

# CONSTITUINTES ANTINUTRICIONAIS E SEUS EFEITOS INDESEJÁVEIS NA ALIMENTAÇÃO

IVONE YURIKA MIZUBUTI<sup>1</sup>  
ELZA IOUKO IDA<sup>2</sup>

MIZUBUTI, I. Y.; IDA, E. I. Constituintes antinutricionais e seus efeitos indesejáveis na alimentação. *Semina: Ci. Agr.*, Londrina, v. 20, n. 1, p. 107-112, mar. 1999.

**RESUMO:** Esta revisão de literatura teve como objetivo mostrar as características químicas e os efeitos indesejáveis de alguns constituintes antinutricionais contidos nos grãos vegetais usualmente utilizados na alimentação humana e animal.

**PALAVRAS-CHAVE:** alimentação, características químicas, constituintes anti-nutricionais, efeitos indesejáveis.

## 1. INTRODUÇÃO

Os grãos vegetais, sobretudo os de leguminosas, são reconhecidamente boas fontes de proteínas, minerais e vitaminas, ocupando lugar de destaque na alimentação humana e animal em muitos países em desenvolvimento.

A biodisponibilidade de nutrientes dos grãos vegetais depende do grau de liberação destes nutrientes "in vivo", para poderem ser absorvidos e utilizados. Em geral, o pâncreas é o principal responsável pela produção da maioria das enzimas requeridas para o processo digestivo e subsequente disponibilidade de nutrientes.

Entretanto, sabe-se que a maioria das leguminosas possuem capacidade de sintetizar determinadas substâncias biologicamente ativas comumente consideradas como constituintes antinutricionais, mostrando efeitos indesejáveis na nutrição humana e animal. Dentre esses constituintes, estão os inibidores de proteases, os inibidores de amilases, as fitohemaglutininas, os polifenóis e outros.

Esta revisão de literatura fornece algumas informações sobre as características químicas e os efeitos indesejáveis desses compostos.

## 2. INIBIDORES DE PROTEASES

Os inibidores de proteases afetam o valor nutritivo e a digestibilidade de muitas proteínas de origem vegetal, particularmente aquelas derivadas de leguminosas, a menos que sejam cozidas ou submetidas a outra forma de tratamento térmico. Esse efeito benéfico de cozimento tem sido geralmente atribuído à destruição de uma classe única de proteínas denominadas inibidores de proteases, que possuem a capacidade de se combinar no trato intestinal de humanos e animais, de maneira específica com as enzimas tripsina e quimotripsina (Gatehouse, 1984;

Ologhobo & Fetuga, 1984; Kadam et al., 1987; Singh, 1988; Ogun et al., 1989; Herkelman et al., 1991; Herkelman et al., 1992; Bressani, 1993; Helkerman et al., 1993; Liener, 1994; Kingsley, 1995).

Os inibidores de proteases, são comumente denominados de inibidores de tripsina e inibidores de quimotripsina e tem sido objeto de muitos estudos em diferentes grãos de leguminosas.

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) foi a primeira leguminosa que apresentou atividade inibitória de proteases. Contém cerca de cinco inibidores de proteases, porém, somente os inibidores de Kunitz e os inibidores de Bowman-Birk foram purificados e caracterizados. Foram encontrados em proporções de 1,4% e 0,6%, respectivamente, na farinha de soja (Gatehouse, 1984; Weder, 1985; Snyder & Kwon, 1987).

O inibidor de Kunitz combina-se em uma ligação estequiométrica onde 1 mol do inibidor inativa 1 mol de tripsina. A reação é instantânea e possui habilidades de inibir a tripsina de várias fontes incluindo a de bovinos, suínos, salmão e patos e suas atividades foram inativadas "in vitro" por tratamento ácido ou com pepsina (Gatehouse, 1984; Weder, 1985; Grant, 1989; Liener, 1994).

O inibidor de Bowman-Birk possui sítios ativos independentes para tripsina e quimotripsina e ao contrário do inibidor de Kunitz, inibe fortemente a quimotripsina (Liener, 1994).

Ambos os inibidores são parcialmente resistentes à degradação proteolítica "in vivo", podendo ser encontrados no lúmen do intestino delgado e nos enterócitos de animais jovens. Grant (1989) relatou ainda que ambos inibidores, prejudicavam o crescimento de ratos, camundongos e aves jovens, além de provocarem aumento do peso do pâncreas devido à hipertrofia e hiperplasia das células do ducto acinar e excretório. Nos gansos e porquinhos, aumenta o peso do fígado e na maioria das espécies, afetam a reprodução. Afetam muito pouco os animais adultos, sobretudo bovinos e suínos.

