

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA**

**QUALIDADE E RENDIMENTO DO "LEITE" DE SOJA DA UNIDADE DE
PRODUÇÃO DE DERIVADOS DA SOJA - Unisoja - FCF/Unesp.**

MARIA JULIA LEMOS MAIA

ARARAQUARA - SP

2005

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA**

**QUALIDADE E RENDIMENTO DO "LEITE" DE SOJA DA UNIDADE DE
PRODUÇÃO DE DERIVADOS DA SOJA - Unisoja - FCF/Unesp.**

MARIA JULIA LEMOS MAIA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas-Unesp para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição, Área de Concentração: Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. MARIA REGINA BARBIERI DE CARVALHO

ARARAQUARA - SP

2005

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e

Maia, Maria Júlia Lemos

M217q Qualidade e rendimento do “Leite” de soja da unidade de produção de derivados da soja – Unisoja – FCF / Unesp. / Maria Júlia Lemos Maia . – Araraquara, 2005.
59 f.

*Dissertação (Mestrado) –
Universidade Estadual Paulista. “Júlio de
Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências
Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em
Alimentos e Nutrição*

Orientador: Maria Regina Barbieri de Carvalho

1. Leite de soja – Composição. 2. Qualidade. 3. Rendimento. I. Carvalho, Maria Regina Barbieri de, orient. II. Título.

CDD: 637.124028

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Regina Barbieri de Carvalho
(orientadora)

Prof. Dr Elizeu Antonio Rossi
(membro titular)

Profa. Dra. Maria Teresa Ribeiro Silva Diamantino
(membro titular)

Prof. Dr. Romildo Martins Sampaio
(membro suplente)

Prof. Dr. Valdir Augusto Neves
(membro suplente)

Araraquara, 13 de dezembro de 2005.

Epígrafe

“Ainda que eu tenha o dom de profetizar e conheça todos os mistérios e toda a ciência;

Ainda que eu tenha tamanha fé ao ponto de transportar montes, se não tiver amor, nada serei”.

“O amor é paciente, é benigno...

O amor não arde em ciúmes, não se ufana, não se ensoberbece, não conduz inconvenientemente, não procura os seus interesses, não se exaspera, não se ressentido do mal; não se alegra com a injustiça; mas regozija-se com a verdade”;

Tudo sofre, tudo crê, tudo espera, tudo suporta...”

I Cor: 13, 2 –7.

Dedicatória

*À minha família,
pelo amor, apoio constante em todos
os momentos.*

Meus Agradecimentos

À Prof^a. Dr^a. Maria Regina Barbieri de Carvalho, por ter me concedido a oportunidade de adquirir experiência em relação ao trabalho científico, pela dedicação constante, pelo carinho e amizade.

À Auxiliar Acadêmica Tânia Mara Azevedo Lima, pela amizade, paciência, apoio e auxílio técnico.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Aos Professores: Dr. Pedro Alves de Souza, Dr^a. Hirasilva Borba Alves de Souza, Dr. João Martins Pizauro Junior, Dr^a. Eliana G. Macedo Lemos, pelas facilidades oferecidas e pela permissão do uso do laboratório.

Aos Professores: Dr. José Fernando Durigan e Dr. João Martins Pizauro Junior, pelas sugestões e amizade.

Aos Professores: Dr^a. Maria de Lourdes e Dr. João Bosco Faria, pelo apoio.

Ao Prof. Dr. Elizeu Antônio Rossi, pela disponibilidade da Unidade de Produção de Derivados da Soja.

Ao Sr. Antonio e demais amigos da Unisoja pela atenção dispensada.

Ao amigo Felipe, pelo apoio e incentivo.

Às funcionárias da Seção de Pós-graduação, Cláudia Lúcia Molina, Sônia Ornelas e Laura Rosim, pelo carinho e atenção com que sempre me receberam.

Aos funcionários das Bibliotecas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara e Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, pelo apoio e atenção.

Aos Professores e funcionários do Departamento de Tecnologia da FCAV/UNESP e do Departamento de Alimentos e Nutrição da FCF/UNESP, pela amizade.

À Comissão examinadora pela atenção.

Em especial, à Deus pela presença constante na minha vida!

Obrigada...

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| RESUMO..... | viii |
| ABSTRACT..... | ix |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 10 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA..... | 13 |
| 2.1 Inibidores de Tripsina..... | 13 |
| 2.2 Lipoxigenase..... | 14 |
| 2.3 "Leite" de Soja..... | 15 |
| 2.4 Processo de Fabricação do "Leite" de Soja..... | 18 |
| 2.5 Efeito do Processamento na Qualidade do "Leite" de soja..... | 20 |
| 2.5.1 Seleção da cultivar..... | 20 |
| 2.5.2 Decorticação..... | 21 |
| 2.5.3 Maceração e moagem dos grãos..... | 23 |
| 2.5.4 Tratamento térmico..... | 24 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 28 |
| 3.1 Material..... | 28 |
| 3.2 Métodos..... | 28 |
| 3.2.1 Preparo do "leite" de soja..... | 29 |
| 3.2.2 Colheita e preparo das amostras..... | 29 |
| 3.2.3 Análises físicas e químicas..... | 30 |
| 3.2.4 Análises bioquímicas nas amostras de grãos e "leite" de soja..... | 32 |
| 3.3 Análise Estatística..... | 34 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 34 |
| 4.1 Composição Centesimal dos Grãos de Soja..... | 35 |
| 4.2 Tratamento Térmico e Teor de Umidade dos Grãos..... | 35 |
| 4.3 Atividade dos Inibidores de Tripsina..... | 38 |
| 4.4 Atividade da Lipoxigenase..... | 40 |
| 4.5 Índice de Solubilidade da Proteína..... | 42 |
| 4.6 Composição Química do "Leite" de Soja..... | 43 |
| 4.7 Digestibilidade <i>In Vitro</i> da Proteína..... | 45 |
| 4.8 Rendimentos de Sólidos Totais, de Proteínas e Lipídeos Extraídos e do Processo..... | 46 |

| | |
|------------------|----|
| CONCLUSÕES..... | 48 |
| REFERÊNCIAS..... | 49 |

RESUMO

O "leite" é um dos derivados da soja mais conhecido no Brasil, e apresenta grande potencial de utilização. Enquanto cultivares de soja apropriados ao processamento do "leite" não estão efetivamente disponíveis no mercado, o tratamento térmico dos grãos é necessário para inativação de enzimas que depreciam o sabor e a qualidade nutricional do grão. Neste contexto, realizou-se este trabalho com o objetivo de avaliar a qualidade do "leite" produzido pela Unisoja, verificando a influência das condições de processamento sobre a inativação de enzimas, rendimento do processo e composição química do "leite". Foram determinadas as atividades dos inibidores de tripsina e da lipoxigenase e índice de solubilidade da proteína durante o tratamento térmico (97° C/14 minutos) dos grãos decorticados, rendimento do processo, composição química e digestibilidade *in vitro* da proteína do "leite" produzido. O tratamento térmico do grão favoreceu uma rápida absorção de água (6,31 vezes), inativação das atividades dos inibidores de tripsina (85%) e da lipoxigenase (86%) e diminuição na solubilidade da proteína (14,7%). Os teores de umidade (82,58%) e proteína (3,31%) do "leite" atendem as especificações da legislação vigente. O procedimento adotado pela UNISOJA fornece "leite" isento de inibidores de tripsina e lipoxigenase ativos, boa digestibilidade *in vitro* para a proteína (86,21%) o que assegura sua qualidade nutricional, além de proporcionar bons rendimentos de processo (547,36%) de proteína (54,91%) e de lipídeos (40,88%).

Palavras chave: composição, "leite" de soja, qualidade, rendimento.

ABSTRACT

Milk is one of the most known derived of soy in Brazil, and presents great potential of use. While appropriate soy cultures to the processing of milk are not effectively available in the market, the thermal treatment of the grains is necessary for inactivation of enzymes that depreciate the flavor and the nutritional quality of the product. In this context, this work was developed in order to evaluate the quality of the "milk" produced by Unisoja, verifying the influence of the processing conditions about inactivation of enzymes, yield of the process and chemical composition of "milk". The activities of inhibitors of trypsin and lipoxygenase and index of solubility of the protein during the thermal treatment (97° C/14 minutes) of the decorticated grains, the yield of the process, the chemical composition and digestibility in vitro of the protein of "produced milk" were determined. The thermal treatment of the grain favored a fast water absorption (6.31 times), inactivation of the activities of inhibitors of trypsin (85%) and of lipoxygenase (86%) and reduction in the solubility of the protein (14.7%). The amounts of humidity and protein (3.31%) of "milk" follow the specifications of the current law. The procedure used for the UNISOJA supplies "milk" without inhibitors of active trypsin and lipoxygenase, good digestibility in vitro for the protein (86.21%) what it assures its nutritional quality, and also provides good yield of process (547.36%) of protein (54.91%) and of lipids (40.88%).

Key words: composition, soy milk, quality, yield

1 INTRODUÇÃO

Entre as culturas agrícolas exploradas no mundo a soja se destaca como fonte mais econômica e abundante em proteína alimentar. Botanicamente, é classificada como *Glycine max* (L) Merrill, pertencente à família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoideae* e gênero *Glycine*. Há cerca de cinco mil anos o seu cultivo foi iniciado pelos chineses e, as espécies mais antigas eram plantas rasteiras que se desenvolviam nas proximidades dos lagos e rios da China Central. Sua evolução começou com o aparecimento das plantas oriundas de cruzamentos naturais entre duas espécies de soja selvagem (MORAIS e SILVA, 1996).

A expansão da soja em diferentes países do Ocidente ocorreu a partir do século XVII. Aparentemente, a primeira referência sobre a soja no Brasil data de 1882, na Bahia. Em 1908, imigrantes japoneses introduziram a soja em São Paulo e, em 1914, no Rio Grande do Sul. Somente, no final da década de 60 que a produção nacional de soja cresceu, impulsivamente (SOUZA et al., 2000).

Atualmente, no cenário mundial o Brasil ocupa a segunda posição como produtor de grãos, com 49,71 milhões de toneladas na última safra (EMBRAPA, 2004a), destacando os estados de Mato Grosso e Paraná como os maiores produtores nacionais. Desta produção, somente 250 mil toneladas são destinadas à alimentação humana como óleo vegetal, e somadas todas as formas de consumo direto, calcula-se que o total seja em torno de 1% da produção brasileira de grãos (HASSE, 1996).

A soja possui em sua composição 38 a 45% de proteína, 21 a 23% de lipídeos, 34% de carboidratos, 5% de minerais, além de ser fonte das vitaminas E e K, podendo haver variações na composição com o genótipo e fatores climáticos (LIU, 1999).

As informações e divulgações acerca dos benefícios dos compostos bioativos presentes na soja como as isoflavonas, têm gerado aumento na demanda pelos produtos à base desta leguminosa, e o seu uso na alimentação humana tem sido cada vez mais recomendado por médicos e outros profissionais da área da saúde (MESSINA, 2004).

Apesar da importância da soja como fonte de nutrientes, a presença de substâncias antinutricionais termolábeis e de substâncias responsáveis pelo sabor e

odor característicos, influenciam negativamente seu valor nutricional. Porém, pesquisas têm sido realizadas para a obtenção de cultivares mais adaptáveis à alimentação humana, abrangendo caracteres específicos como sabor suave, altos teores e melhor qualidade de proteínas, reduzidos teores de ácido fítico, de fatores causadores de flatulência e de inibidores de tripsina (ARAUJO et al., 1997).

A utilização da soja na alimentação humana tem sido possível devido ao uso de processos tecnológicos resultando em produtos como "leite" de soja, "iogurtes", margarinas, farinha desengordurada, proteínas texturizadas usadas em produtos cárneos, em embutidos e em hamburques e como produtos fermentados (shoyu, misso, natto, tempeh e sufu) e não fermentados (tofu, kori-tofu, yuba e kinabo) (MORAIS e SILVA, 1996; LIU, 1999).

Entre estes produtos o "leite" de soja, tecnicamente denominado extrato protéico hidrossolúvel, contribui para a nutrição infantil, particularmente de crianças com intolerância ao leite bovino e a lactose, além de substituí-lo onde sua produção é insuficiente, contribuindo para a prevenção e correção da desnutrição infantil (WANG et al., 1997; DUTRA DE OLIVEIRA et al., 1966). Constitui, ainda, uma opção para consumidores preocupados com a saúde, que buscam os produtos de soja com a finalidade de diminuir riscos de diversas doenças crônicas e degenerativas, como auxiliar no tratamento do diabetes tipo II, osteoporose, hipertensão arterial e doenças cardiovasculares, bem como aliviar os sintomas da menopausa, podendo ainda ser utilizado por pessoas com indicação de ingestão de colesterol reduzido (ZEMEL e SHELEF, 1986).

O FDA (Food and Drug Administration) - EUA determinou o consumo diário de 25 g de proteína de soja, o que corresponde à aproximadamente 60 g de grãos, como parte de uma dieta com baixa ingestão de colesterol e ácidos graxos saturados, para controle dos

níveis de colesterol e triglicérides reduzindo, assim, os riscos de doenças cardíacas (ALIMENTOS, 2002).

O "leite" é, sem dúvida, um dos derivados da soja mais conhecido no Brasil, embora pouco consumido, porém com enorme potencial de utilização (ROSSI, 2000). Além de seu valor nutricional considerável apresenta como vantagem o seu baixo custo de produção, o qual é estimado em $\frac{1}{3}$ do leite de vaca. Porém, a comercialização sob diversas marcas em embalagens do tipo longa vida elevam o preço, não permitindo que a população, como um todo, se beneficie do consumo deste produto.

A Unidade de Produção e Desenvolvimento de Derivados da Soja - Unisoja- criada pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) – UNESP em parceria com a Prefeitura Municipal de Araraquara, atende com distribuição do "leite" cerca de 30 Instituições assistidas pela Secretaria de Assistência Social do Município e a aproximadamente 350 crianças intolerantes ao leite de vaca.

