

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de

Biomateriais e Bioprocessos

Avaliação do potencial antioxidante do okara

in natura e da farinha de okara

Josiane Márcia Maria Canaan

Araraquara

2019

Josiane Márcia Maria Canaan

**Avaliação do potencial antioxidante do okara *in*
natura e da farinha de okara**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos, na área de Biomateriais, Bioprocessos e Bioprodutos.

Orientador: Dr. Rondinelli D. Herculano

Coorientador: Dr. Matheus C. R. Miranda

Araraquara

2019

Ficha Catalográfica

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

C212a

Canaan, Josiane Márcia Maria.

Avaliação do potencial antioxidante do okara in natura e da farinha de okara /
Josiane Márcia Maria Canaan. – Araraquara, 2019.
97 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de
Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-
Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Concentração:
Biomateriais, Bioprocessos e Bioprodutos.

Orientador: Rondinelli Donizetti Herculano.

Coorientador: Matheus Carlos R. Miranda.

1. Soja. 2. Composição Centesimal. 3. Derivados da Soja. 4. Atividade
Antioxidante. 5. Caracterização Físico-química. 6. UniverSoja. 7. EPR. I. Herculano,
Rondinelli Donizetti, orient. II. Miranda, Matheus Carlos R., coorient. III. Título.

CAPES: 33004030170P0

*Dedico este trabalho a Luiz, Gabriel, Guilherme e Mariana
pelo apoio incondicional, pela nossa união e cumplicidade.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus.

Agradeço a meus familiares, meu marido Luiz, meus filhos Gabriel, Guilherme e Mariana, por caminharem comigo.

À minha mãe, Maria, maior exemplo de vida e de amor, *in memoriam*.

Agradeço à UniverSoja e aos funcionários Antônio, Flávio e Celso que colaboraram para a realização deste projeto, além do auxílio precioso do amigo e Doutorando Natan Roberto de Barros nas discussões dos resultados e experimentos. Além disso, agradeço aos demais alunos do Grupo de Bioengenharia e Biomateriais da FCF/UNESP.

Aos companheiros de jornada Camila Lopes, Izabela Cozentino, Adriano F. Luiz, Flávia, Isabela, Valéria, Beatriz S., Virgínia, Giovana e aos técnicos de laboratório Adriana M., Adriana Z., Ana Lúcia, Angélica, Caio, Ilza, Mateus e Flávio.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano, por acreditar em mim, por todos os ensinamentos, incentivo, estímulo, confiança e infinita paciência nessa jornada.

Ao meu coorientador Dr. Matheus Carlos R. Miranda, por toda disponibilidade e ajuda.

Aos componentes da Banca Examinadora, Prof.^a Dra. Mariana Nougalli Roselino e Prof. Dr. Darío Abel Palmieri pela disponibilidade e pelas valiosas contribuições.

A Claudia L. Molina, Aniele e a todos os funcionários e estagiários da Seção de Pós-graduação.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação EBB – FCF/UNESP.

Ao Prof. Dr. Luís Vitor Silva do Sacramento.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização dessa conquista.

À CAPES, pelo apoio recebido. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

O Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo, segundo dados da CONAB para o período 2017/2018, sendo que cerca de 47 milhões de toneladas do grão destinam-se ao consumo interno. A utilização da soja na alimentação humana tem aumentado por diversas razões, dentre elas o fato do grão possuir componentes importantes que conferem propriedades funcionais ao produto. Uma das formas de consumo é o extrato hidrossolúvel de soja (EHS), uma bebida obtida a partir de grãos hidratados de soja que, após a extração, recebe a adição de ingredientes que conferem sabor à bebida, permitindo ainda ser acrescentado de ingredientes que diversificam suas opções de consumo, como frutas e seus extratos, entre outros. A produção do EHS gera uma quantidade expressiva de resíduos, entre eles o okara, que é a massa coesa e úmida proveniente do processo de obtenção do EHS, um material que possui propriedades nutricionais interessantes, possibilitando sua utilização *in natura* e como matéria-prima para a produção de farinha de okara. No presente trabalho foram avaliados a composição química, físico-química, nutricional, microbiológica e atividade antioxidante de grãos de soja, EHS, okara *in natura* e farinha de okara. Os derivados de soja apresentaram valores nutricionais interessantes comparados aos grãos de soja e o EC₅₀ do EHS foi 1,6 vezes menor que do grão de soja, podendo ter algum composto de interesse biológico. Os resultados obtidos pela técnica de EPR foram expressos em Equivalente em µg de ácido ascórbico por mg de amostra (Eq. µg ác.ascórbico/mg) para os grãos (6,58), EHS (2,39), farinha de okara (0,97) e okara *in natura* (0,00) e os valores para compostos fenólicos totais para os grãos (5,80), EHS (4,43), farinha de okara (2,10) e okara *in natura* (2,98) foram expressos em mg de ácido gálico por grama de amostra, sendo que estes valores podem ser relacionados aos valores obtidos de AA pela técnica espectrofotométrica para grãos de soja e EHS. Parte da atividade antioxidante dos grãos foi preservada no EHS, não ocorrendo o mesmo com o okara *in natura* e com a farinha de okara, além disso os resultados demonstram que existe uma forte correlação entre a AA obtida pela técnica espectrofotométrica e por EPR.

Palavras-chave: Soja. Composição Centesimal. Derivados da Soja. Atividade Antioxidante. Caracterização Físico-química. EPR. UniverSoja.

ABSTRACT

Brazil is the second largest soybean producer in the world, according to CONAB data for the period 2017/2018, with about 47 million tons of grain destined for domestic consumption. The use of soybean in human food has increased for several reasons, among them the fact that the grain has important components that impart functional properties to the product. One of the forms of consumption is the water-soluble soy extract, a beverage obtained from soy-grained soybeans which, after extraction, receives the addition of ingredients that confers flavor to the beverage, allowing addition of ingredients that diversify their consumption options, such as fruits and their extracts, among others. The production of EHS generates an expressive amount of residues, among them okara, which is the cohesive and moist mass coming from the process of obtaining EHS, a material that has interesting nutritional properties, enabling its *in natura* use as raw material for the production of okara flour. In the present work the chemical, physical-chemical, nutritional, microbiological and antioxidant properties of soybean, EHS, okara *in natura* and okara flour were evaluated. The soybean derivatives presented interesting nutritional values compared to soybeans and the EHS EC50 was 1.6 times lower than that of soybeans and could have some compound of biological interest. The results, which were obtained by the RPE technique, were expressed in μg of ascorbic acid per mg of sample (Eq. μg ascorbic acid / mg) for grains (6.58), EHS (2.39), okara flour (0.97) and okara *in natura* (0.00) and the values for total phenolic compounds for the grains (5.80), EHS (4.43), okara flour (2.10) and okara *in natura* (2.98) were expressed in mg of gallic acid per gram of sample, and these values can be related to the values obtained from AA by the spectrophotometric technique for soybean grains and EHS. Part of the grain antioxidant activity was preserved in the EHS, not the same with the okara *in natura* and with the okara flour; in addition, the results demonstrate that there is a strong correlation between AA obtained by spectrophotometric technique and EPR.

Keywords: Soybean. Centesimal composition. Soy Derivatives. Antioxidant activity. Physical-chemical characterization. EPR. UniverSoja