<sup>1</sup> Departamento de Zootecnia/CCA, Universidade Estadual de Londrina. Cx. Postal 6001, Londrina, Pr. CEP 86051-990.

<sup>2</sup> Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos/CCA, Universidade Estadual de Londrina. Cx. Postal 6001, Londrina, Pr. CEP 86051-990.

Muitos estudos tem sido conduzido, investigando as atividades dos inibidores de proteases em soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (Pearson, 1983; Struthers & Macdonald, 1983; Gatehouse 1984; Weder, 1985; Dipietro & Liener, 1989; Grant, 1989; Liu & Markakis, 1989; Wu & Whitaker, 1991; Herkelman et al., 1991; Herkelman et al., 1992; Herkelman et al., 1993; Liener, 1994); cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (Gatehouse, 1984; Ologhobo & Fetuga, 1984; OGUN et al., 1989), winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) (Lumen & Salamat, 1980; Gatehouse, 1984; Kotaru et al., 1987; KADAM et al., 1987); grão de bico (*Cicer arietinum* L.) (Singh & Jambunathan, 1981; Singh, 1988); *Phaseolus vulgaris* (Sathe et al., 1984; Nielsen & Liener, 1988) e feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) (Tawde, 1961; Singh, 1988; Godbole et al., 1994a; Godbole et al., 1994b; Godbole et al., 1994c).

Godbole et al. (1994a) purificaram e caracterizaram os inibidores de proteases das sementes de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). Estes consistiram principalmente de dois inibidores os quais foram específicos para proteases-serina de mamíferos. As duas frações de inibidores purificadas foram denominadas de inibidor de tripsina-quimotripsina cajanus (CTCI) e inibidor de tripsina cajanus (CTI). Ambos CTCI e CTI foram estáveis à 80°C por 15 minutos. À temperatura de 100°C, após 15 minutos, apresentaram cerca de 80% de atividade residual quando comparados às amostras não tratadas. CTCI se caracterizou por possuir peso molecular médio de 15.000 daltons e dois sítios ativos para tripsina e somente um sítio ativo para inibição da quimotripsina. CTI apresentou peso molecular de 10.500 daltons e apenas um sítio ativo para tripsina. Entretanto, existem poucos estudos sobre os efeitos indesejáveis dos inibidores de proteases do feijão guandu.

Verifica-se pela literatura que os inibidores de proteases melhores estudados são aqueles contidos na soja (*Glycine max* (L.) merrill).

### 3. INIBIDORES DE $\alpha$ -AMILASE

Proteínas inibidoras de  $\alpha$ -amilase (1,4-alfa-D-glucano glucanohidrolase, EC 3. 2. 1. 1) são amplamente distribuídas no reino vegetal e algumas delas tem sido estudadas detalhadamente com relação à sua estrutura, propriedades físico-químico e mecanismo de ação (Buonocore & Silano, 1986). Em geral, os inibidores de  $\alpha$ -amilase possuem natureza protéica ou glicoprotéica e foram detectadas em numerosos cereais, leguminosas, tubérculos e outras plantas (Silano, 1987).

A maioria dos inibidores detectados em vegetais apresentaram atividade contra amilases de mamíferos e insetos e pouca ou nenhuma atividade sobre as amilases endógenas do próprio vegetal (Buonocore & Silano, 1986). De maneira geral, as proteínas inibidoras de  $\alpha$ -amilases provocam diminuição da taxa de hidrólise do amido no intestino delgado, provocando baixa

absorção de glicose e possivelmente causando alguns distúrbios metabólicos (Macri et al., 1977; Singh et al., 1982; Gallaher & Schneeman, 1986).

A extensão de inibição da amilase pela proteína inibidora depende de numerosas variáveis externas como: pH, temperatura, força iônica, tempo de pré-incubação enzima-inibidor, ordem de adição dos reagentes e concentração do inibidor. O pH ótimo para inibição geralmente varia de 5,5 a 7,5 e a inibição aumenta com a temperatura até atingir 30 - 40°C (Buonocore & Silano, 1986). Os inibidores de  $\alpha$ -amilase purificados, em geral, são relativamente estáveis ao calor e tratamentos em pH extremos. Ainda, são resistentes ao ataque por tripsina e quimotripsina, porém, pouco resistente à pepsina (Silano, 1987).

Devido à termoestabilidade, os inibidores de  $\alpha$ -amilase tendem a persistir, mesmo após os tratamentos térmicos como cozimento.