No entanto, enquanto cultivares de soja apropriados ao processamento do leite não estão efetivamente disponíveis no mercado, o tratamento térmico é um procedimento necessário. Embora, o processo tradicional de elaboração do "leite" tenha sido substituído por processos mais adequados pela Unisoja, a qualidade nutricional do produto merece ser avaliada a fim de certificar a eficiência do processamento na inativação de enzimas antinutricionais, bem como na qualidade da proteína, visando a oferta de um produto saudável à população.

Neste contexto, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a qualidade e rendimento do "leite" de soja produzido pela Unisoja -FCF/Unesp. Mais especificamente, visou verificar a eficiência do tratamento térmico sobre a inativação dos inibidores de tripsina e da lipoxigenase, e o efeito do processamento sobre o rendimento do processo e composição química do "leite".

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Inibidores de Tripsina

Os inibidores de tripsina são substâncias naturalmente presentes nos grãos de soja e são capazes de interferir na atividade proteolítica da tripsina in vitro e no trato intestinal do homem e animais. Estão amplamente distribuídas nos vegetais, particularmente entre as leguminosas, representando cerca de 0,2 a 0,3% do conteúdo total das proteínas dos grãos da soja. As funções fisiológicas atribuídas aos inibidores no vegetal incluem a manutenção da dormência, controle de proteínas endógenas e prevenção ao ataque de microrganismos e insetos predadores (LIENER e KAKADE, 1980).

Os inibidores de tripsina da soja são agrupados em duas famílias: a do inibidor de Kunitz e a do inibidor Bowman-Birk. O primeiro apresenta peso molecular de aproximadamente 24 kDa, contém 181 resíduos de aminoácidos, e duas pontes dissulfeto por molécula. É termolábil, contém altos teores de glicina e possui ação somente sobre a tripsina. O inibidor de Bowman-Birk é uma proteína com peso molecular de 8 kDa e contém sete pontes dissulfeto por molécula, as quais estabilizam a composição molecular necessária para a atividade biológica. Apresenta grande estabilidade ao calor, a ácidos e a álcalis. Contém altos teores de serina e apresenta capacidade para inibir a tripsina e a quimotripsina em sítios de ligações independentes (LIENER, 1994; SGARBIERI, 1996).

O efeito atribuído à ação dos inibidores de proteases da soja é a inibição do crescimento e alterações metabólicas do pâncreas, com aumento da secreção enzimática, hipertrofia e hiperplasia. A inibição da proteólise intestinal resulta no aumento de secreção das enzimas

digestivas as quais são eliminadas nas fezes, representando uma perda endógena importante de aminoácidos sulfurados. Esta perda endógena não pode ser compensada pela ingestão da proteína da leguminosa, aumentando assim o impacto nutricional dos inibidores na alimentação de animais monogástricos (LIENER, 1994).

Em geral, os produtos comerciais de soja recebem tratamento térmico de forma a apresentarem menos de 20% da atividade inibitória de tripsina da soja crua (LIENER, 1994).

2.2 Lipoxigenase

A presença da enzima lipoxigenase nos produtos à base de soja pode acentuar a instabilidade dos mesmos, resultando em aromas e sabor indesejáveis devido a hidroperoxidação de ácidos graxos e pela interação com proteínas. Os compostos voláteis formados são responsáveis pelo sabor herbáceo ou de feijão cru (*beany flavor*), de tinta (*painty flavor*) e de ranço e também afetam a cor e o valor nutritivo pelo decréscimo de ácidos graxos essenciais e teor de vitaminas. Os compostos não voláteis são responsáveis pelo sabor amargo e adstringente, os quais são formados por deterioração oxidativa de aminoácidos e por hidrólise enzimática (HSIEH et al., 1982; BALDINI et al., 1983).

Na soja crua, com baixo teor de umidade e sem danos físicos, não ocorre sabor desagradável, uma vez que a enzima e o substrato estão em compartimentos separados dentro do vegetal. No entanto, quando os grãos de soja são danificados na presença de umidade, a lipoxigenase começa a atuar catalisando a oxidação dos ácidos graxos insaturados, promovendo o desenvolvimento de sabores desagradáveis (ROHR, 1976).

Segundo GOOSSENS (1974), os constituintes de sabores semelhantes à erva são bastante complexos, podendo destacar o isopentanol, hexanol, heptanol, 1-octeno-3ol, hexanal, 2-heptenal, 2,4-decadienal, etilvinilcetona, e 4-vinil-guaicol. Nos produtos de soja, estes componentes nem sempre estão presentes.

HSIEH et al. (1982) identificaram a daidzeína, 7- β -o glicosídeo de gliciteína e genisteína como constituintes menores não voláteis, responsáveis pelo gosto amargo e adstringente.

A lipoxigenase é uma dioxigenase que contém o íon ferro em seu centro ativo, capaz de catalizar a reação inicial de hidroperoxidação dos ácidos graxos polinsaturados, que contenham grupos cis-cis 1,4 pentadieno (ESKIN, 1990; BELITZ e GROSCH, 1997; ARAÚJO, 2001).

Os ácidos linoleico e linolênico possuem esta estrutura e estão presentes na soja.

EVANGELISTA e REGITANO-D'ARCE (1997) isolaram 4 isoenzimas na soja denominadas lipoxigenases (LOX) 1, 2, 3a e 3b, sendo estas duas últimas consideradas muito similares. Correspondem a aproximadamente 1% da proteína presente nos grãos de soja, cuja função tem sido implicada na defesa contra insetos e agentes patógenos (SIEDOW, 1991).

A atividade da lipoxigenase em 51 genótipos da Índia foi avaliada por VINNET et al. (2002). A variação da atividade foi de 160 a 3192 e de 238 a 1406 unidades/g de proteína de soja para LOX 1 e para LOX 2 + 3, respectivamente.

A cinética de inativação térmica da lipoxigenase do grão de soja foi realizada por PAULA (1995). Para a inativação da LOX 1 foram necessários aquecimento a 100° C por 7 minutos. A LOX 3 não foi inativada em nenhum binômio tempo x temperatura utilizado.

2.3 "Leite" de Soja

O "leite" de soja, talvez, tenha sido elaborado pela primeira vez na China durante o século II a.C. (LIU,1999). Desde então, passou a ser consumido neste país, e com decorrer do tempo expandiu-se para o resto do mundo.

O extrato protéico ou "leite" é o produto obtido por extração aquosa dos sólidos solúveis dos grãos de soja, o qual consiste de uma suspensão de proteínas

e de carboidratos, de uma emulsão de lipídeos e de uma solução de alguns minerais. O "leite" de soja é altamente nutritivo e muito se compara ao leite bovino e humano em valores nutricionais (Tabela 1). Contém maiores quantidades em ferro, ácidos graxos insaturados e niacina, porém menores quantidades em gordura e cálcio. Destaca-se a ausência de lactose e colesterol (LIU, 1999).

Pesquisa realizada com crianças da idade pré-escolar em países desenvolvidos constataram que o simples consumo diário de aproximadamente um copo de "leite" de soja contendo 3% de proteína, pode suprir até 50% do consumo diário de proteína recomendado pela FAO-WHO. O "leite" de soja contém lisina em abundância que, quando servido ou combinado com cereais (que contém metionina) pode impulsionar a quantidade total de proteína utilizável para além de 30% (MARQUES, 2004).

Considerando a menor quantidade de cálcio no "leite" de soja em relação ao leite de vaca, CASÉ et al. (2005) desenvolveram um produto com adição de várias fontes de cálcio para atender 15% da IDR (ingestão diária recomendada). Observaram que a adição de fosfato tricálcico forneceu um "leite" mais adequado em termos sensoriais, apesar das perdas do mineral no processamento ter variado de 3 a 81%.

Tabela 1. Composição química do "leite" de soja, dos leites de vaca e humano por 100g.

| Componentes | "Leite" de Soja * | Leite de Vaca * | Leite Humano ** |
|---------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| Água (g) | 91,8 | 88,5 | 88,2 |
| Proteína (g) | 3,0 | 3,6 | 1,4 |
| Gordura (g) | 1,4 | 3,0 | 3,1 |
| Carboidrato (g) | 3,8 | 4,9 | 7,1 |
| Cinza (g) | 0,5 | 0,7 | 0,2 |
| Calorias | 38 | 61 | 61,9 |
| Minerais (mg) | | | |
| Cálcio | 15 | 123 | 35 |
| Fósforo | 30 | 96 | 25 |
| Ferro | 0,4 | 0,1 | 0,2 |
| Vitaminas (mg) | | | |
| Tiamina (B1) | 0,05 | 0,04 | 0,02 |
| Riboflavina (B2) | 0,04 | 0,18 | 0,03 |
| Niacina | 0,5 | 0,1 | 0,2 |
| Ácidos graxos (g)** | | | |
| Saturados | 40 - 48 | 60 - 70 | 55 |

| | | | |
|-----------------|---------|---------|--------|
| Insaturados | 52 - 60 | 30 - 40 | 45 |
| Colesterol (mg) | 0 | 9 - 10 | 9 - 19 |

Fonte: * DUTRA DE OLIVEIRA (1982), ** LIU (1999)

No Brasil, a introdução do "leite" de soja no mercado apresenta-se como uma alternativa para os intolerantes à lactose. SEVA PEREIRA (1996) mostrou que a má absorção de lactose do adulto (MLA) ocorre em 58 milhões de brasileiros (maiores de 15 anos), sendo que 37 milhões têm intolerância à lactose (IL). Destes, 10 milhões têm intolerância grave, que impede as atividades normais.

O "leite" de soja pode ser preparado para que tenha o mesmo teor em proteínas que o leite de vaca. Entretanto, o valor biológico das proteínas da soja (0,7) é inferior ao das proteínas contidas no leite (0,8), tendo-se como referencial as proteínas do ovo (1), reconhecidas como as de maior valor biológico. A Tabela 2 apresenta valores comparativos para a composição em aminoácidos essenciais do "leite" de soja com o leite de vaca.

Durante muito tempo, o "leite" de soja foi consumido apenas pelos orientais, acostumados com seu sabor característico. Depois da descoberta do seu valor nutritivo e da sua composição química, este passou a ser alimento alternativo por fornecer proteínas e nutrientes para pessoas de regiões onde o leite de vaca não é produzido em quantidade suficiente (WANG et al., 1997).

Tabela 2. Composição em aminoácidos essenciais (g/100g de proteína) do "leite" de soja e do leite de vaca.

| Aminoácidos Essenciais | "Leite" de Soja | Leite de Vaca |
|-------------------------|-----------------|---------------|
| Isoleucina | 8,1 | 7,5 |
| Leucina | 8,3 | 11,0 |
| Lisina | 6,2 | 8,7 |
| Metionina | 1,4 | 3,2 |
| Cistina | 1,7 | 1,0 |
| Sulfurados totais | 3,1 | 4,2 |
| Fenilalanina + Tirosina | 9,4 | 10,1 |
| Aromáticos totais | 9,0 | 11,5 |
| Treonina | 3,8 | 4,7 |
| Triptofano | 1,3 | 1,5 |
| Valina | 4,9 | 7,0 |

Fonte: GOMES e COELHO (1989)

A aceitação do "leite" de soja no mundo ocidental foi estimulada devido ao valor nutricional, a ausência de colesterol e lactose deste produto. O consumo deste produto vem crescendo desde o oriente ao ocidente e entre os mercados mais promissores estão: Brasil, México, Argentina, Nigéria e China. Segundo a EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, ainda não há dados estatísticos sobre o consumo e a produção brasileira deste tipo de "leite".

Em um estudo sobre a atitude do consumidor em relação a soja e produtos derivados, BEHRENS e DA SILVA (2004) observaram que o tofu e o "leite" de soja foram os produtos mais conhecidos e apreciados pelos entrevistados. Cerca de 8% reportaram consumir "leite" de soja com frequência igual ou superior a uma vez por semana. Conforme os autores, o consumo de "leite" de soja tem aumentado no Brasil em função de novos produtos à base de extrato hidrossolúvel de soja, em combinação com sucos de frutas, que vêm sendo comercializados com sucesso no mercado nacional, desde o final da década de 90.

Além da adição de saborizantes e/ou sucos de frutas, o desenvolvimento de produtos com mistura de "leite" vegetal tem sido proposto. DELIZA et al. (2001) elaboraram uma bebida à base de "leite" de soja e "leite" de castanha e observaram que as bebidas mistas, preparadas tanto com "leite" de soja hidrossolúvel quanto integral foram preferidas, em relação ao "leite" de soja puro.

Conforme especificações da Associação Brasileira Pró-Leite de Soja (PENNONE, 1989) tolera-se uma variação de mais ou menos 10% na composição química do "leite" de soja devido às grandes variações na composição dos grãos destinados à elaboração do produto. A Resolução 14/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA, 1978) estabeleceu padrão de identidade e qualidade para o extrato de soja o qual é definido como "produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico adequado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação, total ou parcial". A composição centesimal foi assim estabelecida: umidade máximo 93,0%, proteína mínimo 3,0%, lipídeos mínimo 1,0%, carboidratos máximo 2,8% e cinzas máximo 0,6%.

2.4 Processos de Fabricação do "Leite" de Soja

Por ter sido pioneiro na elaboração de "leite" de soja, o processo tradicional chinês tornou-se o alicerce para outros processos revolucionários que vieram aprimorar novas técnicas de fabricação. O processo tradicional consiste na maceração dos grãos durante à noite, e posterior lavagem e moagem com água na proporção 1:8. A massa obtida dessa mistura era filtrada, tendo como resíduo a polpa de soja (okara) e o filtrado ("leite" de soja). O "leite" obtido era fervido, pouco antes de servir (LIU, 1999), ou comercializado na forma pasteurizada (MIYASAKA e MEDINA, 1981). Usando este processo, obtinha-se um produto com sabor e aroma característico, quase inaceitável pelos ocidentais. Muitos estudos e trabalhos foram conduzidos na tentativa de eliminar este sabor e cheiro de feijão cru que prejudicavam sua aceitação.

