

Determinação de proteínas e lipídios totais, umidade, cinzas, macro (Ca, Mg, K) e micro elementos (Fe, Cu, Mn, Zn) em cultivares de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill] não-transgênicas e transgênicas

Determination of total proteins and lipids, ash, humidity, macro (Ca, Mg, K) and micro (Fe, Cu, Mn, Zn) elements in varieties of soybeans [*Glycine Max* (L.) Merrill] not transgenics and transgenics

Neide Kiyoko Kondo Kamizake²; Cristiane Novacki³; Dimas Augusto Morozin Zaia¹

Resumo

No presente trabalho, foram analisados três cultivares (EMBR-59, BRS-133, BRS-137) de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill] com os seus respectivos transgênicos (EMBR-59-RR, BRS-133-RR, BRS-137-RR). As seguintes determinações foram feitas em todas as amostras: proteínas e lipídios totais, cinzas, umidade, macro (Ca, Mg, K) e micro elementos (Fe, Cu, Mn, Zn). Os resultados mostraram que as concentrações de proteínas totais, Ca, Mg, Fe, Cu e Mn, em todas as amostras analisadas não foram estatisticamente diferentes entre si (Student-Newman-Keuls-SNK $p > 0,05$). As concentrações de lipídios totais, umidade, cinzas e K apresentaram valores estatisticamente diferentes entre alguns cultivares (SNK $p < 0,05$), mas não entre um cultivar e seu transgênico (SNK $p > 0,05$). A concentração de Zn apresentou valores estatisticamente diferentes (SNK $p < 0,05$) entre o cultivar BRS-137 e seu transgênico BRS-137-RR.

Palavras-chave: Soja transgênica. Metais

¹Doutor em Ciências área de concentração Química Analítica pelo Instituto de Química- USP- SP. Departamento de Química-CCE, Universidade Estadual de Londrina. E-mail: damzaia@uel.br.

²Docente do Departamento de Química-CCE, Universidade Estadual de Londrina

³Aluna de IC

Abstract

In the present paper three strains (EMBR-59, BRS-133, BRS-137) of soybean [*Glycine Max* (L.) Merrill] with their transgenic varieties (EMBR-59-RR, BRS-133-RR, BRS-137-RR), were analyzed. The following determinations were carried out in all samples: total proteins and lipids, ash, humidity, macro (Ca, Mg, K) and micro (Fe, Cu, Mn, Zn) elements. The results showed that the concentrations of total proteins, Ca, Mg, Fe, Cu, and Mn in all samples were not statistically different among themselves (Student-Newman-Keuls-SNK $p>0.05$). The concentrations of total lipids, humidity, ash and K were statistically different (SNK $p<0.05$) among some varieties, but they were not different between a variety and its transgenic variety (SNK $p>0.05$). The concentration of Zn showed values statistically different (SNK $p<0.05$) between BRS-137 and its transgenic variety BRS-137-RR.

Key words: Soybean transgenic. Metals

Introdução

A soja [*Glycine Max* (L.) Merrill] foi provavelmente primeiro cultivada por volta do século IX A. C. na região nordeste da China. Foi introduzida nos Estados Unidos em 1804, e na década de 1950, tornou-se economicamente importante. No Brasil, a soja foi introduzida em 1892 por Gustavo Dutra que estudou alguns cultivares na Bahia, e neste mesmo ano Daffert iniciou o estudo da soja no estado de São Paulo. Posteriormente a soja foi estudada no Rio Grande do Sul, em 1901, e em Minas Gerais, em 1908, na Escola Superior de Agricultura de Lavras. O Brasil tornou-se um grande produtor de soja somente na década de 1970, e atualmente é o segundo produtor mundial (FARIAS NETO, 1995).

O grande interesse no desenvolvimento de novas variedades de soja deve-se ao seu valor econômico, principalmente para a produção de óleo e de farelo de proteína (KINNEY, 1996; MARTINS, 2003; MURPHY, 2006).

Apesar do aumento acelerado das áreas de cultivo da soja transgênica devido às vantagens oferecidas, como barateamento dos custos de produção, diversas questões têm surgido quanto à segurança na utilização deste produto para alimentação humana e animal (CONSELHO DE INFORMAÇÃO SOBRE

BIOTECNOLOGIA, 2006). Isso, sem dúvida, deve-se ao fato que uma simples modificação de um parâmetro pode ocasionar modificações profundas na composição das substâncias da soja (KINNEY, 1996; EAPEN; D'SOUZA, 2005; MURPHY, 2006).

