proteína-proteína e proteína-solvente e está relacionada a seu balanço de hidrofobicidade/hidrofobicidade de sua superfície, sendo solúveis em água quando as forças eletrostáticas repulsivas são maiores que as interações hidrofóbicas atrativas. No tempo zero, a irradiação provocou pequenas alterações estruturais, possivelmente resultado da quebra de ligações dissulfeto e desamidação, que favoreceram a solubilidade. No decorrer do armazenamento, estas

alterações propiciaram a formação de agregados, por pontes de hidrogênio e/ou interações hidrofóbicas, diminuindo, então, a solubilidade. Por outro lado, o aumento da solubilidade das proteínas dos grãos não irradiados ao longo do armazenamento pode ser resultado das modificações estruturais que ocorreram mais lentamente, não envolvendo ligações dissulfeto, que em tempo superior a 8 meses, levaram à formação de agregados, diminuindo a solubilidade. VISSER & THOMAS (1987) também relataram diminuição da solubilidade das proteínas de grãos de soja não irradiados durante o armazenamento. Segundo estes autores, esta diminuição deve-se à formação de agregados insolúveis por pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e também por pontes dissulfídicas, que não foram observadas no presente trabalho.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que o uso da irradiação gama, com intensidade de até 5 kGy, e de feixe de elétrons, com 2 kGy, nos grãos de soja originou isolados protéicos com maior solubilidade do que o