Algumas modificações nos processos de fabricação surtiram efeitos, diminuindo o sabor e o aroma característicos. Tomando-se como base o sistema tradicional, destaca-se o processo desenvolvido por pesquisadores da Universidade de Cornell (EUA) no final da década de 60, o qual envolve a maceração dos grãos inteiros seguido da trituração em suficiente quantidade de água fervendo. Apesar dos problemas apresentados, como dificuldade para manter a temperatura acima de 80° C, além da perda de proteínas na etapa de filtração, o produto apresentou sabor bem mais suave do que aquele obtido no processo tradicional e nenhum dos compostos voláteis formados pela ação da lipoxigenase foi detectado (NELSON et al., 1991). O processo descrito por KHALEQUE et al. (1970) diferenciou-se do tradicional por submeter os grãos a uma maceração alcalina, tendo como aditivos o NaOH ou Na₂CO₃ e moagem com água quente (70°C) para melhorar o sabor.

No Brasil, o Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL desenvolveu, no início da década de 70, um processo similar ao de Cornell. A soja descascada e macerada por 90 minutos era moída com água e vapor à temperatura acima de 95° C por tempo suficiente para inativar os fatores antinutricionais. A fração solúvel era obtida por centrifugação (NELSON et al., 1991).

Visando a eliminação do sabor e odor desagradáveis do "leite", melhoria de outras características organolépticas e a produção em grande escala, novos métodos ou técnicas na elaboração do "leite" foram desenvolvidas. Entre eles pode-se citar *Rapid Hydration Hydrothermal Cooking, Methods using defatted soy material, Deodorization techniques and Commercial Methods* (LIU, 1999).

Atualmente, a Unisoja-FCF/Unesp utiliza procedimentos mais adequados, com controle térmico mais eficiente em substituição à maceração do grão que permitia a ação da lipoxigenase. Os grãos decorticados são imediatamente aquecidos a 97° C por 14 minutos, seguido de drenagem da água, trituração, centrifugação, adição de aditivos e saborizantes ao extrato, pasteurização e embalagem (UMBELINO, 1999), com padrões microbiológicos do "leite" obtido dentro dos vigentes no país (BENEDETTI, 2001).

Outros estudos também têm sido realizados no Brasil pela Embrapa Agroindústria de Alimentos, para melhoria da qualidade nutricional e sensorial dos extratos de soja, considerando variações no tempo de cozimento, concentração da solução de bicarbonato de sódio, separação ou não dos insolúveis e pressão de homogeneização, entre outros (CABRAL et al., 1997; FELBERG et al., 2003; TORREZAN et al., 2003).

Os procedimentos básicos atuais para obtenção dos extratos inclui o cozimento dos grãos de soja decorticados em solução de bicarbonato de sódio à ebulição, com a finalidade de amolecer os grãos e inativar a lipoxigenase, lavagem e drenagem da água de cozimento e trituração dos grãos cozidos em água em ebulição. O material desintegrado é centrifugado ou homogeneizado e posteriormente é realizado o processo de pasteurização.

Além do desenvolvimento de processos e equipamentos que permitam inativar as lipoxigenases, outras alternativas relativas ao sabor da soja tem sido propostas, como a obtenção, por meio de programas de melhoramento genético, de cultivares mais adaptadas para o consumo humano.

No processo de obtenção do extrato solúvel de soja tem-se um rendimento de cerca de seis a nove litros de "leite" por quilo de soja, resultando aproximadamente 700 g de resíduo (MORAIS e SILVA , 1966), denominado pelos orientais de "okara", o qual contém um teor expressivo de nutrientes, com 22% de proteína, 10,5% de lipídios, 27,5% de carboidratos, 36,4% de fibra insolúvel e 3,5% de cinzas (KHARE et al., 1995). Conseqüentemente, este produto não deve ser descartado, havendo inúmeras opções para o seu aproveitamento, apresentando-se como uma ótima alternativa para formulações de biscoitos, hambúrguer, bolos, doces e salgados (KHARE et al., 1995; LAROSA, 2003).

2.5 Efeito do Processamento na Qualidade do "Leite" de Soja

Independente da escolha do método de produção do "leite" de soja, as etapas do processo são os fatores determinantes no preparo do mesmo. Dentre elas estão a seleção da matéria-prima, a desintegração dos grãos, a absorção de água, a extração do "leite", o tratamento térmico e formulação. O processamento, de alguma forma, pode influenciar a composição, o rendimento, as características organolépticas, a cor, as atividades da lipoxigenase e dos inibidores de tripsina, a digestibilidade e a solubilidade das proteínas.

2.5.1 Seleção da cultivar

A seleção da cultivar de soja é importante, pois a variação genética tem efeito na qualidade do produto elaborado.

A Embrapa Soja, através de programas de melhoramento genético, obteve a cultivar BRS 213, na qual encontram-se ausentes as enzimas lipoxigenases em sua formas ativas e a cultivar UFVNC-106 obtida por genes que determinam a ausência do inibidor de tripsina Kunitz. Além da ausência das LOX 1, LOX 2 e LOX 3, a cultivar BRS 213 possui hilo amarelo claro sendo, recomendada para alimentação humana, uma vez que propicia a obtenção de derivados de soja com sabor mais adequado ao paladar do brasileiro e melhor aparência, principalmente com relação à cor dos produtos como "leite" de soja, tofu, farinha, dentre outros (ALMEIDA et al., 2002).

Vários trabalhos experimentais conduzidos na Universidade Federal de Viçosa, constataram a existência de variedades de soja com baixo teor de lipoxigenase, bem como de variedades com ausência de uma ou mais forma desta enzima. As variedades brasileiras que apresentam teores mais baixos de lipoxigenase são BR-5, Biloxi, Prata, Bienville e Planalto (GOMES e COELHO, 1989).

A avaliação sensorial de extrato de soja produzido com genótipos Cristalina sem LOX 1, Cristalina sem LOX 3 e Cristalina sem LOX 2 e 3 foi realizada por GOMES et al. (1995). Concluíram que o extrato obtido com o genótipo livre de LOX 1 apresentou o pior resultado, com sabor mais acentuado de feijão cru.

O efeito da localização geográfica e do clima nas atividades dos inibidores de tripsina e da lipoxigenase para 7 cultivares de soja foi investigado por VINNET et al.

(2003). As atividades foram fortemente influenciadas pela latitude e pelo genótipo, sendo que os valores mais altos para lipoxigenase foram observados para os locais mais frios, enquanto para inibidores de tripsina não foram observadas variações locais.

A qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina Kunitz (KTI) e das isoenzimas lipoxigenases (LOX) foi avaliada por MONTEIRO et al. (2004). A qualidade protéica das farinhas foi determinada por ensaios biológicos com ratos, por meio de NPR (razão protéica líquida), PER (razão da eficiência protéica), NPU (utilização protéica líquida) e da digestibilidade. Observaram que os valores obtidos para os parâmetros avaliados foram semelhantes para as linhagens de soja (presença de LOX e/ou KTI) e inferiores aos obtidos para a caseína. Observaram, também, que a eliminação genética de KTI, embora tenha melhorado a digestibilidade da proteína, não resultou em efeitos benéficos para promover retenção de N e crescimento de ratos recém-desmamados.

2.5.2 Decorticação

Antes do processamento deve-se avaliar a operação de decorticação, ou seja, remoção da casca dos grãos. Esta operação tem sido um ponto de polêmica entre vários pesquisadores.

Conforme WOLF e COWAN (1975) a casca contribui com 8% do peso total do grão, e sua remoção resultou em perda de 2,5% de proteína. Entretanto, BANKHEAD et al. (1978) observaram que o branqueamento da soja decortificada favoreceu um incremento de 3,7 a 5,2% de proteína, em consequência da perda de carboidratos solúveis na água.

Para alguns autores a decorticação melhora o sabor do produto final (FERREIRA et al., 1974; SHURTLEFF, 1981), diminui o tempo de maceração dos grãos e reduz o teor de oligossacarídeos do "leite", devido às maiores perdas destes compostos na água de maceração (ZANGELMI et al., 1981). Aos oligossacarídeos rafinose e estaquiose têm-se atribuído os distúrbios digestivos, como flatulência (RACKIS et al., 1970) e a redução dos seus teores no "leite" de soja melhora a digestibilidade (ZANGELMI et al., 1981). A remoção da casca promove, também,

uma diminuição na carga microbiológica inicial do grão, favorecendo a conservação do produto (ZANGELMI et al., 1981).

De acordo com NELSON et al. (1991) a decorticação é necessária, pois o "leite" proveniente de grãos inteiros apresenta-se muito viscoso devido as fibras da casca.

A parte axial do grão possui mais alta concentração de ácidos graxos insaturados e isoflavonas do que no cotilédone. Deste princípio, TSUKAMOTO et al. (1991) deduziram que a redução do sabor ruim pela decorticação era resultado da remoção do hipocotiledone axial no decorrer deste processo. A partir destas conclusões desenvolveram um método que consiste na retirada da pele da casca do grão de soja e frações do hipocotilédone para a elaboração do "leite" de soja. Como resultado deste processo teve-se um produto com melhor característica organoléptica.

A decorticação beneficia o produto final, se o intervalo de tempo entre este procedimento e a moagem for mínimo possível, com tempo ótimo de aquecimento, ausência de água e com mínimo possível de danificação do cotilédone (LIU, 1999). Entretanto, o risco da decorticação é muito grande, pois pode ocorrer danificação do cotilédone, levando a liberação de enzimas oxidativas, tais como a lipoxigenase e seus substratos. Desse modo, estas enzimas estarão ativas para a subsequente maceração, e levar a perda da qualidade das características organolépticas do produto final. MELLO (1992) recomendou a utilização de grãos inteiros para a obtenção do "leite" de soja por apresentar maiores rendimentos em sólidos totais, proteína e de processo.

MONTEIRO et al. (2004) prepararam farinha a partir de grãos de quatro genótipos de soja selecionados para LOX e KTI. Os grãos lavados sofreram tratamento térmico de 89° C por 5 minutos em calor seco para facilitar a retirada da casca. Em seguida, foram quebrados em moinho de martelo e as cascas separadas com o uso de peneira de abanar. A moagem dos grãos quebrados resultou nas farinhas de soja, as quais foram avaliadas quanto a qualidade protéica em dietas para ratos recém-desmamados por meio das determinações PER, NPR e NPU. Observaram que os animais tiveram desempenho inferior ao da proteína-padrão caseína, em consequência da deficiência de alguns aminoácidos essenciais na proteína da soja, o que limita a sua utilização para síntese protéica.

2.5.3 Maceração e moagem dos grãos

A maceração, ou seja, incorporação de água ou hidratação dos grãos, tem como objetivos reduzir a força requerida para a desintegração, diminuir o tempo de aquecimento, aumentar o rendimento do extrato solúvel, e aumentar a capacidade de dispersão e suspensão de sólidos durante a extração. A desvantagem inclui a perda de sólidos solúveis na solução de maceração.

A adição de bicarbonato de sódio, citrato de sódio ou hidróxido de sódio na água de maceração tem mostrado um efeito satisfatório na qualidade do "leite", uma vez que o uso de condições alcalinas na etapa de maceração impede a ação da lipoxigenase (CABRAL e MODESTA, 1981). Por outro lado, os sais alcalinos poderão destruir alguns nutrientes durante o processo, incluindo aminoácidos sulfurados e algumas vitaminas, possibilitando a redução da qualidade nutricional do "leite" de soja.

O objetivo da moagem é romper o tecido ao nível celular e subcelular, para a liberação das proteínas, lipídeos e sólidos solúveis do grão. A moagem poderá ser realizada na presença de água adicionada de sais alcalinos como na maceração, os quais promoverá o abaixamento do pH e a liberação de íons no extrato solúvel.

Dependendo do processo de produção, a moagem dos grãos macerados ou grãos secos poderá ser com água quente ou fria, em moinhos a martelo, de pedra entre outros.

WANG (1986) verificou que "leite" de soja proveniente de grãos macerados (1:9) e submetidos à radiação em microondas apresentou menores teores de sólidos totais (4,00 a 5,87%), de proteína (2,34 a 3,27%) e de matéria graxa (1,2 a 1,68%), em comparação ao "leite" obtido com grãos não tratados.

O efeito da maceração em soluções de bicarbonato de sódio e hidróxido de sódio na redução do *beany flavour* em "leite" de soja foi verificado por ELDRIGE et al. (1977). Os grãos de soja foram lavados, macerados em soluções alcalinas de diferentes concentrações, decorticados por fricção em uma superfície rugosa e moídos. A suspensão foi aquecida por 30 minutos e, então, filtrada. Os resultados mostraram que as soluções utilizadas na maceração dos grãos foram efetivas para redução no sabor ruim do "leite" obtido.

Após a moagem do grão o "leite" de soja pode ser extraído com ou sem aquecimento. A extração pode ser feita por filtragem através de peneira, ralo, tela, prensagem da mistura ou por centrifugação.

A eficiência da extração dependerá da pressão de extração, tempo de prensagem, precisão do filtro, tamanho das partículas da mistura, temperatura da mistura, reextração dos sólidos do resíduo (okara) e tipo de equipamento. A separação dos sólidos insolúveis suspensos no "leite" por centrifugação, pode proporcionar maior rendimento do que com a filtração.

2.5.4 Tratamento térmico

O tratamento térmico durante o processamento do "leite" de soja é necessário para inativar os fatores antinutricionais como os inibidores de tripsina e lectinas, desnaturar as proteínas para torná-las mais digeríveis, aumentar a vida útil do produto, facilitar a extração do "leite" e inativar a enzima lipoxigenase.

Vários procedimentos foram propostos para inativação dos inibidores de tripsina combinando-se tratamentos térmicos e químicos.

O efeito ácido e básico sobre a inativação da lipoxigenase e do inibidor de tripsina foi investigado por Che Man et al. citado por LIU (1999). Verificaram que o tratamento térmico de grãos de soja moídos em condições ácidas removeu apenas 60% da atividade dos inibidores de tripsina. Entretanto, a moagem ácida dos grãos em pH inferior a 3, sem aquecimento, foi efetivo para total inativação da lipoxigenase.