Numerosos trabalhos tem sido realizados com leguminosas visando a purificação e caracterização dos inibidores de  $\alpha$ -amilases de diferentes procedências, além de estudar as suas propriedades físico-químicas e seus efeitos antinutricionais (Jaffé et al., 1973; Marshall & Lauda, 1975; Powers & Whitaker, 1977; Granum, 1979; Powers & Culbertson, 1983; Carlson et al., 1983; Frels & Rupnow, 1984; Lajolo et al., 1984; Lajolo & Finardi Filho, 1984; Wilcox & Whitaker, 1984a; Wilcox & Whitaker, 1984b; Frels & Rupnow, 1985; Lajolo & Finardi Filho, 1985; Tanizaki et al., 1985; Tanizaki & Lajolo, 1985; Udupa et al., 1989; Mulimani et al., 1994; Grant et al., 1995). Jaffe et al. (1973) determinaram a atividade inibidora de  $\alpha$ -amilase (saliva humana) em diferentes leguminosas e encontraram para feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp), 22 a 45 unidades inibidoras/g de amostra. SINGH (1988) descreveu sobre alguns fatores antinutricionais do feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) e relatou valores de 22,5 a 34,2 unidades inibidores de  $\alpha$ -amilase contra saliva humana/g de amostra, considerando-os baixos quando comparados com outras leguminosas.

### 4. LECTINAS OU FITOHEMAGLUTININAS

Lectinas são definidas como proteínas que possuem afinidade específica por certas moléculas de açúcares e são capazes de aglutinar eritrócitos de sangue humano e animal. São denominados também de hemaglutininas ou fitohemaglutininas (GATEHOUSE, 1984).

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) contém no mínimo quatro proteínas capazes de aglutinar "in vitro" as células vermelhas do sangue de ratos e coelhos. A farinha de soja contém cerca de 3% de hemaglutininas das quais a maior fração foi isolada e caracterizada. Trata-se de uma glicoproteína com peso molecular de 120.000 daltons, sendo um tetrâmero composto de subunidades idênticas e com dois sítios de ligação N-acetil-D-galactosamina por molécula (Liener, 1994).

"In vitro", a lectina é rapidamente inativada com pepsina e tem sido considerada que grande quantidade

é destruída durante a passagem através do estômago. Porém, estudos indicaram que quantidades significativas resistiram à destruição durante a passagem através do intestino delgado, podendo ser retirados pelos enterócitos e liberados para a lâmina própria, atingindo a circulação sistêmica e levando à formação de anticorpos da classe anti-lectinas IgG no soro (Grant, 1989).

Em ratos, a inclusão de lectinas purificadas de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), na dieta, causaram inibição do crescimento, disfunção e hiperplasia no epitélio do intestino delgado proximal, hipertrofia pancreática, alteração do metabolismo hepático e potencialização da ação de carcinógeno, favorecendo as neoplasias pancreáticas. Em leitões e frangos de corte jovens, as lectinas causaram uma redução do peso de alguns músculos, levando à discondroplasia tibial (Gatehouse, 1984; Grant, 1989; Liener, 1994).

Outros estudos sobre lectinas de diferentes grãos de leguminosas foram realizadas em cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (Ologhobo & Fetuga, 1984); faba bean (*Vicia faba* L.) (Sharma & Sehgal, 1992); lab lab purpureus (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) (Leopoldo et al., 1994); *Phaseolus vulgaris* (Jaffe & Gomez, 1975; Bender, 1983; Nielsen & Liener, 1988; Almeida et al., 1991), lentilhas (*Lens esculentus*) (Bender, 1983) e feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) (Singh, 1988).

Singh (1988) descreveu na sua revisão de literatura sobre os fatores antinutricionais (inibidores de proteases, inibidores de alfa amilase, fitohemaglutininas, polifenóis e oligosacarídeos da família rafinose) de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) e citou teores de fitohemaglutinina na ordem de 400 unidades/grama de amostra, sugerindo que esta quantidade é baixa quando comparada àquelas apresentadas por cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) e soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (800 unidades/grama de amostra). Além disso a atividade hemaglutinante do feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) foi completamente destruída, sob autoclavagem do grão a 121°C por 30 minutos.