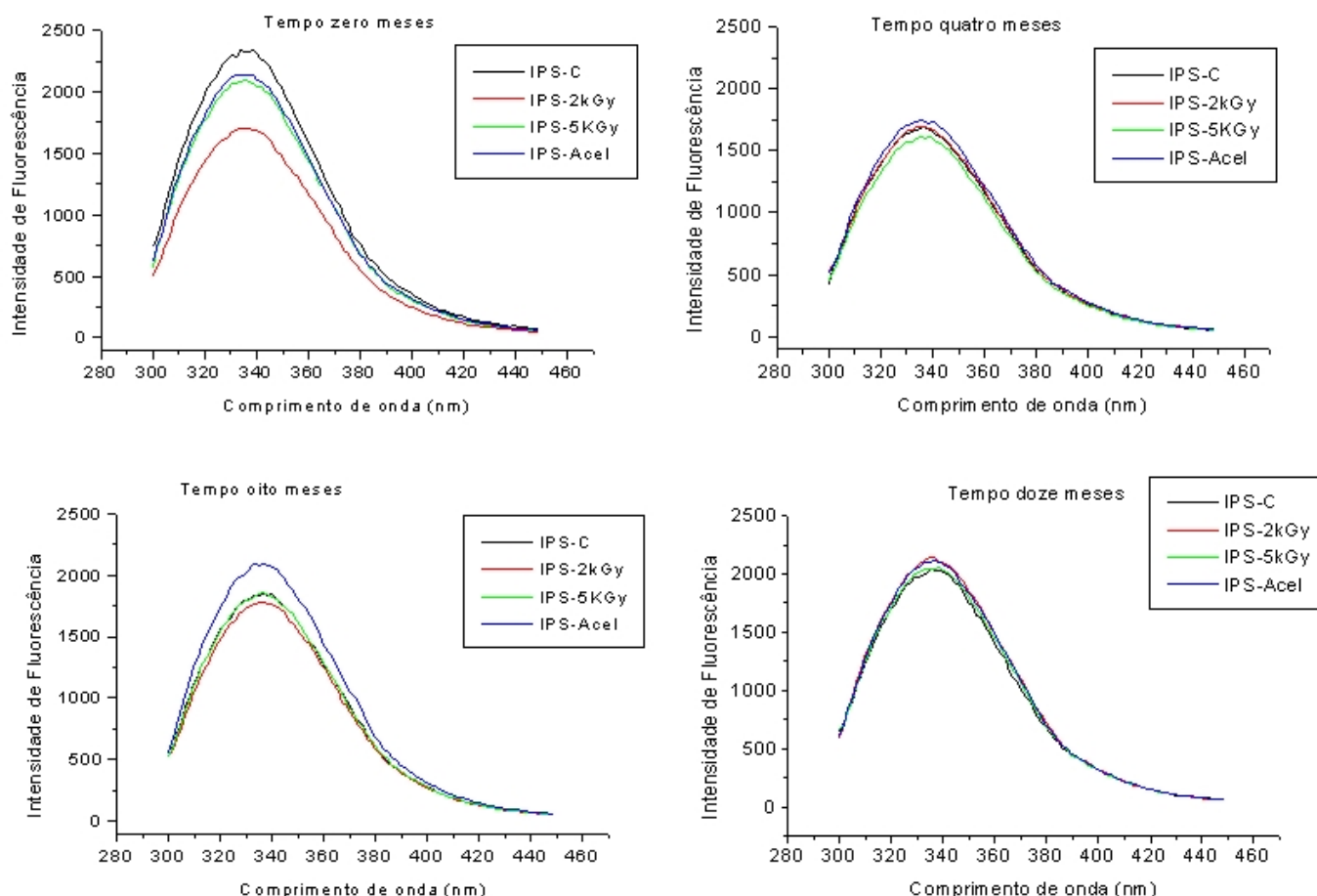


Figura 2. Espectros de fluorescência intrínseca dos IPSs obtidos de grãos irradiados e não irradiados correspondentes aos tempos zero, quatro, oito e doze meses de armazenamento. IPSC= isolado protéico de soja controle; IPS-2kGy = isolado protéico de soja 2kGy; IPS-5kGy = isolado protéico de soja 5kGy; IPS-Acel = isolado protéico de soja acelerador de elétrons.

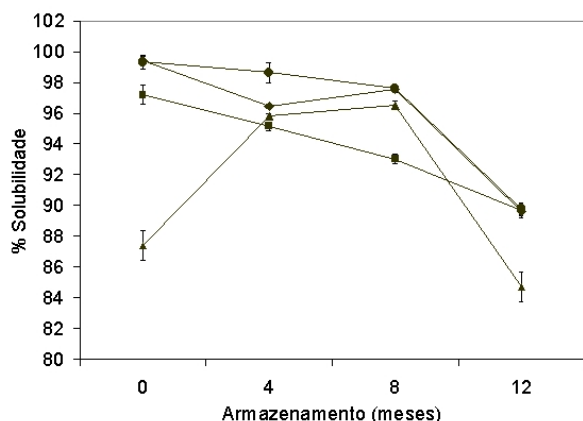


Figura 3. Solubilidade dos isolados protéicos de soja (IPSS) obtidos de grãos irradiados e não irradiados: (▲) IPS-C = isolado protéico de soja controle, (●) IPS-2kGy = isolado protéico de soja 2 kGy, (◆) IPS-5kGy = isolado protéico de soja 5 kGy, (■) IPS-Acel = isolado protéico de soja acelerador de elétrons.

obtido de grãos não irradiados, possivelmente devido à quebra de pontes dissulfeto, de hidrogênio, ou ainda reações de desamidação, devido à irradiação. A solubilidade dos isolados obtidos de grãos irradiados diminuiu durante o armazenamento, devido à formação de agregados por interações hidrofóbicas e/ou pontes de hidrogênio, sem envolvimento de pontes dissulfeto.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC-ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 16th ed. V. 1. Arlington: AOAC International, 1995. 1141p.

ABU-TARBOUSH, H. M. Irradiation inactivation of some antinutritional factors in plant seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, n. 7, p. 2698-2702, 1998.

ALVAREZ, M., PRIETO, E., MESA, J., FRAGA, R., FUNG, V. Desinfestación del fríjol de soja por irradiación. *Alimentaria*, v. 34, n. 276, p. 39-41, 1996.

BEVERIDGE, T., TOMA, S. J., NAKAI, S. Determination of SH- and SS-groups in some food proteins using Ellman's reagent. *Journal of Food Science*, v. 39, n. 1, p. 49-51, 1974.

BLIGH, E. G., DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BYUN, M. W., KWON, J. H., MORI, T. Improvement of physical properties of soybean by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 42, n. 1-3, p. 313-317, 1993.

BYUN, M. W., KANG, IL-JUN. Effect of gamma irradiation on soya bean proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 66, n. 1, p. 55-60, 1994.

BYUN, M. W., KANG, IL-JUN. Properties of soya milk and tofu prepared with gamma irradiated soya beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 67, n. 4, p. 477-483, 1995.

CAI, T., CHANG, K. C. Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 47, n. 2, p. 720-727, 1999.

CDTN - Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear. CDTN, FUNED e UFMG pesquisam irradiação de alimentos. 2005. Disponível em <<http://www.cdtm.br>> Acesso em: 01 Abril 2005.

COCKRAN, W. G., COX, G. M. Experimental design. 2 ed. New York: John Wiley, 1957. 611 p.

DAMODARAN, S. Food proteins: An overview. In: DAMODARAN, S., PARAF, A. (Ed). Food proteins and their applications. New York: Marcel Dekker, 1997, p. 1-24.