KWOK et al. (1993) observaram que o aquecimento em condições alcalinas causou mais rápida destruição da atividade dos inibidores de tripsina, pois favoreceu o rompimento das ligações dissulfeto, as quais são importantes para a estabilidade dos mesmos.

A combinação de processos (temperatura e pH) para a inativação dos inibidores de tripsina foi avaliada por KWOK et al. (1993). Observaram que as porcentagens de inativação foram menores a pH 2 do que a pH 6,5 quando o "leite" foi aquecido a 121° C e 132° C. Com o aumento da temperatura para 143° C e 154° C o pH teve pouco efeito na porcentagem de inativação, indicando que o pH não é tão efetivo para destruição térmica dos inibidores de tripsina em temperaturas muito elevadas. O tempo requerido para inativar 90% da atividade dos inibidores no "leite"

a pH 6,5 quando aquecidos a 93, 143 e 154° C foi de 60 minutos, 56 e 23 segundos, respectivamente. Sugeriram que o aquecimento prolongado a altas temperaturas pode destruir lisina, aminoácidos sulfurados e vitaminas. Aconselharam inativar os inibidores de tripsina no "leite" de soja a temperaturas mais baixas (100° C) antes do processo UHT.

A avaliação da atividade inibitória de tripsina em produtos comerciais de soja consumidos pela população brasileira foi realizada por GENOVESE e LAJOLO (1998). Observaram que as fórmulas não lácteas à base de soja, para os intolerantes à lactose apresentaram valores em torno de 5% da atividade inibitória de tripsina da farinha de soja desengordurada, enquanto que para as bebidas à base de extrato de soja os valores foram 30% e 18,3%.

A utilização de solução alcoólica em associação ao tratamento térmico foi proposto como método alternativo para inativação das atividades da lipoxigenase e inibidores de tripsina. BORHAN e SNYDER (1979) notaram que usando solução etanólica na concentração de 15 a 45% e temperaturas de aquecimento de 40 a 60° C, a combinação destas condições foi suficiente para inativar a lipoxigenase e inativar parcialmente a atividade do inibidor de tripsina.

O tratamento térmico tem-se mostrado bastante eficiente para a inativação dos inibidores de tripsina quando grãos inteiros são aquecidos, mas o efeito é reduzido ou mesmo ineficiente quando se trata da farinha ou inibidores purificados. Neste contexto, CARVALHO e SGARBIERI (1997) e RAYAS-DUARTE et al. (1992) verificaram que a estabilidade dos inibidores frente ao tratamento térmico é mínima nos grãos, média na farinha e máxima no extrato aquoso quando aquecidos em banho-maria a 97° C. Este fato sugere que a inativação é causada pela interação entre o inibidor de tripsina e proteínas, polissacarídeos e ácidos nucléicos presentes no grão (TSUKAMOTO et al., 1983).

O emprego da radiação por microondas, como fonte de aquecimento de grão macerados, na inativação da lipoxigenase e inibidores de tripsina foi avaliado por WANG (1986). Verificou que o aumento da umidade inicial do grão (8,7% a 56,81%) resultou num incremento da velocidade de inativação da lipoxigenase e dos inibidores de tripsina. Observou, também, que o "leite" de soja provenientes de grãos

com 8,7% de umidade inicial, expostos ao aquecimento em microondas (2450 MHz) por 240 segundos apresentou-se nutricionalmente superior aos demais "leites" estudados. Concluiu que o aquecimento dos grãos em microondas, para posterior elaboração do "leite", apresenta-se como um processo adequado para inativação da lipoxigenase.

A digestibilidade tem sido utilizada como base na estimativa da qualidade da proteína, pois relata a biodisponibilidade dos aminoácidos que foram digeridos e absorvidos pelo organismo humano ou de animais. O tratamento térmico tem efeito sobre a digestibilidade da proteína em consequência das mudanças na estabilidade estrutural. Induz o rompimento das estruturas terciárias e quaternárias facilitando a ação enzimática, sem contudo, causar grandes alterações na estrutura secundária, pois poderia diminuir a hidrólise dos aminoácidos, tornando-os menos disponíveis (DESPHANDE, 1992).

Khaleque et al. citado por NELSON et al. (1991) verificaram o efeito do tratamento térmico na hidrólise enzimática das proteínas do "leite" de soja pela enzima tripsina, preparado com grãos pré-macerados com solução de bicarbonato de sódio ou água. Em temperatura de 98° C a hidrólise da proteína foi maior (19%) para o "leite" preparado com grãos macerados com solução alcalina e, em temperatura de 115° C a digestibilidade das proteínas do "leite" obteve valor semelhante.

O efeito da umidade inicial e o tempo de exposição à radiação em microondas sobre o índice de solubilidade do nitrogênio em grãos de soja foi estudado por WANG (1986). Os resultados obtidos mostraram que a produção de calor provocou a desnaturação das proteínas, com a consequente diminuição no índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja, sendo o decréscimo mais acentuado para os grãos com maior teor de umidade inicial. Como justificativa para este fato sugeriram a maior absorção de energia pelo produto úmido durante a exposição à radiação e, conseqüentemente, um aquecimento mais intenso.

Com a finalidade de maximizar o rendimento e a qualidade protéica do "leite" de soja WANG et al. (1997) otimizaram o preparo, variando a proporção de soja:água e o processo de aquecimento. Verificaram que o "leite" obtido de grãos desintegrados em liquidificador na proporção soja:água 1:10 e autoclavados a 121° C por 5 minutos após coagem, resultou em maior rendimento de proteína, total

inativação dos inibidores de tripsina, boa digestibilidade *in vitro* da proteína (86,4%) e alto valor de metionina disponível (1,22g/16g de N).

O máximo valor nutritivo, expressado pela digestibilidade *in vitro* e composição em aminoácidos do "leite" de soja pode ser conseguido pela fervura dos grãos de soja desintegrados por 10 a 15 minutos, com o uso da proporção soja:água 1:10, conforme indicação de Watanabe et al. citados por WANG e HESSELTINE (1982). SIKKA et al. (1978) sugeriram que a melhoria observada na digestão enzimática *in vitro* da proteína da soja autoclavada, comparada com a crua, pode ser devido à desnaturação do inibidor de tripsina durante o aquecimento.

KAJISHIMA et al. (2002) avaliaram o efeito do processamento no rendimento e qualidade sensorial de "leite" de soja. Estudaram variações no tempo de cocção dos grãos de soja descascados por 2, 4, 6, 8 e 10 minutos em solução de bicarbonato de sódio a 0,5%. Os resultados mostraram que os rendimentos em volume para 1Kg de soja variaram de 4100 mL a 4450 mL de "leite". Concluíram que o aquecimento por 6 minutos foi o mais adequado por ser operacional e economicamente mais vantajoso.

De acordo com as recomendações da EMBRAPA (2004b) os grãos decorticados nunca devem ser macerados em água fria antes de iniciar o preparo do "leite", a fim de se evitar a formação de compostos responsáveis pelo sabor exótico dos grãos. Estes devem ser submetidos ao choque térmico em água fervente alcalinizada, processo também denominado de branqueamento, cujas funções são a hidratação dos cotilédones e inativação da lipoxigenase. Além destas funções ajuda na limpeza dos grãos e, reduz os oligossacarídeos tais como rafinose e estaquiose que causam flatulência.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

A matéria prima utilizada no preparo do "leite" foi grãos de soja (*Glycine max* L. Merrill) cultivar Foscarim, fornecida pela Prefeitura Municipal de Araraquara. Foram analisados o "leite" de soja natural e saborizado da Unisoja e duas marcas comerciais de "leite" de soja UHT adquiridas no mercado varejista da cidade de Jaboticabal/SP.

3.2 Métodos

3.2.1 Preparo do "leite" de soja

Os grãos de soja cru e integral, após pesagem foram transferidos para o descascador e quebrador de grãos. Os grãos decorticados e quebrados foram colocados em dois cestos de aço inoxidável e submetidos ao tratamento térmico, com banho de imersão em 43 litros de água a 97° C por 7 minutos, para ocorrer o cozimento dos mesmos. Transcorrido este tempo o termostato de aquecimento foi desligado e o material permaneceu no tanque por mais 7 minutos. Após os 14 minutos de permanência no banho, os cestos foram retirados dos tanques possibilitando a drenagem da água e a transferência dos grãos para caixas plásticas. Ao material foi adicionado antiespumante comercial (Gustaka Comercial Ltda) e colocados na Unidade Básica de Extração com temperatura controlada a 60° C, sendo então transportados por uma rosca sem fim até a faca de trituração. O material triturado foi centrifugado e o extrato solúvel resultante ("leite" de soja natural) foi filtrado em tela de nylon de 120 micras. Ao extrato solúvel foi adicionada a calda preparada com açúcar, bicarbonato de sódio, ácido cítrico, sal e essência, dissolvidos em água quente, produzindo o "leite" de soja saborizado. A pasteurização ocorreu em pasteurizador de tubo com aquecimento a 120° C, seguido de resfriamento até 5° C. O "leite" foi embalado em filme de polietileno, próprio para produtos lácteos, esterilizados com luz ultra violeta, contendo cada unidade, em média, 150 mL de "leite". Após este procedimento, o material foi acondicionado em sacos plásticos contendo 50 unidades cada um e o peso foi aferido em balança com precisão de duas casas decimais. O armazenamento ocorreu em câmara fria a 5° C até o momento de distribuição.

O resíduo da obtenção do extrato solúvel denominado de "okara" foi pesado, para determinação do rendimento do processamento.

Foram realizados três processamentos, utilizando respectivamente, 130, 100 e 90 Kg de soja. A seqüência tecnológica para a obtenção do "leite" de soja natural e saborizado está apresentada na Figura 1.

Matéria-prima
(grão de soja integral)

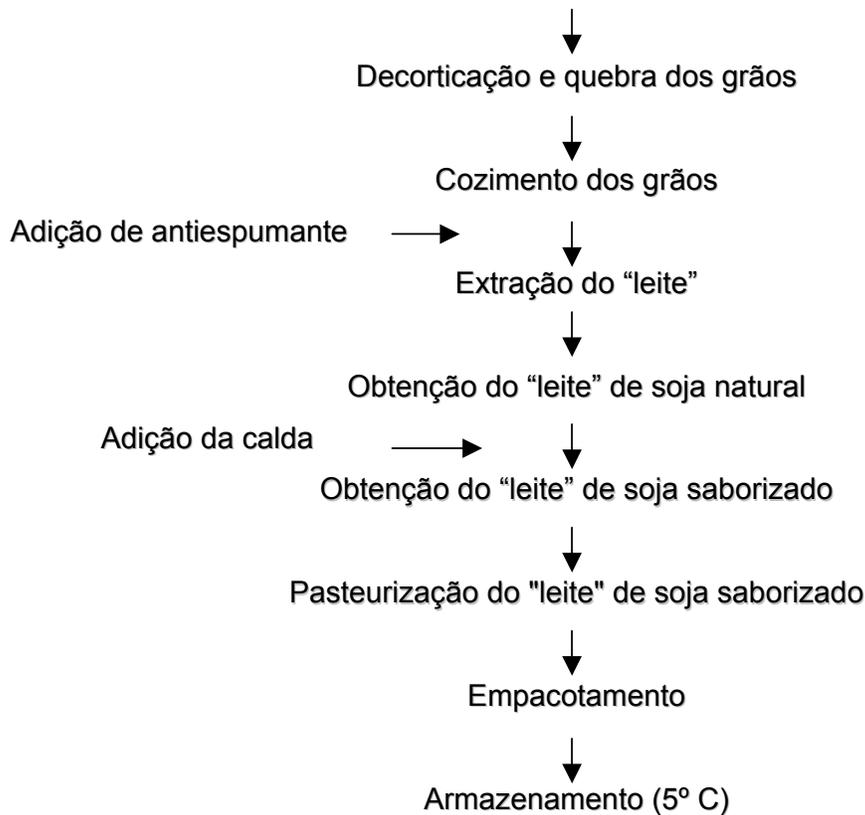


Figura 1. Seqüência tecnológica para a obtenção do "leite" de soja pela Unisoja.

3.2.2 Colheita e preparo das amostras.

Grãos de soja integral e decorticados

As amostras dos grãos de soja integral e decorticados foram acondicionadas em embalagens plásticas. Os grãos foram moídos em moinho de faca até granulometria de 70 mesh e a farinha obtida foi armazenada, sob refrigeração, até o momento de uso.

Grãos de soja tratados termicamente

A colheita das amostras procedeu-se durante os 14 minutos de permanência no banho de imersão, com intervalo de um minuto entre as amostragens. As amostras colhidas, após drenagem da água, foram transferidas para dois frascos de vidro e rapidamente resfriadas em banho de gelo. As amostras foram transportadas

em caixas isotérmicas contendo gelo moído para o Departamento de Tecnologia da Unesp- Jaboticabal, onde uma parte foi liofilizada, desengordura e moída até a granulometria de 70 mesh. A farinha assim preparada foi submetida à extração da proteína com água, obtendo-se o extrato aquoso o qual foi utilizado para os ensaios de inativação térmica das atividades dos inibidores de tripsina e para determinação do índice de solubilidade do nitrogênio. As amostras não liofilizadas foram utilizadas para avaliação do teor de umidade.

"Leite" de soja saborizado

As amostras de "leite" de soja saborizado (10 unidades com 150 mL cada) foram colhidas durante o início, meio e final da etapa de embalagem, totalizando 30 unidades para cada processamento. As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo moído para o Departamento de Tecnologia da Unesp- Jaboticabal.

3.2.3 Análises físicas e químicas

Composição centesimal da farinha dos grãos de soja

As porcentagens de umidade, proteína, lipídeos e cinzas das amostras da farinha do grão integral e do decorticado e do teor de umidade dos grãos tratados termicamente foram determinadas conforme as normas da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995).