## 5. TANINO

Tanino são compostos polifenólicos solúveis em água que ocorrem naturalmente nos vegetais e que combinam com proteínas e outros polímeros como a celulose, hemicelulose e pectina para formar complexos estáveis (Mangan, 1988). São usualmente divididos em taninos hidrolisáveis e condensados. Os taninos hidrolisáveis tem um carboidrato central cujo grupo hidroxil é esterificado para ácido carboxílico fenólico, tais como: ácido gálico, ácido elágico e ácido hexahidroxidifenil. A combinação dos dois primeiros ácidos foi denominado de galotanino enquanto que a combinação com o último foi denominado de elagitanino. O tanino condensado, é principalmente, um produto polimerizado de flavan-3-ol (catequina) e flavan-3, 4-diol ou a mistura destes, sendo referidos como flavolans de procianidina (Deshpande et al., 1986; Mangan, 1988; Jansman, 1993).

Os efeitos nutricionais negativos dos taninos foram descritos como diversos e não foram bem compreendidos, porém o maior efeito parece estar, na depressão do crescimento pela diminuição da digestibilidade da proteína e carboidratos em função da interação de taninos com proteínas ou amido, para formar substratos enzima-resistente. Outros efeitos antinutricionais foram atribuídos ao tanino, como os efeitos deletérios sobre a mucosa intestinal, interferindo na absorção de ferro, glicose e vitamina B12 (Griffiths, 1985; Liener, 1994).

Os taninos em leguminosas e grãos de cereais (sorgo) tem sido determinado por vários métodos e expressos em geral como catequina ou equivalentes em ácido tânico (Burns, 1971; Maxson & Rooney, 1972; Price et al., 1978; Reddy et al., 1985; Deshpande & Cheryan, 1987; Jansman, 1993).

O conteúdo de tanino de diferentes leguminosas e seus efeitos antinutricionais foram investigados por Elias et al., 1979; Lumen & Salamat, 1980; Price et al., 1980; Singh & Jambunathan, 1981; Narasinga Rao & Prabhavathi, 1982; Ologhobo & Fetuga, 1984; Singh, 1984; Ekpenyong, 1985; Marks et al., 1987; Singh, 1988; laderoza et al., 1989; Jansman, 1993; Kingsley, 1995.

Além disso, outros pesquisadores estudaram diferentes formas de remoção de taninos dos grãos secos de leguminosas, tais como: remoção física do tanino por moagem e separação da casca (uma vez que os taninos se localizam principalmente na casca), hidratação, cozimento, germinação, cruzamento entre plantas, adição de agentes que complexam com o tanino na dieta, adição de agentes que auxiliam na detoxificação de taninos e tratamento químico do alimento (Reddy et al., 1985).

## 6. ÁCIDO FÍTICO

O ácido fítico ou mioinositol 1, 2, 3, 4, 5, 6-hexadihidrogênio fosfato, é fonte de armazenamento primário de fosfatos e inositóis, sendo que nas leguminosas, cerca de 60 a 80% do fósforo estão presentes na forma de ácido fítico, complexado com sais minerais ou proteínas (Harland & Oberleas, 1977).

A estrutura dos fitatos na semente não está bem definida, sendo que alguns pesquisadores sugerem o fitato de sódio  $C_6H_8O_{23}Na_{12} \cdot 3H_2O$ , com peso molecular aproximado de 978 daltons. Outros sugerem o sal de ácido fítico de Ca, Mg ou K (fitina). No grão, o ácido fítico está contido de 10 a 20% a mais, no pericarpo e embrião, do que no endosperma.

Os ácidos fíticos interferem com a disponibilidade de minerais, pois além de interagirem com os resíduos básicos de proteína, também interagem com os minerais, como  $Ca^{++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ,  $Mg^{++}$  e  $Cu^{++}$ , tornando-os biologicamente indisponíveis para absorção. O mecanismo pelo qual isso ocorre não está bem esclarecido (Liener, 1994). Quando interagem com as proteínas, reduzem a solubilidade e afetam as suas propriedades funcionais, além de reduzirem o valor

nutricional do produto, pela redução da digestão enzimática da proteína, pois em consequência dessa ligação não seletiva das proteínas, levam os fitatos a inibirem a ação das enzimas digestivas: pepsina, tripsina e  $\alpha$ -amilase (Jaffé, 1981; Liener, 1994). Devido a interação que pode ocorrer com o ferro, o ácido fítico tem sido aplicado como agente inibidor de oxidação de lipídeo (Zhou & Erdman Jr., 1995).

O fitato-fósforo é utilizado diferentemente conforme as espécies. Os bovinos e ovinos hidrolizam todos os ácidos fíticos. Os monogástricos (aves, suínos e humanos) possuem baixa eficiência de utilização (2 - 10%), pois não possuem a enzima fitase (Salunkhe et al., 1985).