A relação entre proteínas totais e lipídios totais tem sido estudada por diversos autores e muitos resultados mostram uma relação inversa entre estes dois parâmetros (STOMBAUGH et al., 2000; MAREGA FILHO et al., 2001; MARTINS, 2003).

Macro elementos e micro elementos também têm sido determinados em amostras de soja, com especial preocupação em relação aos metais. Alguns resultados mostram que diferentes genótipos podem ter uma maior ou menor concentração de metais, e um aumento excessivo dos mesmos podem ocasionar sérios problemas de saúde (REDDY; DUNN, 1986; ARAO et al., 2003; MARTINS, 2003; ARAO; ISHIKAWA, 2006; RUI et al., 2006).

No presente trabalho, estudamos as concentrações de proteínas e lipídios totais, cinzas, umidade, macro (K, Mg, Ca) e micro elementos (Fe, Cu, Mn, Zn) em sementes de três cultivares de soja com os seus respectivos transgênicos.

Materiais e Métodos

Materiais

Todos os reagentes utilizados eram de grau P.A. Foram utilizados os seguintes equipamentos: fotômetro de chama marca CELM, modelo FC-280 e espectrofotômetro de absorção atômica, com atomização por chama alimentada por acetileno da marca Shimadzu, modelo AA-6601F.

Amostras de soja

Todas as amostras (2,0 kg cada) de soja foram doadas pela EMBRAPA- Soja/Londrina- PR; foram utilizados os seguintes cultivares não-transgênicos e transgênicos: EMBR-59, BRS-133, BRS-137 e EMBR-59 RR, BRS-133 RR, BRS-137 RR, respectivamente. As sementes foram produzidas na fazenda experimental da EMBRAPA-Soja, localizada no distrito de Warta no município de Londrina, e fizeram parte da colheita de 2002. Os grãos de soja foram primeiramente triturados em liquidificador e, posteriormente, passados em peneira com granulometria de 20 mesh. Antes de todas as pesagens para as determinações (exceção da umidade), as amostras foram colocadas em estufa a 110°C por 1 h para eliminar toda a umidade.

Métodos

Determinação de proteínas e lipídios totais, umidade e cinzas

As quantidades de proteínas e lipídios totais foram determinadas, respectivamente, pelos métodos de Kjeldhal e pela extração com éter de petróleo em Soxhlet. Para a determinação da umidade e cinzas foram utilizados cadinhos de porcelana previamente tarados, e a porcentagem de umidade foi determinada pela diferença entre a massa após o aquecimento da amostra em estufa, por 1 h a 110°C, e cinzas pela diferença de massa após o aquecimento em mufla, por 2 h, a 650°C. Outros pormenores dessas metodologias podem ser encontrados em publicação especializada (CUNNIFF, 1995; NOLLET, 1996).

Determinação de macro (Ca, Mg, K) e micro (Fe, Cu, Mn, Zn) elementos

Foi pesada aproximadamente 1,0000 g de farinha de soja, previamente secada em cadinho por 1 h, a 110°C. A amostra foi calcinada em bico de Bunsen e depois levada à mufla por 2 h a 500°C, e resfriada em um dessecador. Depois foram adicionadas 10 gotas de água deionizada e 3-4 mL de ácido sulfúrico 1:1 (V/V). Esta solução foi então evaporada em placa aquecedora a 100-120°C e depois, foi levada novamente à mufla por mais 1 h a 500°C. Após o resfriamento da amostra, a mesma foi dissolvida em HCl 1:1 (V/V) e transferida para um balão volumétrico de 50 mL. Para a leitura dos elementos K, Ca e Mg, foram necessárias diluições com HCl 10%, devido às altas concentrações dos mesmos. Para o caso dos elementos Ca e Mg, foi necessário a adição de óxido de lantânio, visto que estes elementos formam óxidos refratários e isso dificulta a determinação dos mesmos na chama de ar/acetileno. Foram adicionados 0,2 e 0,4 mL de óxido de lantânio 5% em um volume final de 50 mL, para o Mg e Ca, respectivamente. A quantificação do K foi feita no fotômetro de chama e os demais elementos no espectrofotômetro de absorção atômica. Outros pormenores dessas metodologias podem ser encontrados em publicação especializada (CUNNIFF, 1995; NOLLET, 1996).