- Umidade - O teor de umidade das amostras foi determinado pela secagem em estufa a 105° C até peso constante.
- Proteína - O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método semi-micro Kjeldhal, utilizando-se o fator 6,25 para a obtenção do teor de proteína total.
- Lipídeos- A determinação do teor de lipídeos foi realizada pelo técnica de Soxhlet usando éter de petróleo como material extrator.
- Cinzas - A porcentagem de cinza foi determinada pela incineração em mufla a 550° C.

- Carboidrato - Determinado por diferença entre os constituintes sólidos (proteína, lipídeos e cinzas) e umidade.
- Índice de solubilidade do nitrogênio (ISN) - O nitrogênio solúvel foi determinado no extrato aquoso das amostras dos grãos tratados termicamente (AOAC, 1995) e calculado pela relação:

$$\text{ISN} = (\% \text{ nitrogênio solúvel em água} / \% \text{ nitrogênio total do grão}) \times 100$$

Determinações analíticas no "leite" de soja

- Densidade - Obtida pela relação entre massa e volume de "leite" produzido em cada processamento.
- Umidade, proteína e cinza - Determinadas conforme especificações da AOAC (1995).
- Lipídeos- A porcentagem de lipídeos no "leite" foi determinada pelo método Soxhlet conforme Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985)
- Carboidrato - Determinado por diferença entre os constituintes sólidos (proteína, lipídeo e cinzas) e umidade.
- Rendimento do processo - Calculado considerando-se o peso da soja utilizada e o peso do "leite" saborizado obtido em cada processamento.
- Rendimento de extração de sólidos totais, proteína e lipídeo - Calculado a partir dos valores de sólidos totais, proteína e lipídeo no "leite" saborizado e no grão e a quantidade de "leite" produzido (em peso) (TURATTI et al., 1979):

$$\text{Rendimento} = \text{peso do "leite"} \times \% \text{ do componente no "leite"} / \% \text{ do componente no grão}$$

3.2.4 Análises bioquímicas nas amostras de grãos e "leite" de soja.

Atividade dos inibidores de tripsina

A atividade dos inibidores frente à tripsina no extrato aquoso de amostras de grãos de soja crus e tratados termicamente e de "leite" de soja foi determinada utilizando-se o N α -benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) como substrato para a tripsina, conforme o procedimento descrito por KAKADE et al. (1969).

Alíquotas do extrato aquoso e do "leite" de soja de 0,2 a 1,0 mL foram pipetadas em triplicata, e o volume final ajustado para 1,0 mL com tampão Tris 50mM, pH 8,2, contendo CaCl_2 20 mM. A cada tubo, previamente acondicionado em banho-maria a 37° C, foi adicionado 1 mL da solução de tripsina (0,11 mg/mL de HCl 0,001N) e após 10 minutos, 7,0 mL de BAPNA (0,3mg/mL de tampão Tris 50 mM, pH 8,2 contendo CaCl_2 20 mM), previamente aquecidos a 37° C. A reação foi interrompida após 10 minutos pela adição de 1,0 mL de ácido acético a 30%. A absorbância foi determinada a 410 nm, contra o branco, ao qual se adicionou o ácido acético antes do BAPNA. Uma Unidade de Tripsina (UT) foi arbitrariamente definida como o aumento de 0,01 unidade de absorbância a 410nm por 100 mL do meio de reação. Os resultados foram expressos como Unidades de Tripsina Inibida (UTI) por miligrama de farinha. A atividade residual das amostras tratadas termicamente foi calculada considerando-se como 100% a atividade dos inibidores de tripsina na farinha dos grãos de soja decorticados

Atividade da lipoxigenase

A extração da lipoxigenase foi realizada pela suspensão de 20 mg de amostras de farinha de grãos de soja crus e tratados termicamente em tampão tris-HCl 0,05M pH8,0 contendo 20 mM CaCl_2 , repouso a 4°C com agitação ocasional e centrifugação a 2000xg por 15 minutos (KIKUCHI e KITAMURA, 1987). O sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade da lipoxigenase.

A atividade da lipoxigenase foi determinada no extrato obtido de amostras de grãos de soja crus e tratados termicamente e de "leite" de soja usando-se como substrato o ácido linoleico, conforme o método descrito por AXELROD et al. (1981).

O substrato foi preparado a partir de uma solução estoque de linoleato de sódio 10 mM como se segue: em um erlenmeyer envolvido por papel alumínio contendo aproximadamente 10 mL de água deionizada, previamente fervida, foram adicionados 78 μL de ácido linoléico e 90 mL de Tween 20. Em seguida, homogeneizou-se a solução com auxílio de uma pipeta automática para evitar a formação de bolhas. O clareamento da solução foi feito adicionando-se gotas de hidróxido de sódio 0,5N. Após o clareamento, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL, envolvido por papel alumínio e o volume foi aferido. A

solução estoque de linoleato de sódio foi armazenada em tubos de plástico de 1 mL, envolvidos em papel alumínio e armazenados a -20° C.

As atividades da lipoxigenase foram avaliadas em uma solução de 1,0 µL de extrato aquoso e de "leite" de soja e 3,0 µL da solução estoque de linoleato de sódio em 1,0 mL de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 6,5. A absorbância da mistura de reação foi determinada de 30 em 30 segundos, a 234 nm, por períodos de 2,0 minutos; condições válidas também para o branco, que consistiu da mesma quantidade de substrato e tampão. As velocidades iniciais, determinadas pela medida de absorção a 234 nm em função do tempo, foram obtidas utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 25.000 M⁻¹cm⁻¹ para o produto formado. Determinou-se o aumento da absorbância a 234 nm, resultante da formação de um sistema de duplas ligações conjugadas no hidroperóxido formado. Os resultados foram expressos em ηmol/min/mg de proteína. A atividade residual da lipoxigenase das amostras tratadas foi calculada considerando-se como 100% a atividade enzimática na farinha dos grãos de soja decorticados.

A quantificação do teor de proteína no extrato aquoso foi realizada pelo método de HARTREE (1972)

Digestibilidade *in vitro* da proteína

A digestibilidade *in vitro* foi determinada segundo a metodologia proposta por AKERSON e STAHPMAN (1964), a qual utiliza um sistema enzimático composto por pepsina-pancreatina e o ácido tricloroacético (TCA) para a precipitação das proteínas não hidrolisadas.

Alíquotas das amostras da farinha de grãos decorticados e de "leite" de soja foram incubadas com pepsina por 3 horas a 37° C, sob agitação constante. A reação foi interrompida pela adição de NaOH 0,1N e as amostras foram, então, incubadas a 37° C por 24 horas com pancreatina, sob agitação constante.

Após o período de incubação as proteínas remanescentes foram precipitadas pela adição de TCA. Após centrifugação por 20 minutos a 12000xg, alíquotas do sobrenadante, filtradas em papel Whatman n° 2, foram utilizadas para a determinação do nitrogênio total no hidrolisado pelo método semi-micro Kjeldahl (AOAC, 1995).

Relacionando-se o nitrogênio total da amostra do grão integral com o nitrogênio contido no hidrolisado, calculou-se a digestibilidade pela equação:

$$\text{Digestibilidade (\%)} = (\text{Nitrogênio digerido} / \text{Nitrogênio total}) \times 100$$

3.3 Análise Estatística

Os valores obtidos para a porcentagem de umidade e índice de solubilidade dos grãos tratados termicamente, da atividade dos inibidores de tripsina e da atividade da lipoxigenase possibilitaram a construção dos gráficos, utilizando o programa SAS (1995).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição Centesimal dos Grãos de Soja

Os valores obtidos para os componentes do grão de soja integral e decorticado estão apresentados na Tabela 3.

Os grãos de soja integral apresentaram altos teores de proteína (36,23%) e de lipídeos (18,67%), os quais evidenciaram composição similar em relação às determinações realizadas por FRANCO (1996) e LIU (1999) para esta leguminosa. A remoção da casca, que é constituída basicamente por fibras, favoreceu um pequeno

incremento nos teores de proteína (3,9%) e lipídeos (8,68%) e redução de 8,36% nos valores para carboidratos.

Tabela 3. Valores médios e desvios padrão para a composição centesimal de amostras de farinha de soja de grão integral e decorticado.

| Componentes (%) | Grão integral | Grão decorticado |
|-----------------|---------------|------------------|
| Umidade | 8,92 ± 0,04 | 9,01 ± 0,01 |
| Matéria seca | 91,08 ± 0,05 | 90,99 ± 0,03 |
| Proteína | 36,23 ± 0,52 | 37,34 ± 0,21 |
| Lipídeos | 18,67 ± 0,10 | 20,29 ± 0,11 |
| Cinzas | 4,97 ± 0,13 | 4,76 ± 0,05 |
| Carboidratos | 31,21 ± 0,09 | 28,60 ± 0,06 |

Dentre as etapas básicas para elaboração do "leite" de soja tem-se a decorticação dos grãos. Para alguns autores este procedimento é necessário para obtenção de produto com melhores qualidades organolépticas, nutricionais e microbiológicas (ZANGELMIN et al., 1981; TSUKAMOTO et al., 1991).

Devido ao alto valor nutritivo e baixo custo, a soja tem sido uma importante matéria-prima para produção de derivados alimentícios, uma excelente alternativa para nutrição humana em geral, particularmente para pessoas impossibilitadas de consumir produtos de origem animal (ERICKSON, 1995). Por muitos anos, o seu consumo esteve associado à alimento para animais ou como fonte protéica barata para alimentação de populações desnutridas e/ou de baixa renda.

4.2 Tratamento Térmico e Teor de Umidade dos Grãos

Após a decorticação e a quebra dos grãos os mesmos foram submetidos ao tratamento térmico (imersão em água por 14 minutos, com temperatura inicial de 97^o C e final 86^o C). Os resultados obtidos para a porcentagem de umidade dos grãos decorticados estão apresentados na Tabela 4.

Observou-se um aumento de 4,41 vezes, em relação à porcentagem inicial, no teor de umidade dos grãos no primeiro minuto de tratamento térmico (97^o C), de

5,57 vezes aos 7 minutos (90^o C), atingindo valor de 55,24% de umidade (6,13 vezes) aos 14 minutos de imersão em água (86^o C) dos grãos decorticados.

Os resultados obtidos por MELLO (1992) mostraram que para os grãos de soja decorticados a velocidade de absorção de água foi maior do que para grãos inteiros (com casca), com absorção de 100% de água, em relação ao peso inicial, após 2 e 6,5 horas de maceração, respectivamente. Observou, também, que independentemente dos grãos serem inteiros ou descascados, essa velocidade foi maior para os grãos que receberam o choque térmico (imersão em água em ebulição por 0,5 minuto) antes da maceração, o que confirma as observações feitas por WILKENS e HACKLER (1969) de que a casca e a temperatura influenciam na velocidade de absorção de água de grãos de soja.

Tabela 4. Valores médios e desvios padrão para a porcentagem de umidade dos grãos decorticados durante o aquecimento em água por 14 minutos.

| Temperatura (° C) | Tempo aquecimento (min.) | Umidade (%) | Água absorvida (n° vezes) |
|-------------------|--------------------------|--------------|---------------------------|
| - | 0 | 9,01 ± 0,01 | 0 |
| 97 | 1 | 39,77 ± 2,73 | 4,41 |
| 96 | 2 | 41,07 ± 1,65 | 4,56 |
| 95 | 3 | 43,43 ± 0,80 | 4,82 |
| 93 | 4 | 46,59 ± 1,01 | 5,17 |
| 91 | 5 | 48,79 ± 1,07 | 5,41 |
| 90 | 6 | 49,11 ± 1,65 | 5,45 |
| 90 | 7 | 50,22 ± 1,13 | 5,57 |
| 88 | 8 | 50,44 ± 0,90 | 5,60 |
| 87 | 9 | 50,88 ± 0,44 | 5,65 |
| 87 | 10 | 51,33 ± 1,05 | 5,70 |
| 86 | 11 | 54,17 ± 0,30 | 6,01 |
| 86 | 12 | 54,32 ± 0,79 | 6,03 |
| 86 | 13 | 54,57 ± 0,96 | 6,06 |
| 86 | 14 | 55,24 ± 1,46 | 6,13 |

Na Figura 2 está representada a porcentagem de umidade das amostras durante o tratamento térmico. A partir do primeiro até o sétimo minuto de

aquecimento, o teor de umidade elevou-se em 26,30% e deste tempo até o final do período a elevação na porcentagem de umidade foi menor, atingindo valor de 10%. Observou-se que as amostras não alcançaram o ponto de saturação no período final do tratamento térmico.

As observações de WANG et al. (1977) mostraram que grãos de soja inteiros absorveram 100% de água após 5,5 h a 20^o C e 2,5 h a 37^o C, indicando que além da temperatura, a taxa de absorção de água é dependente da umidade inicial, tempo de estocagem, tamanho e variedade dos grãos. A este respeito, WANG (1986) obteve grãos de soja com diferentes teores de umidade através da maceração em água (1:4) a 28^o C. A absorção de água pelo grão (% inicial de 8,7%) foi mais acentuada nos primeiros 15 minutos com valor de 26,94% atingindo 56,81% de umidade aos 60 minutos.

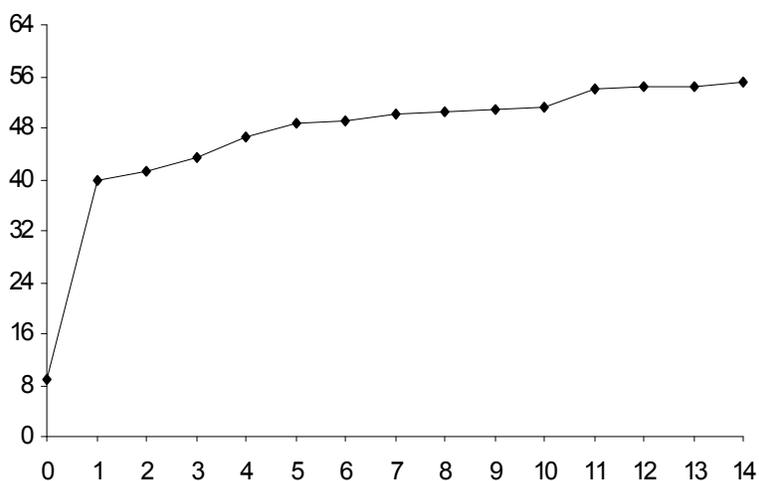


Figura 2. Porcentagens médias de umidade para os grãos de soja durante o tratamento térmico.