Os grãos de leguminosas contém de 0,28% a 2,0% de ácido fítico e os valores para *Phaseolus vulgaris* variam de 0,74 a 2,10% (Bressani, 1993). Alguns estudos foram realizados para determinar os teores de ácido fítico em diferentes leguminosas tais como: cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (Ologhobo & Fetuga, 1984); grãos de African oil bean (*Pentaclethra macrophylla* Benth) (Kingsley, 1995); winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) (Kotaru et al.,

1987; Kadam et al., 1987); soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (Thompson & Erdman, 1982) e faba bean (*Vicia faba* L.) (Sharma & Sehgal, 1992), encontrando os seguintes valores médios: 310 mg/100 g de amostra; 11,2 g/kg amostra; 6,15 a 12,26 mg/g de amostra; 1,40% e 980 mg/100 g de amostra, respectivamente.

## 7. CONCLUSÕES

Os constituintes antinutricionais estão presentes na maioria dos grãos de leguminosas e quando fornecidos aos animais, sobretudo jovens, provocam efeitos indesejáveis como inibição do crescimento e interferência no metabolismo intestinal e sistêmico. Esses constituintes, em geral, agem sozinhos ou sob efeito aditivo ou sinérgico.

Do ponto de vista prático, os efeitos deletérios, que se devem principalmente aos compostos termolábeis, são reduzidos ou destruídos pelo tratamento térmico apropriado. Contudo, há necessidade de maiores estudos com relação às leguminosas cujos constituintes antinutricionais são termorresistentes.

MIZUBUTI, I. Y.; IDA, E. I. Antinutritional constituents and their deleterious effects in feeding. *Semina: Ci. Agr.*, Londrina, v. 20, n. 1, p. 107-112, mar. 1999.

**ABSTRACT:** This literature review has the purpose to show the chemical characteristics and deleterious effects of some antinutritional constituents contained in legume grains used in human and animal feeding.

**KEY WORDS:** antinutritional constituents, chemical characteristics, deleterious effects, feeding.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, N.G.; BARCA, A.M.C.; VALENCIA, M.E. Effect of different heat treatments on the antinutritional activity of *Phaseolus vulgaris* (Variety Ojo de cabra) lectin. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v.39, p.1627-1630, 1991.
- BENDER, A.E. Haemagglutinins (lectins) in beans. *Food Chemistry*, Barking, n.11, p.309-320, 1983.
- BRESSANI, R. Grain quality of common beans. *Food Reviews International*, v.9, n.2, p.237-297, 1993.
- BUONOCORE, V.; SILANO, V. Biochemical, nutritional and toxicological aspects of alpha-amylase inhibitors from plant foods. *Advances in experimental Medicine and Biology*, v.199, p.483-507, 1986.
- BURNS, R.E. Method for estimation of tannin in grain sorghum. *Agronomy Journal*, Madison, v.63, p.511-512, 1971.
- CARLSON, G.L.; LI, U.K.; BASS, P.; OLSEN, W.A. A bean  $\alpha$ -amylase inhibitor formulation (starch blocker) is ineffective in man. *Science*, v.219, p.393-394, 1983.
- DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D.K. Tannin analysis of food products. *CRC Critical review in food Science and Nutrition*, Boca Raton, v.24, n.4, p.401-449, 1986.
- DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M. Determination of phenolic compounds of dry beans using vanilin, redox and precipitation assays. *J. of Food Science*, Chicago, v.52, n.2, p.332-334, 1987.
- DIPIETRO, C.M.; LIENER, I.E. Soybean protease inhibitors in foods. *J. of Food Sci.*, Chicago, v.54, n.3, p.606-609 e 617, 1989.
- EKPENYONG, T.E. Effect of cooking on polyphenolic content of some nigerian legumes and cereals. *Nutrition Reports International*, v.31, n.3, p.561-565, 1985.
- ELIAS, L.G.; FERNANDEZ, D.G.; BRESSANI, R. Possible effects of seed coat polyphenolics on the nutritional quality of bean protein. *J. of Food Sci.*, Chicago, v.44, n.2, p.524-527, 1979.
- FRELS, J.M.; RUPNOW, J.H. Purification and partial characterization of two  $\alpha$ -amylase inhibitors from Black bean (*Phaseolus vulgaris*). *J. of Food Biochem.*, v.8, p.281-301, 1984.
- FRELS, J.M.; RUPNOW, J.H. Characterization of two  $\alpha$ -amylase inhibitors from Black bean (*Phaseolus vulgaris*). *J. of Food Sci.*, Chicago, v.50, p.72-77 e 105, 1985.
- GALLAHER, D.; SCHNEEMAN, B. O. Nutritional and metabolic response to plant inhibitors of digestive enzymes. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v.199, p.167-184, 1986.
- GATEHOUSE, A.M.R. Antinutritional proteins in plants. In: HUDSON, B.J.F. (Ed.). *Developments in Food Proteins*. London: Elsevier Applied Sci., 1984. v. 3.
- GODBOLE, S.A.; KRISHNA, T.G.; BHATIA, C.R. Purification and characterisation of protease inhibitors from Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) seeds. *J. Sci. Food Agric.*, v.64, n.3, p.87-93, 1994a.