Análise estatística

A comparação entre as médias foi feita por método teste ANOVA e o teste Student-Newman-Keuls (teste SNK), e foi adotado-o se como nível de significância de $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

A tabela 1 mostra os resultados das análises de proteínas e lipídios totais, cinzas e umidade para amostras de soja não-transgênicas (EMBR-59, BRS-133, BRS-137) e transgênicas (EMBR-59-RR, BRS-137-RR).

Tabela 1. Determinação proteínas e lipídios totais, cinzas e umidade em amostras de soja não transgênicas e transgênicas.

Amostra de soja	Proteínas totais (m/m %)	Lipídios totais (m/m %)	Cinzas (m/m %)	Umidade (m/m %)
EMBR-59	43,2±1,0 (3)	22,2±0,7 ^A (3)	4,99±0,16 (3)	7,24±0,28 (3)
EMBR-59-RR [#]	44,0±0,3 (3)	19,6±0,5 (3)	5,24±0,08 ^A (3)	8,06±0,09 ^B (3)
BRS-133	43,8±0,5 (3)	18,7±0,1 ^B (3)	4,51±0,22 ^B (3)	6,09±0,52 ^A (3)
BRS-133-RR [#]	45,4±0,8 (3)	17,8±1,1 ^{B, C} (3)	4,55±0,14 ^B (3)	7,11±0,51 (3)
BRS-137	42,2±0,4 (3)	21,5±0,3 ^D (3)	4,64±0,13 ^B (3)	7,36±0,13 (3)
BRS-137-RR [#]	43,6±0,8 (3)	20,4±1,2 (3)	4,54±0,10 ^B (3)	8,23±0,08 ^B (3)

[#]Amostras de soja transgênicas. Os resultados mostrados são média ± erro padrão da média. Os valores entre parênteses são o número de análises sendo que cada uma foi feita em triplicata. Teste estatístico ANOVA: proteínas totais F=2,37 e P=0,102; lipídios totais F=4,79 e P=0,012; cinzas F=4,27 e P=0,018 e umidade F=5,50 e P=0,007. Teste estatístico SNK, valores estatisticamente diferentes (p<0,05): lipídios totais A/B e C/D; cinzas A/B; umidade A/B.

A concentração de proteínas totais nas diferentes amostras de soja não transgênicas e transgênicas não é estatisticamente diferente (SNK p>0,05) (tabela 1). Portanto, podemos afirmar que a cultivar e a transgênia não afetaram sua concentração de proteínas totais. Resultados semelhantes foram obtidos por Martins (2003) no estudo da concentração de proteínas totais em 72 genótipos de soja. Os valores de concentração de proteínas totais para todas as amostras de soja variaram de 42,2-45,4% (tabela 1), que são um pouco maiores aos obtidos por Martins (2003) (37,9-41,5%) e Marega Filho et al (2001) (32,95-41,56%).

As concentrações de lipídios totais nas diferentes amostras de soja não-transgênicas e transgênicas foram estatisticamente diferentes (SNK p<0,05) nos seguintes casos: EMBR-59/BRS-133, EMBR-59/BRS-133-RR e BRS-137/BRS-133-RR (tabela 1). Pelos resultados mostrados na tabela 1, na soja transgênica a concentração de lipídios totais nas amostras não foi afetada. Os valores de concentração de lipídios totais para todas as amostras de soja variaram de 17,8-22,2% (tabela 1) que são semelhantes aos obtidos por outros autores (FARIAS

NETO, 1995; MAREGA FILHO et al, 2001; MARTINS, 2003)

A quantidade de cinzas nas diferentes amostras de soja não-transgênicas e transgênicas foi estatisticamente diferente (SNK p<0,05) nos seguintes casos: EMBR-59-RR/BRS-133, EMBR-59-RR/BRS-133-RR, EMBR-59-RR/BRS-137 e EMBR-59-RR/BRS-137-RR (tabela 1). Pelos resultados mostrados na tabela 1, a transgênia não afetou a quantidade de cinzas nas amostras. No entanto, os valores variaram dependendo da cultivar analisada. Os valores da quantidade de cinzas para todas as amostras de soja variaram de 4,51-5,24% (tabela 1) e essas quantidades são menores que as obtidas por Martins (2003) (5,34-7,81%).