Assim, a prática do tratamento térmico de grãos decorticados e quebrados como etapa no processamento do "leite" de soja pela UNISOJA, favorece uma rápida absorção de água pelos grãos, o que facilita as etapas posteriores de processamento. Entretanto, este procedimento pode acarretar perdas de sólidos totais dos grãos na água de cozimento (MELLO, 1992).

4.3 Atividade dos Inibidores de Tripsina

Os resultados da análise da atividade dos inibidores de tripsina da amostra de grãos de soja durante o tratamento térmico estão apresentados na Tabela 5. Observou-se diminuição nos valores para a atividade dos inibidores de tripsina durante o aquecimento, com valor inicial para o grão decorticado de 200 UTI/mg de farinha e de 30,50 UTI/mg de farinha no final do período, indicando que o tratamento térmico na presença de umidade é um dos métodos indicados para a inativação desta substância.

A influência da umidade para inativação térmica dos inibidores de tripsina tem sido proposta por vários pesquisadores (SHARMA e SEHAGAL, 1992). Conforme CABRAL (1981) a umidade atua uniformizando o cozimento e proporcionando maior transferência de calor. PHILLIPS et al. (1983) observaram que o tempo necessário para equilibrar a temperatura de aquecimento da farinha de feijão-guandu diminuía com o aumento da umidade e da temperatura. A porcentagem de inativação dos inibidores aumentou com a elevação da temperatura e umidade.

Tabela 5. Valores médios obtidos e desvios padrão para a atividade dos inibidores de tripsina dos grãos de soja durante o tratamento térmico.

| Tempo de aquecimento (min.) | Atividade Inibidores (UTI/mg amostra) |
|-----------------------------|---------------------------------------|
| 0 | 200,00 ± 0,03 |
| 1 | 140,87 ± 1,48 |
| 2 | 110,53 ± 2,00 |
| 3 | 104,54 ± 2,00 |
| 4 | 95,28 ± 2,21 |
| 5 | 89,24 ± 1,30 |
| 6 | 80,79 ± 1,05 |
| 7 | 75,56 ± 1,31 |
| 8 | 67,13 ± 1,63 |
| 9 | 66,63 ± 0,88 |
| 10 | 58,63 ± 3,38 |
| 11 | 54,38 ± 1,13 |
| 12 | 44,25 ± 3,77 |
| 13 | 35,50 ± 1,50 |
| 14 | 30,50 ± 0,75 |

UTI = Unidade de Tripsina Inibida

Na Figura 3 pode-se observar as porcentagens de inativação dos inibidores durante o aquecimento dos grãos. Os valores foram em ordem crescente, atingindo 45% de inativação no segundo minuto, 62% aos sete minutos e 85% no final do período, não ocorrendo a completa inativação dos inibidores de tripsina.

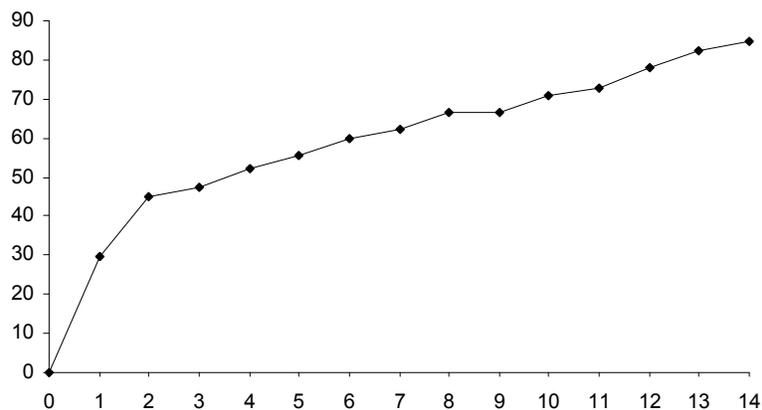


Figura 3. Porcentagens de inativação dos inibidores de tripsina dos grãos de soja durante o tratamento térmico.

De acordo DHURANDHAR e CHANG (1990), RAYAS-DUARTE et al. (1992) CARVALHO e SGARBIERI (1997) os inibidores de tripsina tornam-se inativos com o aquecimento do grão integral, porém com menor eficiência quando se aquece a farinha ou os inibidores purificados. O mecanismo de inativação pode ser devido à complexação dos inibidores com componentes do tecido do grão, o que foi demonstrado por McNIVEN et al. (1992). Com a ação do calor os inibidores se ligam a outros componentes do grão e se tornam inativos, indicando que a inativação não deve ser devido a desnaturação térmica de suas moléculas, uma vez que inibidores inativados quando submetidos à hidrólise enzimática, regeneram totalmente a sua atividade conforme demonstrado por GALEAZZI e SGARBIERI (1988) e PAIVA (2000).

Os inibidores de tripsina são substâncias essenciais para as funções fisiológicas dos vegetais, mas os níveis de atividade que podem causar efeitos deletérios ao homem e aos animais monogástricos não são totalmente conhecidos. Em geral, os produtos comerciais de soja recebem tratamento térmico de forma a apresentarem menos de 20% da atividade inibitória de tripsina da soja crua (LIENER, 1994). As fórmulas não lácteas à base de soja, consumidas pela população brasileira, apresentaram valores em torno de 5% da atividade inibitória de tripsina

da farinha de soja desengordurada, enquanto que para as bebidas à base de extrato de soja os valores foram 30% e 18,3%, conforme observações de GENOVESE e LAJOLO (1998).

A aplicação do calor é o tratamento mais utilizado para eliminar os efeitos deletérios dos grãos das leguminosas. Entretanto, a sua severidade pode levar à degradação de aminoácidos e afetar a qualidade da proteína e o não conhecimento dos níveis de inibidores de tripsina, efetivamente prejudiciais ao homem, faz com que o tempo de aquecimento seja suficiente para a inativação parcial. De acordo com RACKIS (1981) a inativação em torno de 54 a 68% da atividade dos inibidores de tripsina da soja é suficiente para promover o crescimento normal de animais de laboratório, não acarretando redução na eficiência da proteína nem perda de peso dos ratos. O uso de cultivares com os inibidores de tripsina menos ativos pode promover a viabilidade econômica e nutricional dos grãos de soja na alimentação humana, pois requer menor tempo de processamento e melhora o valor nutricional do alimento.

O tempo de exposição ao calor dos grãos decorticados e quebrados, neste estudo, foi suficiente para eliminação de 62% da atividade aos sete minutos de aquecimento e a manutenção dos grãos na água fervente por mais sete minutos, possibilitou a inativação de 85% da atividade dos inibidores de tripsina. Considerando que a inativação não precisa ser completa e o que o tratamento térmico não foi intenso, pode-se aferir que a forma de aquecimento dos grãos de soja para elaboração do "leite" apresenta-se adequada.

4.4 Atividade da Lipoxigenase

Os resultados da análise da atividade da lipoxigenase da amostra de grãos de soja durante o tratamento térmico estão apresentados na Tabela 6.

Os valores obtidos para a atividade da lipoxigenase estão dentro da variação apresentada por VINNET et al. (2002), que ao analisarem 51 genótipos de soja cultivados na Índia observaram variação na atividade de 160 a 3192 e de 238 a 1406 unidades/g de proteína de soja para LOX 1 e para LOX 2 + 3, respectivamente.

A atividade dos grãos crus decorticados foi considerada como 100% de atividade residual. Nos grãos aquecidos por dois minutos a atividade da lipoxigenase foi reduzida para quase a metade e aos sete minutos de aquecimento a atividade residual foi 20%, o que significa uma porcentagem de inativação de 80%, conforme ilustra a Figura 4. Após este tempo de aquecimento e até o final do período, observou-se pequeno incremento na porcentagem de inativação com valor máximo de 86%. Os resultados são concordantes aos obtidos por PAULA (1995) que ao estudar a cinética de inativação térmica da lipoxigenase LOX 1 verificou que foram necessários sete minutos de aquecimento a 100° C. BAKER e MUSTAKAS (1973) observaram que para inativação da lipoxigenase, sem adição de ácido e base, foram necessários 15 minutos de aquecimento a 82° C.

Tabela 6. Valores médios obtidos e desvios padrão para a atividade da lipoxigenase dos grãos de soja durante o tratamento térmico.

| Tempo de aquecimento (min.) | Atividade Lipoxigenase (η mol/min/mg proteína) | Atividade Residual (%) |
|-----------------------------|--|------------------------|
| 0 | 2217,29 \pm 2,00 | 100 |
| 1 | 2049,23 \pm 1,40 | 82 |
| 2 | 1033,13 \pm 2,10 | 47 |
| 3 | 753,88 \pm 3,00 | 34 |
| 4 | 606,50 \pm 2,50 | 27 |
| 5 | 577,07 \pm 2,10 | 26 |
| 6 | 524,10 \pm 1,40 | 24 |
| 7 | 442,31 \pm 4,50 | 20 |
| 8 | 431,65 \pm 4,50 | 19 |
| 9 | 420,67 \pm 4,40 | 19 |
| 10 | 417,45 \pm 3,00 | 19 |
| 11 | 407,68 \pm 2,70 | 18 |
| 12 | 354,31 \pm 1,00 | 16 |

| | | |
|----|---------------|----|
| 13 | 332,09 ± 3,60 | 15 |
| 14 | 309,09 ± 1,00 | 14 |

O emprego da radiação por microondas, como fonte de aquecimento de grãos macerados, para inativação da lipoxigenase foi avaliado por WANG (1986), que verificou que o aumento da umidade inicial do grão (8,7 a 56,81%) resultou num incremento na velocidade de inativação, fato este confirmado no presente estudo, pois o aumento na porcentagem de umidade favoreceu a inativação desta enzima.

Os resultados sugerem que para inativar a lipoxigenase (80%) o tratamento térmico por sete minutos seria suficiente, o que reduz o tempo de processamento do grão, assegurando a qualidade do produto.

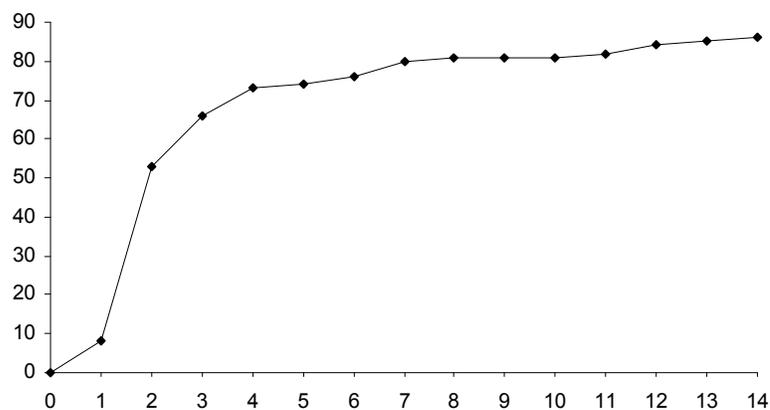


Figura 4. Porcentagens de inativação da lipoxigenase dos grãos de soja durante o tratamento térmico.

O controle preciso do tratamento térmico é crítico para preparar produtos protéicos de soja com um máximo valor nutricional. A eficácia do tratamento térmico na atividade da lipoxigenase depende da temperatura, pH, tempo entre outros fatores. Embora necessário, o seu excesso pode provocar perdas de qualidade nutricional, bem como dos aspectos funcionais das proteínas de soja na indústria de alimentos (BAU et al., 2001).

4.5 Índice de Solubilidade da Proteína

Os resultados para o índice de solubilidade da proteína das amostras de grãos de soja durante o tratamento térmico estão apresentados na Figura 5. Observou-se que o índice de solubilidade da proteína diminuiu com o tempo de aquecimento com valores para a soja crua de 78,60 % e de 14,77 % no final do período.

A solubilidade da proteína depende do número e do arranjo das cargas nas moléculas, que por sua vez dependerá da composição em aminoácidos. A desnaturação da proteína durante o tratamento térmico, tem como consequência a diminuição da solubilidade, o que pode ser, também, resultado de mudanças na estrutura covalente, devido à forte formação de pontes dissulfetos (SGARBIERI, 1996). Decréscimo na solubilidade das proteína da soja em função do aquecimento, também foi mostrada por SMITH e CIRCLE (1972) e ANTUNES e SGARBIERI (1981).

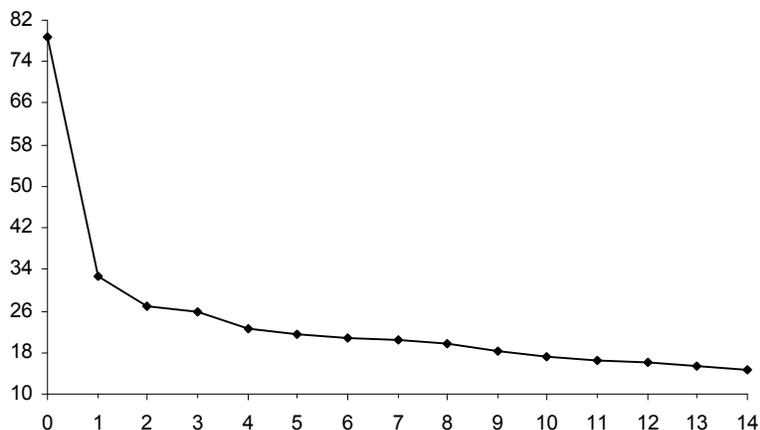


Figura 5. Índice de solubilidade da proteína (%) para os grãos de soja durante o tratamento térmico.