- GODBOLE, S.A.; KRISHNA, T.G.; BHATIA, C.R. Further characterisation of protease inhibitors from Pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.) seeds. *J. Sci. Food Agric.*, v.64, n.3, p.331-335, 1994b.
- GODBOLE, S.A.; KRISHNA, T.G.; BHATIA, C.R. Changes in protease inhibitory activity from Pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) during seed development and germination. *J. Sci. Food Agric.*, v.66, n.4, p.179-183, 1994c.
- GRANT, G. Anti-nutritional effects of soyabean: A review. *Progress in Food and Nutrition Sci.*, v.13, p.317-348, 1989.
- GRANT, G.; EDWARDS, J.E.; PUSZTAI, A. a-amylase inhibitor levels in seeds generally available in Europe. *J. Sci. Food Agric.*, v.67, n.2, p.235-238, 1995.
- GRANUM, P.E. Studies on a-amylase inhibitors in foods. *Food Chemistry, Norway*, v.4, n.3, p.173-178, 1979.
- GRIFFITHS, D.W. The inhibition of digestive enzymes by polyphenolic compounds. In: FRIEDMAN, M. (Ed.). *Nutritional and toxicological significance of enzyme inhibitors in food*. New York: [s.n.], 1985. p.509-516.
- HARLAND, B.F.; OBERLEAS, D. A modified method for phytate analysis using an ion-exchange procedure: Application to textured vegetable proteins. *Cereal Chem.*, St. Paul, v.54, n.4, p.827-832, 1977.
- HERKELMAN, K. L.; CROMWELL, G. L.; STAHLY, T. S. Effects of heating time and sodium metabisulfite on the nutritional value of full-fat soybeans for chicks. *J. Anim. Sci.*, v.69, n.11, p.4477-4486, 1991.
- HERKELMAN, K. L.; CROMWELL, G. L.; STAHLY, T. S.; PFEIFFER, T. W.; KNABE, D. A. Apparent digestibility of aminoacids in raw and heated conventional and low-trypsin-inhibitor soybean for pigs. *J. Anim. Sci.*, v.70, n.3, p.818-826, 1992.
- HERKELMAN, K. L.; CROMWELL, G. L.; CANTOR, A. H.; STAHLY, T. S.; PFEIFFER, T. W. Effects of heat treatment on the nutritional value of conventional and low trypsin inhibitor soybeans for chicks. *Poultry Science*, v.72, n.7, p.1359-1369, 1993.
- IADEROZA, M.; SALES, A.M.; BALDINI, V.L.S. et al. Atividade de polifenoloxidase e alterações da cor e dos teores de taninos condensados em novas cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) durante o armazenamento. *Colet. ITAL*, Campinas, v.19, n.2, p.154-164, 1989.
- JAFFÉ, W.G.; MORENO, R.; WALLIS, V. Amilase inhibitors in legume seeds. *Nutrition Reports International*, v.7, n.3, p.169-174, 1973.
- JAFFÉ, W.G.; GOMEZ, M.J. Beans of High or low toxicity. *Qual. Plant. Plant. Foods Hum. Nutr.*, v.24, n.3/4, p.359-365, 1975.
- JAFFÉ, G. Phytic acid in soybeans. Word conference on soya processing and utilization. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, p.493-495, 1981.
- JANSMAN, A.J.M. Tannins in feedstuffs for simple -stomached animals. *Nutrition Research Reviews*, v.6, p.209-236, 1993.
- KADAM, S.S.; SMITHARD, R.R.; EYRE, M.D. et al. Effects of heat treatments of antinutritional factors and quality of protein in Winged bean. *J. Sci. Food Agric.*, v. 39, p.267-275, 1987.
- KINGSLEY, M.O. Effect of processing on some antinutritive and toxic components and on the nutritional composition of the African Oil bean seed (*Pentaclethra macrophylla Benth*). *J. Sci. Food Agric.*, v.68, n.2, p.153-158, 1995.