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração de vagens de soja (a) e grãos de soja (b).....	18
Figura 2 - Marcas comerciais de farinha de okara (a) e (b).....	23
Figura 3 - Exportação do Complexo Soja entre os anos de 2016-2018.....	24
Figura 4 - Fachada da UniverSoja (a) e Sala de processamento do extrato hidrossolúvel de soja (EHS) (b).....	27
Figura 5 – Modelo simplificado da ligação química entre dois átomos(a) e (b).....	34
Figura 6 – Mudança da coloração do radical livre DPPH antes e depois da reação com um composto antioxidante (A-H).....	36
Figura 7 – Níveis de energia do elétron em função da intensidade do campo magnético – Hr é o valor do campo na ressonância.....	38
Figura 8 – Esquema do espectrômetro de Ressonância Paramagnética Eletrônica - EPR.....	39
Figura 9 – Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.....	40
Figura 10 – Dosagem de fenóis totais empregando o reagente Folin-Ciocalteu.....	40
Figura 11- Fluxograma de produção do extrato hidrossolúvel de soja.....	43
Figura 12 - Okara <i>in natura</i> resultante do processamento do EHS.....	44
Figura 13 - Okara em processo de secagem (a) e okara após secagem (b).....	44
Figura 14 – Espectrofotômetro UV-Vis - Bel Engineering SF 200 ADV (LGS53) (a) e reação entre os extratos das amostras e o radical livre DPPH (b).....	47
Figura 15 - Espectrômetro de EPR Bruker e-Scan, banda-X (a) capilar com amostra de DPPH (b) e espectro da amostra de DPPH (c).....	49
Figura 16 - Intensidade do sinal do pico a pico do DPPH pela técnica de EPR.....	50
Figura 17 - Relação entre pH e acidez.....	55
Figura 18 - Espectros de infravermelho da soja e seus derivados.....	59

Figura 19 - Experimento para a aniquilação do DPPH com as amostras de soja e seus derivados.....	60
Figura 20 - Atividade antioxidante do ácido ascórbico: diminuição do espectro de absorção (a) e curva de calibração (b).....	61
Figura 21 - Intensidade pico a pico do espectro de EPR: a-) DPPH e grão de soja, b-) DPPH e extrato hidrossolúvel de soja (EHS).....	64
Figura 22 - Intensidade pico a pico do espectro de EPR: a-) DPPH e farinha de okara, b-) DPPH e okara <i>in natura</i>	65
Figura 23 - Diminuição do sinal de EPR com o aumento da concentração de ácido ascórbico.....	66
Figura 24 - Atividade Antioxidante - comparativo entre as técnicas UV-Vis e EPR.....	69
Figura 25 - Atividade Antioxidante: Equivalente em ácido ascórbico X % Sequestro do radical livre.....	70
Figura 26 - Curva de calibração do padrão ácido gálico.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados da composição centesimal (média±desvio padrão).....	51
Tabela 2 - Carboidratos totais e fibras alimentares.....	51
Tabela 3 - Resultados de análises físico-químicas (média±desvio padrão).....	53
Tabela 4 - Avaliação microbiológica das amostras em estudadas.....	58
Tabela 5 - Intensidade de absorbância e Atividade Antioxidante (%) das amostras de soja e derivados.....	60
Tabela 6 - Intensidade de absorbância e Atividade Antioxidante (%) do ácido ascórbico.....	62
Tabela 7 - Atividade sequestradora do radical DPPH das amostras em equivalente (µg) de ácido ascórbico.....	67
Tabela 8 - Atividade antioxidante do ácido ascórbico.....	71
Tabela 9 - Valores de absorbância e Equivalentes em mg de ácido gálico por grama das amostras:.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C. - Antes de Cristo

AA - Atividade Antioxidante

Aa - Atividade de Água

ABIOVE - Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - Association of Official Analytical Chemists

APLV - Alergia à Proteína do Leite

ATR - Refletância Total Atenuada

b.s. - base seca

b.u. - base úmida

BPF - Boas Práticas de Fabricação

BRIX - Escala numérica de índice de refração

CABBIO - Centro Argentino Brasileiro de Biotecnologia

Cal - Calorias

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

CT - Carboidratos totais

DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

EC₅₀ - Concentração do Extrato/Fármaco que Induz Metade do Efeito Máximo

EHS - Extrato Hidrossolúvel de Soja

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPR - Ressonância Paramagnética Eletrônica

F. okara - farinha de okara

FAI – Fibras Alimentares Insolúveis

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FAS – Fibras Alimentares Solúveis

FAT – Fibras Alimentares Totais

FEA - Faculdade de Engenharia de Alimentos

FTIR - Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

G - Gauss

HCl - Ácido Clorídrico

IAL - Instituto Adolfo Lutz

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IDH - Índice de Desenvolvimento Humano

INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial

IPEA - Instituto de Pesquisa e Economia Aplicada

Kcal - Quilocalorias

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

mgEAG/g - miligramas de Equivalente de ácido gálico por grama

NaOH - Hidróxido de Sódio

NBR - Normas Brasileiras

NEPA - Núcleo de estudos e pesquisa em Alimentos

NIFEXT- Fração Nitrogen Free Extract ou glicídica

nm - nanômetro

NMP/mL- Número Mais Provável por mL

ONU - Organização das Nações Unidas

PA - Pureza analítica

PNUD - Programa da Nações Unidas para o Desenvolvimento

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

U.a. - unidades arbitrárias

UFC/ml - Unidade Formadora de colônia por mililitro

UNESP - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas

UniverSoja - Unidade de Produção e Desenvolvimento de Derivados de Soja

USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

UV-Vis - Espectroscopia UV/VIS

VCT- Valor calórico total

µg - micrograma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1. Soja.....	17
2.2. Extrato Hidrossolúvel de Soja (EHS).....	19
2.3. Okara <i>in natura</i>	20
2.4. Farinha de okara.....	22
2.5. Viabilidade econômica.....	24
2.6. Impacto ambiental.....	26
2.7. UniverSoja.....	27
2.8. Composição centesimal e análise microbiológica.....	29
2.9. Análises físico-químicas e fitoquímicas.....	32
2.9.1. Acidez titulável.....	32
2.9.2. pH.....	32
2.9.3. Atividade de água (Aa).....	32
2.9.4. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	33
2.9.5. Avaliação da Atividade Antioxidante (AA) - UV-Vis.....	35
2.9.6. Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR).....	36
2.9.6.1. O Fenômeno da Ressonância Paramagnética.....	37
2.9.7. Fenólicos Totais.....	39
3. OBJETIVOS.....	41
3.1. Objetivo geral.....	41
3.2. Objetivos Específicos.....	41
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1. Materiais.....	41
4.1.1. Grãos de soja.....	41

4.1.2. Extrato Hidrossolúvel de Soja (EHS).....	42
4.1.3. Okara <i>in natura</i>	43
4.1.4. Farinha de okara.....	44
4.2. Métodos.....	45
4.2.1. Composição centesimal e nutricional.....	45
4.2.2. Determinação de acidez titulável, atividade de água e pH.....	45
4.2.3. Análises microbiológicas.....	45
4.2.4. Caracterização físico-química: Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	46
4.2.5. Avaliação da Atividade Antioxidante (A.A.) utilizando o DPPH.....	46
4.2.5.1. Atividade antioxidante pela técnica de espectrofotometria UV-Vis.....	47
4.2.5.2. Atividade antioxidante pela técnica de EPR.....	48
4.2.6. Fenólicos totais.....	50
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5.1. Composição centesimal e análises físico-químicas.....	50
5.2. Avaliação microbiológica.....	57
5.3. Espectroscopia no Infravermelho (FTIR).....	58
5.4. Atividade Antioxidante por espectrofotometria UV-Vis.....	59
5.5. Atividade Antioxidante (AA) pela técnica de EPR.....	63
5.6. Compostos Fenólicos.....	70
6. CONCLUSÕES.....	74
7. REFERÊNCIAS.....	75

1. INTRODUÇÃO

A soja é um alimento rico em proteínas, fibras, lipídeos, sendo uma importante fonte de minerais como o cálcio, cobre, ferro, fósforo, magnésio, manganês, potássio, sódio e zinco, além de vitaminas, como a tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3) e ácido ascórbico (vitamina C). Produtos como o Extrato Hidrossolúvel de Soja (EHS), este extrato aquoso obtido a partir das sementes inteiras selecionadas e trituradas, é utilizado por pessoas que apresentam intolerância à lactose e/ou alergias ao leite de vaca e também por aquelas que buscam produtos mais saudáveis, isentos de colesterol (CARRÃO-PANIZZI; MADARINO, 1988; PINTO; CASTRO, 2008; CARVALHO et al., 2011).