O efeito da umidade inicial e o tempo de exposição à radiação em microondas sobre o índice de solubilidade do nitrogênio em grãos de soja, foi estudado por WANG (1986). Os resultados obtidos mostraram que a exposição ao calor provocou a desnaturação das proteínas, com a consequente diminuição no índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja, sendo o decréscimo mais acentuado para

os grãos com maior teor de umidade inicial. Como justificativa para este fato sugeriram a maior absorção de energia pelo produto úmido durante a exposição à radiação e, conseqüentemente, um aquecimento mais intenso.

4.6 Composição Química do "Leite" de Soja

Os valores médios para a composição química do "leite" de soja natural e saborizado produzido na Unisoja e de duas marcas comerciais estão apresentados na Tabela 7.

Observou-se que os valores médios para sólidos totais e carboidratos do "leite" de soja natural foram menores que os encontrados para o "leite" saborizado, em consequência da ausência do açúcar nesta etapa do processamento. O valor para proteína apresentou-se levemente inferior e o de lipídeos um pouco mais elevado.

Tabela 7. Valores médios (%) obtidos para a composição química dos "leites" de soja analisados.

| Componentes (%) | "Leite" de soja natural Unisoja | "Leite" de soja saborizado Unisoja | "Leite" de soja Marca A | "Leite" de soja Marca B |
|-----------------|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Umidade | 93,63 | 82,58 | 91,04 | 90,87 |
| Sólidos totais | 6,37 | 17,42 | 8,96 | 9,13 |
| Proteína | 3,18 | 3,31 | 2,79 | 2,87 |
| Lipídeos | 1,62 | 1,27 | 0,43 | 0,47 |
| Cinzas | 0,26 | 0,27 | 0,29 | 0,30 |
| Carboidrato | 1,31 | 12,56 | 5,45 | 5,49 |

A comparação dos componentes do "leite" saborizado da Unisoja com duas marcas comerciais evidenciou maiores porcentagens para todos os componentes sólidos, com exceção às cinzas, para o produto elaborado pela Unisoja. O elevado teor de sólidos totais está em acordo com a maior porcentagem de carboidratos para este "leite", destacando o maior teor em proteína e lipídeos. As composições químicas das amostras dos "leites" de soja avaliadas enquadraram-se nos padrões legais vigentes, que indicam teores máximos de umidade 93%, e cinzas 0,6% e valores mínimos para proteína 3,0%. Variações de 10% nos teores dos componentes são toleráveis, devido às variações nas características e composição dos grãos de soja (PENNONE, 1989).

Os valores obtidos para o "leite" de soja natural apresentaram-se próximos aos encontrados por MELLO (1992), cuja composição indicou 6,71% para sólidos totais, 3,21% para proteína, 1,68% para lipídeos, 0,30% para cinzas e 1,49% para carboidratos no extrato hidrossolúvel elaborado com grãos de soja descascados e com choque térmico antes da maceração. Observaram, ainda, que estas porcentagens foram maiores para os grãos que não receberam o choque térmico. De acordo com GUTIÉRREZ (1974) o aquecimento dos grãos antes da etapa de desintegração produziu mudanças na composição percentual do "leite" de soja, provocando decréscimo, principalmente no conteúdo de sólidos totais e proteína. A composição do "leite" de soja pode variar, conforme MELLO (1992) de acordo com o método de preparação, composição dos grãos, tempo de maceração e grau de esmagamento, entre outros.

Nas amostras de "leite" de soja natural e saborizado Unisoja e para as marcas A e B não foram detectadas atividades para os inibidores de tripsina nem para a lipoxigenase. De acordo com a legislação permite-se um residual máximo de 20% de atividade para os inibidores de tripsina no "leite" de soja (PENNONE, 1989). As condições de tratamento térmico do grão, associadas às usadas na obtenção do "leite" foram suficientes para a completa inativação destas substâncias.

4.7 Digestibilidade *In Vitro* da Proteína

Os resultados obtidos para a digestibilidade *in vitro* da proteína (%) das amostras de grão decortinado e dos "leites" de soja estão apresentados na Tabela 8. Observou-se que o grão decortinado apresentou a menor digestibilidade e o "leite" natural da Unisoja, obtido após o tratamento térmico dos grãos, promoveu um acréscimo de 19%. Entre as amostras de "leite", a Marca A apresentou o maior valor, seguida da Marca B e do saborizado da Unisoja, todas, porém, com valores superiores ao da soja crua.

Tabela 8. Valores médios para a digestibilidade *in vitro* da proteína (%) das amostras de grão decortinado e dos "leites" de soja

| Amostras | Digestibilidade (%) |
|----------------------------|---------------------|
| Grão decortinado | 73,83 ± 2,05 |
| "Leite" natural Unisoja | 87,88 ± 2,37 |
| "Leite" saborizado Unisoja | 86,21 ± 2,20 |

| | |
|-----------------|--------------|
| "Leite" Marca A | 90,67 ± 2,11 |
| "Leite" Marca B | 89,54 ± 2,60 |

WANG et al. (1997) verificaram que o "leite" obtido de grãos desintegrados em liquidificador na proporção soja:água 1:10 e autoclavados a 121° C por 5 minutos após coagem, resultou em digestibilidade *in vitro* da proteína de 86,4%. A melhora na digestibilidade das proteínas, com o tratamento térmico, é atribuída às alterações estruturais das mesmas, que aumentam sua suscetibilidade à hidrólise enzimática (CARBONARO et al., 1992, DESHPANDE e DAMODARAM, 1990). Todavia, o tratamento térmico excessivo pode causar um decréscimo digestibilidade, devido a formação de ligações cruzadas entre os aminoácidos.

4.8 Rendimentos de Sólidos Totais, Proteínas e Lipídeos Extraídos e do Processo.

O volume médio de "leite" produzido por quilo de soja integral foi 5331 ± 51,08 mL. O valor para a densidade do "leite" foi 1,02675 cm³/g, equivalendo a 5473,58 g de "leite", o que proporcionou o rendimento do processo em porcentagem, de 547,36 (Tabela 9). A quantidade média de resíduo obtida para cada quilo de soja foi 1,39 Kg. KAJISHIMA et al. (2002) obtiveram rendimentos de 4100 mL a 4450 mL de "leite" para um quilo de soja e MELLO (1992), obteve rendimento de processo de 665% para extratos hidrossolúveis de soja elaborado com grãos decorticados e com choque térmico, sendo este valor inferior aos processos em que usaram grãos inteiros.

Tabela 9. Valores médios (g) obtidos para sólidos totais, proteína e lipídeos por Kg de soja integral e de "leite" saborizado Unisoja e rendimento do "leite".

| Componentes (g) /Kg | Soja integral | "Leite" saborizado Unisoja | Rendimento (%) |
|---------------------|---------------|----------------------------|----------------|
| Sólidos totais | 910,80 | 953,55 | 104,69 |
| Proteína* | 362,30 | 181,18 | 50,01 |
| Lipídeos* | 186,70 | 69,52 | 37,24 |
| Processo | - | 5473,58 | 547,36 |

* Valores em base seca.

Os valores médios obtidos para os rendimentos de proteína do "leite" de soja saborizado Unisoja foi 50,01% e para lipídeos 37,24%. TURATTI et al. (1979)

obtiveram 50,96% de rendimento para proteína no "leite" elaborado com grão de soja inteiro utilizando a proporção soja e água 1:10 para desintegração dos mesmos. MELLO (1992) observou que o descascamento e o choque térmico dos grãos antes da maceração, promoveram um decréscimo significativo nos rendimentos de proteína dos extratos protéicos. Os valores foram 54,74% e 61,53% para extratos protéicos provenientes de grãos descascados e inteiros e 50,32% e 57,36%, respectivamente, para os grãos que receberam o choque térmico. Sugeriram que as variações foram decorrentes das perdas de sólidos durante a maceração dos grãos decorticados, e que o choque térmico, além de contribuir para aumento destas perdas, promoveu, também, insolubilização das proteínas do grão.

WANG et al. (1987) verificaram que o "leite" obtido de grãos desintegrados em liquidificador na proporção soja:água 1:10 e autoclavados a 121° C por 5 minutos após coagem, resultou em maior rendimento de extração de proteína. Observaram, ainda, que a quantidade de água usada para extração do "leite" afetou os conteúdos de proteína e de lipídeos de maneira inversa, e que as porcentagens de lipídeos recuperadas nos "leites" diminuiriam com o aumento no tempo de fervura. Atribuíram como causa à desnaturação da proteína durante a fervura, diminuindo a solubilidade e, conseqüentemente, sua capacidade para emulsificar a gordura.

O maior rendimento para sólidos totais do "leite" saborizado da Unisoja, em relação aos valores relatados na literatura, são advindos dos aditivos adicionados ao extrato solúvel no processamento do "leite". Além disso, as variações nos resultados podem estar relacionadas aos fatores de moagem, dos procedimentos de extração, incluindo a espessura da massa moída, a proporção de soja:água utilizada e a temperatura de extração (WILKEN e HACKLER, 1969; TURATTI et al., 1979).

CONCLUSÕES

O tratamento térmico do grão favorece uma rápida absorção de água, inativação das atividades dos inibidores de tripsina e da lipoxigenase e diminuição na solubilidade da proteína.

Os teores de umidade e proteína do "leite" de soja Unisoja apresentam-se dentro dos limites permitidos pela legislação vigente.

O procedimento adotado pela Unisoja fornece "leite" sem atividades para inibidores de tripsina e de lipoxigenase e boa digestibilidade da proteína, o que assegura sua qualidade nutricional e ausência de sabor indesejável, além de proporcionar bom rendimento do processo, de proteína e lipídeos do "leite" elaborado.

REFERÊNCIAS

AKERSON, W.R. ; STAHPMAN, M.A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *J. Nutr.*, Bethesda, v.83, n. 3, p.257-261, 1964.

ALIMENTOS funcionais... São Paulo, 2002. Disponível em: < http://www.alimentos_funcionais.com.br.> Acesso em: 18 nov. 2004.

ALMEIDA, L.A. et al. *BRS 213 muito mais sabor*. Londrina:Embrapa Soja, 2002. Folder.

ANTUNES, P.L.; SGABIERI, V.C. *Propriedades físicas, químicas e nutricionais das proteínas de soja*. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Ed.). *A soja no Brasil*. 5.ed. Campinas: ITAL, 1981. p. 850-857.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 16. ed. Washington, 1995.

ARAÚJO, J. A. *Química de alimentos*. 2. ed. Viçosa: UFV, 2001. 416 p.

ARAUJO, J.M.A; CARLOS, J.C.S.; SEDYAMA, C.S. Isoflavonas em grãos de soja: Importância da atividade de β -glicosidase na formação do sabor amargo e adstringente. *Ciênc. Tecnol. Alim.*, Campinas, v.17, n.2, p.137-141, 1997.

AXELROD, B.; CHEESBROUGH, T.M.; LAAKSO, S. *Lipoxygenase from soybeans*. *Methods Enzimol*, 1981, v. 71, p. 441-451.

BAKER, E.C.; MUSTAKAS, G.C. Heat inactivation of trypsin inhibitor, lipoxygenase and urease in soybeans: effect of acid and base additives. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, Chicago, v.50, n. 5, p.137-141, 1973.

BALDINI, V.L.S.; CAMPOS, S.D.S.; SREBERNICH, S.M. Sabor dos alimentos; os problemas e sua modificação. *Bol. Inst. Tecnol. Alim.*, Campinas, v.20, n.4, p.261-276, 1983.

BANKHEAD, R.R., et al. Effects of sodium bicarbonate blanch on the retention of micronutrients in soy beverage. *J. Food Sci.*, Chicago, v.43, n.1, p.345-348, 1978.

BAU, H. M. et al. Optimisation du chauffage et valeurs nutritionnelle et fonctionnelle des proteines de soja. *Cash. Nutr. Dietetique*, Paris, v.36, n.2, p.96–102, 2001.

BEHRENS, J.H.; DA SILVA, M. A.A. P. Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. *Ciênc. Tecnol. Alim.*, Campinas, v.24, n.3, p.431–439, 2004.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. Química de los alimentos. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1997. p.228–232.

BENEDETTI, A.C.E.P. Monitoramento da qualidade higiênico-sanitária no processamento do "leite" de soja na unidade de produção e desenvolvimento de derivados de soja – Unisoja. 2001. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos): Faculdade de Ciências Farmaceuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

BORHAN, M.; SNYDER, H.E. Li+poxxygenase destruction in whole soybeans by combinations of heating and soaking in ethanol. J. Food Sci., Chicago, v.44, n.2, p.586-589, 1979.

CABRAL, L.C. Processo de obtenção da farinha de soja integral. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. A soja no Brasil. Piracicaba: Livrocerees Ltda, 1981. p.868-871.

CABRAL, L.C. et al. Efeito da pressão de homogeneização nas propriedades funcionais do "leite" de soja em pó. Ciênc. Tecnol. Alim., Campinas, v.17, n.3, p.286–290, 1997.

CABRAL, L.C.; MODESTA, R.D. A soja na alimentação humana. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CTAA, 1981. p.17–20.

CARBONARO, M., MARLETTA, L., CARNOVALE, E. Factors affecting cystine reactivity in proteolytic digests of *Phaseolus vulgaris*. J. Agric. Food Chem., Washington, v.40, n.91, p.169-173, 1992.

CARVALHO, M.R.B.; SGARBIERI, V.C. Heat treatment and inactivation of trypsin-chymotrypsin inhibitors and lectins from beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Food Biochem, Westport, v..21, n.3, p.219-233, 1997.

CASÉ, F. et al. Produção de leite de soja enriquecido com cálcio. Ciênc. Tecnol. Alim., Campinas, v.25, n.5, p.431–439, 2005.

COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. CNNPA, Resolução nº 14 de junho de 1978. Disponível em: < www.agricultura.gov.br. > Acesso em: set. 2005.

DELIZA, R.; FELBERG, I.; CHAVES, L.C. Preferência do consumidor para bebidas nutritivas desenvolvidas com "leite" de soja e "leite" de castanha-do-brasil. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS, 4., 2001, Campinas, SP. Resumos... p.1234-305.