- KOTARU, M.; IKEUCHI, T.; YOSHIKAWA, H. Investigations of antinutritional factors of the winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*). *Food Chemistry*, v.24, p.279-286, 1987.
- LAJOLO, F.M.; FINARDI FILHO, F. Purificação do inibidor de a-amilase do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*) Var. Rico-23. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v.4, n.1, p.1-11, 1984.
- LAJOLO, F.M.; MANCINI FILHO, J.; MENEZES, E.W. Effect of a Bean (*Phaseolus vulgaris*) a-amylase inhibitor on starch utilization. *Nutrition Reports International*, v.30, n.1, p.45-54, 1984.
- LAJOLO, F.M.; FINARDI FILHO, F. Partial characterization of the amylase inhibitor of Black beans (*Phaseolus vulgaris*), Variety Rico 23. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v.33, p.132-136, 1985.
- LEOPOLDO, P.T.G.; XAVIER-FILHO, J.; LIMA, M.S. Lectins of lablab purpureus seeds. *J. Sci. Food Agric.*, v.65, p.179-183, 1994.
- LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean Foods. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v.34, n.1, p.31-67, 1994.
- LIU, K.; MARKAKIS, P. An Improved colorimetric method for determining antitryptic activity in soybean products. *Cereal Chemistry*, St. Paul, v.66, n.5, p.415-422, 1989.
- LUMEN, B.O.; SALAMAT, L.A. Trypsin Inhibitor activity in winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) and the possible role of tannin. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v.28, p.533-536, 1980.
- MACRI, A.; PARLAMENH, R.; SILANO, V.; VALIKE, F. Adaptation of the domestic chicken, gallus domesticus, to continous feeding of albumin amylase inhibitors from wheat flour as gastro-resistant microgranules. *Poultry Science*, v.56, p.434-441, 1977.
- MANGAN, J.L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutrition Research Reviews*, v.1, p.209-231, 1988.
- MARKS, D.L. GLYPHIS, J.; LEIGHTON, M. Measurement of protein in tannin-protein precipitates using ninhydrin. *J. Sci. Food Agric.*, v.38, p.255-261, 1987.
- MARSHALL, J.J.; LAUDA, C.M. Purification and properties of Phaseolamin, and Inhibitor of a-amylase, from the kidney bean, *Phaseolus vulgaris*. *The J. of Biological Chemistry*, Bethesda, v.250, n.20, p.8030-8037, 1975.
- MAXSON, E.D.; ROONEY, L.W. Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. *Cereal Chemistry*, St. Paul, v. 49, p.719-729, 1972.
- MULIMANI, V.H.; RUDRAPPA, G.; SUPRIYA, D. a-Amylase Inhibitors in chick pea (*Cicer arietinum* L.). *J. Sci. Food Agric.*, v.64, n.4, p.413-415, 1994.
- NARASINGA RAO, B.S.; PRABHAVATHI, T. Tannin content of foods commonly consumed in Índia and its influence on lonisable iron. *J. Sci. Food Agric.*, v.33, p.89-96, 1982.
- NIELSEN, S.S.; LIENER, I.E. Effect of germination of trypsin inhibitor and hemagglutinating activities in *Phaseolus vulgaris*. *J. of Food Sci.*, Chicago, v.53, n.1, p.298-301, 1988.
- OGUN, P.O.; MARKAKIS, P.; CHENOWETH, W. Effect of processing on certain antinutrients in cowpeas (*Vigna unguiculata*). *J. of Food Sci.*, Chicago, v.54, n.4, p.1084-1085, 1989.
- OLOGHOBO, A.D.; FETUGA, B.L. Effect of processing on the trypsin inhibitor, haemagglutinin, tannic acid and phytic acid contents of seed of ten cowpea varieties. *Trop. Agric. (Trinidad)*, v.61, n.4, p.261-264, 1984.