A produção de EHS na planta piloto da UniverSoja, localizada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP - Araraquara, gera uma grande quantidade de resíduos, dentre eles a água potável (descartada pós resfriamento do sistema de pasteurização) e o okara, um subproduto oriundo do processo de extração da soja, o que resulta em danos ambientais consideráveis, além do desperdício desse subproduto com alto teor nutricional (LAROSA et al., 2006).

O okara possui baixo valor comercial, porém é rico em proteínas com elevado valor nutricional (CAVALHEIRO, 2001). Como o processo de produção do EHS não é capaz de extrair o conteúdo total de proteínas e de outros nutrientes da leguminosa, a massa inerte obtida apresenta um valor nutritivo, embora a destinação mais comum pelas indústrias seja a alimentação animal ou o descarte como lixo comum (PINTO; CASTRO, 2008).

O tratamento térmico (banho de imersão a 97°C por 7 minutos) favorece a inativação de substâncias consideradas fatores antinutricionais da soja, como os inibidores de proteases, responsáveis pela interferência na absorção de nutrientes (MAIA; ROSSI; CARVALHO; 2006). A desidratação do okara seguida da trituração, resulta em uma farinha com melhores características de conservação (PINTO; CASTRO, 2008), além da redução do volume do produto, facilitando armazenamento e transporte.

O aproveitamento desse resíduo como subproduto com potencial antioxidante contribui para a resolução de questões econômicas e de preservação ambiental (MADRONA; ALMEIDA, 2008). Nesse sentido, mostrou-se oportuna a verificação do

potencial antioxidante dos subprodutos oriundos do processamento do EHS na Uni-verSoja (okara *in natura* e farinha de okara) na busca de algum composto com possível interesse biológico.

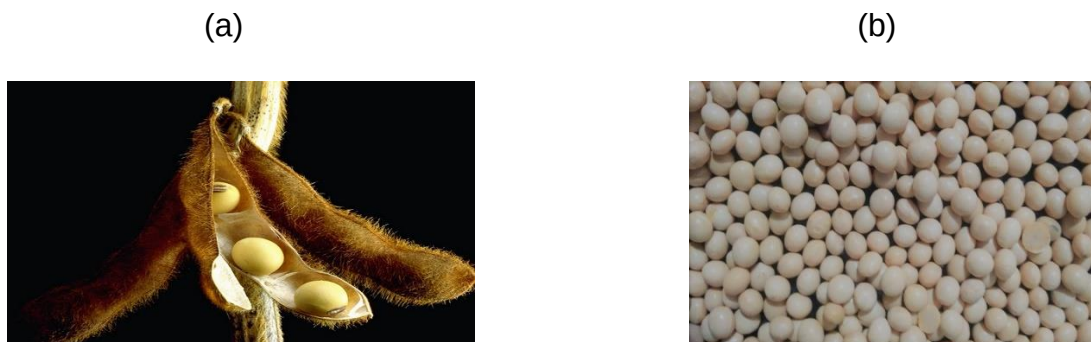
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Soja

A soja (*Glycine max* L. Merr.) é uma leguminosa que pertence à família *Fabaceae*, à subfamília das *Papilionoidea* e ao grupo das faseoláceas, sendo originária do atual território do Vietnã, no leste da Ásia, que, em sua forma ancestral, eram plantas rasteiras. Considerada um grão sagrado, seus registros remontam ao período entre 2883 e 2838 a.C. A planta é conhecida pelos altos teores de proteína e óleo, sendo que o óleo é o mais consumido no mundo (FREITAS; MORETTI, 2006; EMBRAPA, 2018). Sua produção ficou restrita à China até 1894, aproximadamente, época do final da guerra entre China e Japão, só depois expandindo para outros países (EMBRAPA, 2018).