DESPHANDE, S.S. Food legumes in human nutrition: a personal perspective. Crit. Rev. Food Sci. Nutr, Boca Raton, v.32, n.4, p.333–363, 1992.

DESPHANDE, S.S.; DAMADARAN, S. Food legume: chemistry and technology. Adv. Cereal Sci. Technol., Manhattan, v.10, p.147-241, 1990.

DHURANDHAR, N.U.; CHANG, K.S. Effect of cooking on firmness, trypsin inhibitors, lectins and cystine, cysteine content of Navy and Red Kidney beans (Phaseolus vulgaris). J. Food Sci., Chicago, v.55, p.470-474, 1990.

DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. et al. Nutrição básica. São Paulo: Sarvier, 1982. 286p.

DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. et al. The nutritive value of soya milk and cow's milk in malnourished children: A comparative study. J. Pediatr., Rio de Janeiro, v.69, p.670-675, 1966.

ELDRIDGE, A. C.; WARNER, K.; WOLF, W. J. Alcohol treatment of soybeans and soybean protein products. Cereal Chem., St. Paul, v.54, n.6, p.1229–1237, 1977.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Soja: dados econômicos de 2004. Disponível em : < <http://www.embrapa.org.br/htm> >. Acesso em: out. 2004 a.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Soja na alimentação. Disponível em: < http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=6 > Acesso em: 18 nov. 2004 b.

ERICKSON, D.R. Practical handbook of soybean processing and utilization. St. Louis: Jointly, 1995. p.117–160.

ESKIN, N. A. M. Biochemistry of foods. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1990. p. 508 – 509.

EVANGELISTA, C.M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Análise espectrofotométrica da ação das lipoxigenases em grãos de soja macerados em diferentes temperaturas. Ciênc. Tecnol. Alim., Campinas, v.17, n.3, p.270–274, 1997.

FELBERG et al. Vida de prateleira de bebidas mistas "leite" de soja e castanha-do-brasil (Bertholletia excelsa, H.B.K.). In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 13., 2003, Rio de Janeiro. Anais... p.128.

FERREIRA, E.; BORGES, J.M.; MENDER, A.C.C. Novo processo de elaboração de leite se soja. Rev. Ceres, v.21, n.117. p.422-425, 1974.

FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 1996. 307p.

GALEAZZI, M.A.M.; SGARBIERI, V.C. Inactivation and reactivation of trypsin inhibitors in different bean varieties. In: ORGANIZATION OF THE AMERICAN STATES. Advances in bean research: chemistry, nutrition, technology. São Paulo, Ed. Universidade de São Paulo, 1988, p.15.

GENOVESE, M.J.; LAJOLO, F.M. Atividade inibitória de tripsina em produtos derivados de soja (Glycine max) consumidos no Brasil. Ciênc. Tecnol. Alim., Campinas, v.18, n. 3, p. 309–312, 1998.

GOMES, J. C.; COELHO, D.T. *Leite de soja na alimentação humana: descrição e preparo do extrato solúvel de soja*. Bol. Extensão, Viçosa, n.33, p.1–14, 1989.

GOMES, J.C. et al. *Extratos hidrossolúveis produzidos de soja sem lipoxigenase*. Ciênc. Tecnol. Alim., Campinas, v.15, n.1, p.95–103, 1995.

GOOSSENS, A.E. *Protein foods – flavors and off-flavors*. Rev. Food Eng., New York., v. 46, n.10, p.59–60, 1974.

GUTIÉRRES, R.H. *Contribuição ao estudo da extração e concentração do leite de soja*. 1974.. 78p. *Dissertação (Mestrato em Tecnoplogia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universiade Estadual Campinas, Campinas, 1974.*

HARTREE, E.F. *Determination of protein a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response*. Anal. Biochem., Orlando, v.48, p.422-427, 1972.

HASSE, G. *O Brasil da soja: abrindo fronteiras, semeando cidades*. Porto Alegre: LePM, 1996. p.89–97.

HSIEH, O.A.L.; HUANG, A.S.S.; CHANG, S.S. *Isolation and identification of objectionable volatile flavor compounds indefatted soybean flour*. J. Food Sci., Chicago, v.47, n.1, p.16-23, 1982.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. IAL. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz – métodos químicos e físicos para análises de alimentos*. 3. ed. São Paulo, 1985. v.1, 533p.

KAJISHIMA, S.L. et al. Efeito do processamento no rendimento e qualidade sensorial de "leite" de soja hidrossolúvel. In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA. Fóz do Iguaçu, PR. Resumo... 2002, p.349.

KAKADE, M.L.; SIMONS, N.; LIENER, I.E. An evaluation of natural vs synthetic substract for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cer. Chem.*, Saint Paul, v.46, n. 5, p.518-526, 1969.

KHALEQUE, A.; BANNATYNE, W.R.; WALLACE, G.M. Studies on the processing and properties of soymilk 1,- Effect of preprocessing conditions on the flavour and compositions of soymilks. J. Sci. Food Agric., London, v.21, n. 11, p.579-483, 1970.

KHARE, S.K.; KRISHMA, J.; SINHA, L.K. Preparation and nutritional evaluation of "okara" fortified biscuits. J. Dairyng Foods e Home Sci., v.14, n.2, p.91-94, 1995.

KIKUCHI, A.; KITAMURA, K. Simple and rapid carotene bleaching tests for the detection of lipoxigenase isozymes in soybean seeds. *Jpn. J. Breed.*, Morioka, v. 37, n. 1, p. 10 – 16, 1987.

KWOK, C. K. et al. Heat inactivation of trypsin inhibitors in soymilk at ultra – high temperatures. J. Food Sci., Chicago, v. 58, n. 4, p. 859 – 862, 1993.

LAROSA, G. Desenvolvimento de biscoito doce contendo farinha de "okara": aspectos tecnológicos, nutricionais e sensoriais. 2003. 78f. Dissertação (Mestrato em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

LIENER, I.E. *Implications of antinutritional components in soybean foods*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., Boca Raton, v. 34, n.1, p.31–67, 1994.

LIENER, I.E.; KAKADE, M.L. *Protease inhibitors*. In: LIENER, I.E. *Toxic constituents of plant foodstuffs*. 2. ed. New York: Academic Press, 1980. p.7-71.

LIU, K. *Soybean: chemistry, technology and utilization*. Gaithersburg, Maryland:Aspen, 1999. p.137-165.

MARQUES, S. 7 Razões básicas para o consumo de leite de soja.

Disponível em: <

http://www.hasilvestre.or.br/nutricao/materias_has.asp?contador=25. >

Acesso em: 18 nov. 2004.

MCNIVEN, M.A. et al.. *Biochemical characterization of a low trypsin inhibitor soybean*. J. Food Sci., Chicago, v.57, n. 6, p.1375-1377, 1992.

MELLO, M.C. *Efeito do descascamento e do pré-aquecimento do grão de soja no sabor e nos rendimentos de sólidos totais, proteína e processo do extrato hidrossolúvel de soja*. 1992. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1992.

MESSINA, M. *The science behind soyfoods*. In: *Soybean research conference, 7.*; *INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4*; *Congresso mundial de soja, 3*. 2004, Foz do Iguaçu. Proceedings... Foz do Iguaçu: Embrapa Soja, 2004. p.73–82.

MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. A soja no Brasil. *Campinas: ITAL, 1981. 1062 p.*

MONTEIRO, M.R.P. et al. *Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina Kunitz e das isoenzimas lipoxigenases. Rev. Nutr., Campinas, v.17, n.2, p.195-205, 2004.*

MORAIS, A.A.C.; SILVA, A.L. *Soja: suas aplicações. Rio de Janeiro: Medsi Editora Médica e Científica, 1996. 259p.*

NELSON, A.I.; WEI, L.S.; TANTEERATARM, K. *Soy beverage or soy milk. In: KAUFFMAN, H. E. et al. Soybean processing for food uses. Urbana: INTSOY, 1991. p.112–134.*

PAULA, A.C.O. *Estudo da cinética de inativação térmica da lipoxigenase e da insolubilização proteica da soja. Ciênc. Tecnol. Alimen., Campinas, v.15, n.3, p.262–267, 1995.*

PAIVA, K.C. *Efeito da digestão enzimática na reativação dos inibidores de tripsina em grãos de feijão e soja tratados termicamente. 2000. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.*

PENNONE, A. J. J. *Projeto de identificação, classificação e padronização do leite de soja. ABPLS, 1989.*

PHILLIPS, R:D.; CHHINNAN, M:S.; MENDOZA, L:G: Effect of temperature and moisture content on the kinds of trypsin inhibitor activity, protein in vitro digestibility and nitrogen solubility in cowpea flour. J. Food Sci., Chicago, v.48, n.6, p.1863-1867, 1983.

RACKIS , J.J. et al. Flavor and flatulence factors in soybean protein products. J. Agric. Food Chem., Washington, v.18, n.6, p.977-982, 1970.

RACKIS, J.J. Significance of soya trypsin inhibitors in nutrition. J. Am. Oil Chem. Soc., Champaign, v.58, p.495-501, 1981.

RAYAS-DUARTE, P.; BERGERON, D.; NIELSEN, S.S. Screening of heat-stable trypsin inhibitors in dry beans and their partial purification from great Northern beans (Phaseolus vulgaris) using anhydrotrypsin Sepharose affinity chromatography. J. Agric. Food Chem., Washington, v.40, n. 2, p.32-42, 1992.

ROHR, R. Óleos e gorduras vegetais e seus subprodutos protéicos. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia de Alimentos, 1976.

ROSSI, E.A. Desenvolvimento e avaliação biológica do potencial hipocolesterolêmico de um novo produto probiótico de soja. 2000. 154f. (Livre Docência) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.

SAS INSTITUTE. SAS : Introductory guide for personal computer's. version 7. Cary, 1992.

SEVA PEREIRA, A. *Milhões de brasileiros adultos não toleram um copo de leite*. GED., Campinas, v.15, n.6, p.196-200, 1996.

SGARBIERI, V. C. *Proteínas em alimentos proteicos: propriedades – degradações – modificações*. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SHARMA, A.; SEHGAL, S. *Effect of domestic processing, cooking and germination on the trypsin inhibitor activity and tannin content of faba bean (Vicia faba)*. Plant Foods Hum. Nutr., Dordrecht, v.42, n.2, p.127-133, 1992.

SHURTLEFF, W. *Soy milk at Loma Linda*. Soyfoods, Colrain, v.1, n.4, p.24-26, 1981.

SMITH, A.K.; CIRCLE, S.J. *Soybeans: Chemistry and technology*. Westport : The Avi Publishing . v. 1, cap.3, p. 61 – 92, 1972.

SIEDOW, J.N. *Plant lipoxigenase; structure and function*. Annu. Rev., Plant Physiol. Plant Mol .Biol. v.42, p.145 -188, 1991.

SIKKA, K. S.; GUPTA, A. K.; SINGH, R.; GUPTA, D.P. *Comparative nutritive value, amino acid content, chemical composition, and digestibility in vitro of vegetable – and grain type soybean*. J. Agric. Food Chem., Washington, v. 26, n. 2, p. 312 – 316, 1978.

SOUZA, G.; VALLE, J. L. E.; MORENO, I. *Efeitos dos componentes da soja e seus derivados na alimentação humana*. Bol. Soc. Bras. Ciênc. Tecnol. Alimento., Campinas, v.34, n.2, p.61-69, 2000.

TORREZAN, R. et al. Avaliação do tempo de cozimento dos grãos de soja e pressão de homogeneização na qualidade sensorial de "leite" de soja integral. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS, 5., 2003, Campinas, SP. Resumos... 2003.

TSUKAMOTO, C. et al. A process for the removal of glycosides during tofu production and na evaluation of the marketability of the final product. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION, 1991, Proceedings... Japan: Okubo, 1991. p.47-51.

TSUKAMOTO, I.; MYOSHI, M.; HAMAGUCHI, Y. Purification and characterization of three trypsin inhibitors from beans, Phaseolus vulgaris "Kintoki". Cereal Chem, Saint Paul, v.60, n.3, p.281-286, 1983.

TURATTI, J.M. et al. Estudos preliminares com cultivares de soja para produção de leite. Bol. Inst. Tecnol. Aliment., Campinas, v.16, n.3, p.289-305, 1979.

UMBELINO, D.C. Aspectos tecnológicos e sensoriais do "iogurte" de soja enriquecido com ferro e cálcio. 1999. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.

VINNET, K. et al. Indian soybean varieties with low levels of lipoxigenase isozymes. J. Food Sci. Technol., Oxford, v.39, n.1, p.74-75, 2002.

VINNET, K. et al. Lipoxigenase isozymes and tripsin actiities in soybean as influenced by growing locatin. Food Chem., Barking, v.83, n.1, p.79-83, 2003.

WANG, L.H.; HESSELTINE, C.W. *Coagulation conditions in tofu*.
Process Biochem., Illinois, v.17, n.1, p.7-8, 11-12, 1982.

WANG, S. H. Tratamento do grão de soja com radiação de microondas e seus efeitos no sabor, extração e algumas propriedades nutricionais do leite de soja. 1986. 138f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1986.

WANG, S.H. et al. *Efeito da proporção soja:água e aquecimento sobre rendimento e qualidade protéica do leite de soja*. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v.32, n.10, p.1-10, 1997.

WILKENS, W.F.; HACKLER, L.R. Effect of processing conditions on the composition of soy milk. *Cereal Chem.*, Saint. Paul, v.46, n.4, p.391-397, 1969.

WOLF, W.J.; COWAN, J.C. (Ed.). *Soybeans as a food source*. Cleveland: CRC Press, 1975. 101p.

ZANGELMI, A.C.B. et al. *Produtos de soja - leite, farinha e outros*. São Paulo: Secretaria da Indústria e Comercio, 1982. 157p. (*Tecnologia Agroindustrial*, 10).

ZEMEL, M.M.B.; SHELEF, L.A. *Calcium fortified soy milk*. Eur. Paten Appl. 0195167. p.1-18, 1986.