A quantidade de umidade nas diferentes amostras de soja não-transgênicas e transgênicas foi estatisticamente diferentes (SNK p<0,05) nos seguintes casos: BRS-133/EMBR-59-RR e BRS-133/BRS-137-RR (tabela 1). Pelos resultados mostrados na tabela 1, a transgênia não afetou a quantidade de umidade nas amostras. No entanto, ocorreram variações entre um cultivar com transgênicos de outro cultivar.

A relação inversa entre quantidade de proteínas totais e lipídios totais não foi observada para as amostras não transgênicas, mas sim para as amostras transgênicas (tabela 1). Stombaugh et al. (2000), Marega Filho et al. (2001) e Martins (2003) também observaram uma correlação negativa entre a quantidade de proteínas totais e lipídios totais. Entretanto, essa correlação é mais acentuada, dependendo das condições climáticas, adubação, solos, e variedade de soja (MAREGA FILHO et al., 2001).

A tabela 2 mostra os resultados das análises de macro (Ca, Mg, K) e micro (Fe, Cu, Mn, Zn) elementos em amostras de soja não transgênicas (EMBR-59, BRS-133, BRS-137) e transgênicas

(EMBR-59-RR, BRS-133-RR, BRS-137-RR). As concentrações dos macros (Ca, Mg, K) e micro (Mn) elementos obtidas para as nossas amostras são semelhantes às obtidas por Martins (2003). No caso do Cu, os valores de concentração das amostras são maiores do que os obtidos por Reddy e Dunn (1986), porém são menores do que os obtidos por Martins (2003). Para o Zn obtivemos valores bem menores do que os obtidos por Reddy e Dunn (1986) e Martins (2003). A concentração de Fe por nós obtida é maior do que a obtida por Martins (2003). Os resultados acima mostram que não existe na literatura concordância acerca da variação da concentração de micro e macro elementos, nos diferentes cultivares.

Tabela 2. Determinação de macro e micro elementos em amostras de soja não transgênica e transgênica.

Amostra de soja	Ca (g/kg)	Mg (g/kg)	K (g/kg)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)
EMBR-59	2,02±0,34 (4)	2,53±0,15 (4)	19,96±0,23 (4)	166,6±17,9 (4)	13,0±0,8 (3)	29,1±1,8 (3)	17,9±0,3 (3)
EMBR-59-RR [#]	2,20±0,29 (4)	2,44±0,10 (4)	19,33±0,16 (4)	143,6±14,9 (4)	15,7±0,1 (3)	28,8±1,5 (3)	18,2±0,3 (3)
BRS-133	2,47±0,22 (4)	2,29±0,03 (4)	18,74±0,32 ^A (4)	178,2±24,4 (4)	13,0±1,0 (3)	30,7±1,9 (3)	19,3±1,2 (3)
BRS-133-RR [#]	3,49±0,62 (4)	2,56±0,10 (4)	19,85±0,42 (4)	155,7±8,8 (4)	15,3±1,4 (3)	30,4±1,7 (3)	20,0±1,2 (3)
BRS-137	3,04±0,52 (4)	2,55±0,09 (4)	20,28±0,19 ^B (4)	174,9±7,9 (4)	14,3±0,4 (3)	32,5±1,2 (3)	22,4±1,8 ^A (3)
BRS-137-RR [#]	3,76±0,59 (4)	2,60±0,10 (4)	19,96±0,55 (4)	129,3±12,0 (4)	14,5±1,4 (3)	31,4±1,2 (3)	16,4±0,4 ^B (3)

[#]Amostras de soja transgênicas. Os resultados mostrados são média ± erro padrão da média. Os valores entre parênteses são o número de análises sendo que cada uma foi feita em triplicata. Teste estatístico ANOVA: Ca F=2,42 e P=0,076; Mg F=0,99 e P=0,450; K F=2,68 e P=0,056; Fe F=1,52 e P=0,234; Cu F=1,33 e P=0,321; Mn F=0,78 e P=0,591 e Zn F=4,02 e P=0,023. Teste estatístico SNK, valores estatisticamente diferentes (p<0,05): K A/B e Zn A/B.

As concentrações de Ca, Mg, Fe, Cu e Mn nas diferentes amostras de soja não transgênicas e transgênicas não são estatisticamente diferentes entre si (SNK p>0,05) (tabela 2). Portanto, podemos afirmar que o cultivar e a transgênia, não constituem variáveis que afetam as concentrações destes elementos. A tabela 2 também mostra que a concentração de K foi estatisticamente diferente (SNK p<0,05) para as amostras BRS-133/BRS-137 e, neste caso o cultivar afetou a quantidade de K.