DOGBEVI, M. K., VACHON, C., LACROIX, M. Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and on the functional properties of proteins in dry red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *Radiation Physics and Chemistry*, v. 57, n. 3-6, p. 265-268, 2000.

GROLICHOVÁ, M., DVORAK, P., MUSILOVA, H. Employing ionizing radiation to enhance food safety- a Review. *Acta Veterinaria Brunensis*. v. 73, n. 1, p. 143-149, 2004.

HAFEZ, Y. S., MOHAMED, A. I., SINGH, G., HEWEDY, F. M. Effect of gamma irradiation on protein and fatty acids of soybean. *Journal of Food Science*, v. 50, n. 2, p. 1271-1274, 1985.

HENN, R. L., NETTO, F. M. Biochemical characterization and enzymatic hydrolysis of different commercial soybean protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, n. 8, p. 3009-3015, 1998.

HOSHI, Y., YAMAUCHI, F., SHIBASAKI, K. Effects of relative humidity on aggregation of soybean 7S and 11S globulins. *Agricultural and Biological Chemistry*, v. 46, n. 6, p. 1513-1517, 1982.

HOU, H. J., CHANG, K. C. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, n. 12, p. 4798-4805, 1998.

HOU, H. J., CHANG, K. C. Yield and textural properties of tofu as affected by the changes of phytate content during soybean storage. *Journal of Food Science*, v. 68, n. 4, p. 1185-1191, 2003.

HOU, D. H. J., CHANG, K. C. Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 12, p. 3792-3800, 2004.

IYER, V., SALUNKHE, D. K., SATE, S. K., ROCKLAND, L. B. Quick-cooking beans (*Phaseolus Vulgaris* L.) investigations on quality. *Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition*, v. 30, n. 1, p. 27-43, 1980.

KALAPATHY, U., HETTIARACHCHY, N. S., RHEE, K. C. Effect of drying methods on molecular properties and

functionalities of disulfide bond-cleaved soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 74, n. 3, p. 195-199, 1997.

KIM, J. H., AHN, H. J., KIM, D. H., JO, C., YOOK, H. S., PARK, H. J., BYUN, M. W. Irradiation effects on biogenic amines in korean fermented soybean paste during fermentation. *Journal of Food Science*, v. 68, n. 1, p. 80-84, 2003.

LACROIX, M., LE, T. C., QUATTARA, B., YU, H., LETENDRE, M., SABATO, S. F., MATEESCU, M. A., PATTERSON, G. Use of gamma irradiation to produce films from whey, casein and soya proteins: structure and functionals characteristics. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 63, n. 3-6, p. 827-832, 2002.

MDS NORDION. History of food irradiation. 2004. Disponível em: <<http://www.mds.nordion.com>> Acesso em 20 de out. 2004.

MORR, C. V., GERMAN, B., KINSELLA, J. E., REGENSTEINS, J. M., VAN BUREN, J. M., KILARA, A., LEWIS, B. A., MANGINO, M. E., A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *Journal of Food Science*, v. 50, n. 6, p. 1715-1718, 1985.

OOMAH, B. D., VOLDENG, H., FREGEAU-REID, J. A. Characterization of soybean proteins by HPLC. *Plants Foods for Human Nutrition*, v. 45, n. 3, p. 251-263, 1994.

PETRUCCELLI, S., ANÓN, M. C. Thermal aggregation of soy protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 43, n. 12, p. 3035-3041, 1995.

RAO, V. S., VAKIL, V. K. Effects of gamma irradiation on flatulence-causing oligosaccharides in green grown (*phaseolus aureus*). *Journal of Food Science*, v. 48, n.6, p. 1791-1795, 1983.

SIMIC, M. G. Radiation chemistry of water-soluble food components. In: JOSEPHSON, E. S., PETERSON, M.S. (Ed). *Preservation of food by ionizing radiation*. Boca Raton: CRC Press (Ed.), 1983, v. 2, p. 2-70.

SINGH, M., SINGH, D., CHAUHAN, G. S. Effects of defatting, coagulants and coagulation pHs on soy protein isolates. *Journal of Food Science and Technology*, v. 31, n. 6, p.117-121, 1994.

THOMAS, R., MAN, J. M., MAN, L. Soybean and Tofu properties as influenced by soybean storage conditions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 66, n. 6, p. 777-782, 1989.

VISSER, A., THOMAS, A. Review: soya protein products-their processing, functionality and application aspects. *Food Review International*. v. 3, n. 1, p.1-32, 1987.

WAGNER, J. R., ANÓN, M. C. Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolates. *Journal of Food Science*, v. 55, n. 3, p. 765-770, 1990.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de doutorado (Processo nº141821/2001-9).