- PEARSON, A.M. Soy proteins. In: HUDSON, B.J.F. (Ed.). *Developments in food proteins-2*. London: [s.n.], 1983. Chapter 2, p.67-108.
- POWERS, J.R.; WHITAKER, J.R. Purification and some physical and chemical properties of Red Kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) a-amylase inhibitor. *J. of Food Biochem.*, v.1, p.217-238, 1977.
- POWERS, J.R.; CULBERTSON, J.D. Interaction of a purified bean (*Phaseolus vulgaris*) glycoprotein with an insect amylase. *Cereal Chem.*, St. Paul, v.60, n.6, p.427-429, 1983.
- PRICE, M.L.; SCOYOC, S.V.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v.26, n.5, p.1214-1218, 1978.
- PRICE, M.L.; HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Tannin content of cowpeas, chickpeas, Pigeon peas, and mung beans. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v.28, p.459-461, 1980.
- REDDY, N.R.; PIERSON, M.D.; SATHE, S.K. et al. Dry bean tannins: a review of nutritional implications. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.62, n.3, p. 541-549, 1985.
- SALUNKHE, D.K.; KADAM, S.S.; CHAVAN, J.K. Postharvest biotechnology of food legumes. Flórida: CRC Press, 1985. 160p.
- SATHE, S.K.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. Dry beans of phaseolus. A Review. Part 1. Chemical Composition: protein. *CRC critical Review in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v.20, n.1, p.1-46, 1984.
- SHARMA, A.; SEHGAL, S. Effect of processing and cooking on the antinutritional factors of faba bean (*Vicia faba*). *Food Chemistry*, v.43, p.383-385, 1992.
- SILANO, V. a-Amylase Inhibitors. Chapter 6. In: Enzymes and their role in cereal technology. Edited by KRUGER, J. E.; LINEBACK, D.; STAUFFER, C. E. *American Assoc. of Cereal Chem.*, Inc. St. Paul, Minnesota, USA, 1987. 403p.
- SINGH, U.; JAMBUNATHAN, R. Studies on Desi and Kabuli Chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars: Levels of Protease inhibitors, levels of polyphenolic compounds and in vitro protein digestibility. *J. of Food Sci.*, Chicago, v.46, p.1364-1367, 1981.
- SINGH, U.; KHERDEKAR, M. S.; JAMBUNATHAN, R. Studies on Desi and Kabuli Chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. The levels of amylase inhibitors, levels of oligosaccharides and in vitro starch digestibility. *J. of Food Sci.*, Chicago, v.47, p.510-512, 1982.
- SINGH, U. The inhibition of digestive enzymes by polyphenols of chick pea (*Cicer arietinum* L.) and Pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp). *Nutrition Reports Intemational*, v.29, n.3, p. 745-753, 1984.
- SINGH, U. Antinutritional factors of chick pea and Pigeon pea and their removal by processing. *Plant Foods for Human Nutrition*, v.38, p.251-261, 1988.
- SNYDER, H.E.; KWON, T.W. Soybean utilization. New York: [s.n.], 1987. 346p.
- STRUTHERS, B.J.; MacDONALD, J.R. Comparative inhibition of trypsin from several species by soybean trypsin inhibitors. *J. of Nutrition*, Bethesda, v.13, n.4, p.800-804, 1983.
- TANIZAKI, M.M.; LAJOLO, F.M. Kinetics of the interaction of pancreatic a-amylase with a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) amylase inhibitor. *J. of Food Biochem.*, v.9, p.71-89, 1985.
- TANIZAKI, M.M.; LAJOLO, F.M.; FINARDI FILHO, F. Combination of Black bean (*Phaseolus vulgaris*) Amylase Inhibitor with modified Pancreatic a-amylase. *J. of Food Biochem*, v.9, p.91-104, 1985.
- TAWDE, S. Isolation and partial characterization of red gram (*Cajanus cajan*) trypsin inhibitor. *Annals of biochemistry and experimental medicine*, v.21, n.12, p.359-366, 1961.
- THOMPSON, D.B.; ERDMAN JR., J.W. Phytic acid determination in soybeans. *J. of Food Sci.*, Chicago, v.47, n.2, p.513-517, 1982.
- UDUPA, S.L.; PRABHAKAR, A.R.; TANDON, S. a-Amylase Inhibitors in Foodstuffs. *Food Chem.*, Manipal, p.95-101, 1989.
- WEDER, J. K. P. Chemistry of legume protease inhibitors and their use in taxonomy. *Qual. Plant. Foods Hum Nutr*, v.35, p.183-194, 1985.
- WILCOX, E.R.; WHITAKER, J.R. Structural features of red kidney bean a-amylase inhibitor important in binding with a-amylase. *J. of Food Biochem.*, v.8, p.189-213, 1984a.
- WILCOX, E.R.; WHITAKER, J.R. Some aspects of the mechanism of complexation of Red Kidney bean a-amylase Inhibitor and a-amylase. *Biochem.*, Washington, v.23, n.8, p.1783-1791, 1984b.
- WU, C.; WHITAKER, J.R. Homology among trypsin/chymotrypsin inhibitors from red kidney bean, Brazilian pink bean, lima bean, and soybean. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v.39, p.1583-1589, 1991.
- ZHOU, J.R.; ERDMAN, JR., J.W. Phytic acid in health and disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v.35, n.6, p.495-508, 1995.