Para o caso do Zn, observamos que as amostras BRS-137/BRS-137-RR apresentaram valores estatisticamente diferentes (SNK p<0,05) deste metal (tabela 2). Portanto, neste caso, a soja transgênica afetou a concentração do metal. Reddy e Dunn (1986), no entanto analisaram as sementes de soja de dois genótipos plantadas com diferentes quantidades de sedimento proveniente de esgoto e verificaram que uma maior concentração de sedimento provoca o aumento da concentração de

Cd, Ni, Cu e Zn nas sementes em relação ao grupo controle (sem esgoto). Eles também observaram que um dos genótipos concentrava mais estes metais em relação ao outro, sendo que o Cu foi o que apresentou maior variação em relação aos outros (Cd, Ni, Zn). Martins (2003) analisando diversos macro e micro elementos das sementes de 72 genótipos de soja encontrou diferenças estatísticas ($p < 0,05$) para Ca, Mg, Cu, K, Zn e Mn, mas não para o Fe. Rui et al., (2006) analisaram nove metais pesados em amostras de óleo obtidas da soja não transgênica e transgênica. Estes autores mostraram que as quantidades de Zn, Cr e Pb nas amostras de óleo de soja transgênica eram muito maiores que na do óleo de soja das amostras não transgênicas. Arao e Ishikawa (2006), estudando a relação entre Cd e diversos metais (Zn, Mn, Cu, Fe) para amostras de soja plantadas em diferentes solos, não detectaram relação dos metais uns com os outros, ou seja, o consumo destes metais pelas plantas é realizado por mecanismos independentes.

Referências

- ARAO, T.; AE, N.; SUGIYAMA, M.; TAKAHASHI, M. Genotypic differences in cadmium uptake and distribution in soybeans. *Plant and Soil*, The Hague, v.251, n.2, p.247-253, apr. 2003.
- ARAO, T.; ISHIKAWA, S. Genotypic differences in cadmium concentration and distribution of soybean and rice. *JARQ: Japan Agricultural Research Quarterly*, Tokyo, v.40, n.1, p.21-30, jan. 2006.
- CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA. Disponível em: <<http://www.cib.org.br/artigo.php>>. Acesso em: 17 ago. 2006.
- CUNNIFF, P. (Ed.) *Official methods of analysis of AOAC international*. 16. ed. Arlington: AOAC International, 1995.
- FARIAS NETO, J. T. *Potencialidade de progênies $F_{4:3}$ e $F_{5:3}$ derivadas de cruzamentos em cadeia para produtividade de óleo em soja*. 1995. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-USP, Piracicaba.
- EAPEN, S.; D'SOUZA, S. F. Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. *Biotechnology Advances*, New York, v.23, n.2, p.97-114, mar. 2005.
- KINNEY, A. J. Development of genetically engineered soybean oils for food applications. *Journal of Food Lipids*, Malden- MA, v.3, n.4, p.273-292, 1996.
- MAREGA FILHO, M.; DESTRO, D.; MIRANDA, L. A.; SPINOZA, W A.; CARRÃO-PANIZI, M. C.; MONTALVÁN, R. Relationships among oil content, protein content and seed size in soybeans. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v.44, n.1, p.23-32, 2001.
- MARTINS, A. L. *Caracterização química de genótipos de soja para consumo humano*. 2003. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- MURPHY, D. J. Molecular breeding strategies for the modification of lipid composition. *Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, Columbia, v.42, n.2, p.89-99, mar./apr. 2006.
- NOLLET, L. M. L. (Ed.) *Handbook of food analysis: physical characterization and nutrient analysis*. New York: Marcel Dekker, 1996.
- REDDY, M. R.; DUNN, S. J. Heavy-metal absorption by soybean on sewage sludge treated soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.34, n.4, p.750-753, jul./ago. 1986.
- RUI, Y. K.; ZHANG, H. X.; GUO, J.; HUANG, K. L.; ZHU, B. Z.; LUO, Y. B. Heavy metals content in

transgenic soybean oil from Beijing market. *Agro Food Industry Hi-Tech*, Milano, v.17, n.2, p.35-36, 2006.

STOMBAUGH, S. K.; JUNG, H. G.; ORF, J. H.; SOMERS, D. A. Genotypic and environmental variation in soybean seed cell wall polysaccharides. *Crop Science*, Madison, v.40, n.2, p.408-419, mar./apr. 2000.