Os Estados Unidos são o maior produtor mundial de soja na atualidade, segundo informações do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2018). O Brasil ocupa o segundo lugar, com produções em torno de 118 milhões de toneladas por safra para o período 2017/2018, sendo que cerca de 47 milhões de toneladas do grão destinam-se ao consumo interno. Atualmente, o maior produtor de soja no país é o Mato Grosso, seguido do Paraná e Rio Grande do Sul (CONAB, 2018). A soja (Figura 1) foi introduzida no Brasil no final da década de 60 como uma opção para cultura de verão, em sucessão ao trigo e, em meio a um cenário de crescente demanda por farelo de soja, resultado do aumento da criação de suínos e aves no país. Estes fatores contribuíram para o aumento de investimentos em tecnologia para adaptação da cultura às condições climáticas brasileiras (EMBRAPA, 2018).

Figura 1 - Vagens de soja (a) e grãos de soja (b).



Fonte: ABIOVE, 2018 (a); Arquivo pessoal (b).

O grão de soja é utilizado na fabricação de rações animais como componente principal, além disso sua utilização na alimentação humana tem expandido nas últimas décadas (IPEA, 2012). Este aumento é justificado devido às suas propriedades funcionais, tais como: atividade hipocolesterolêmica, antitumoral, tratamento da osteoporose e atividade antioxidante, além de serem fontes de nutrientes como proteínas e fibras e atuarem na redução do risco de algumas doenças crônico-degenerativas (SANTOS; BEDANI; ROSSI, 2004).

Segundo Zakir e Freitas (2015), a soja (*Glycine max*) apresenta uma composição quase completa e vem se destacando como um alimento funcional, por apresentar diversos benefícios para a saúde devido à presença de compostos bioativos. Dentre esses compostos, destacam-se as isoflavonas, compostos químicos pertencentes à classe dos fitoestrógenos. As principais isoflavonas encontradas na soja são a diadzeína, a genistaína e a gliciteína (ZAKIR; FREITAS, 2015). Outras pesquisas demonstram, ainda, que as isoflavonas, substâncias químicas abundantes na soja, inibem a proliferação celular (MUNHOZ et al., 2010). Preocupados com a possibilidade do consumo excessivo de isoflavonas alterar o crescimento de crianças em formação pelo efeito hormonal do fitoestrógeno, Genovese e Lajolo (2002) estudaram os teores de isoflavonas em alimentos brasileiros e verificaram que a quantidade desses compostos presentes nos alimentos à base de soja varia de 2 a 100 mg/100 g (base seca) e que o consumo entre as crianças brasileiras é de 1,6 a 6,6 mg/kg de peso corporal, não identificando nenhum fator de risco.

A soja também constitui boa fonte de minerais como ferro, potássio, magnésio, zinco, cobre, fósforo, manganês e vitaminas do complexo B (CARRÃO-PANIZZI; MANDARINO, 1988).

2.2. Extrato Hidrossolúvel de Soja (EHS)

O EHS é obtido por meio de um processo de seleção, descascamento, cozimento, trituração e centrifugação. A fim de conferir características sensoriais de textura e sabor, o produto pode ser acrescentado de ingredientes que diversificam as opções de consumo e ainda mantém suas propriedades funcionais e nutricionais (EMBRAPA, 2002). De acordo com a Legislação Brasileira, o extrato de soja é definido como o produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico apropriado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação, total ou parcial (BRASIL, 2005). Trata-se de um produto com boa aceitação por crianças e adultos, podendo ser utilizado em situações onde faz-se necessária a substituição do leite de vaca que poderia trazer prejuízos à saúde do paciente (VANDENPLAS et al., 2014).

Atualmente, existe uma preocupação da indústria alimentícia em desenvolver novos produtos, visando atender o crescente interesse da população em consumir produtos mais saudáveis (ZAKIR; FREITAS, 2015), assim como produtos com compostos que desempenhem funções biológicas no organismo humano, como a soja, com a finalidade de prevenção de doenças e promoção da saúde (FUCHS et al., 2005). Alguns estudos estimam que cerca da metade da população mundial não pode usufruir dos benefícios do leite de vaca e seus derivados devido a algum grau de intolerância a lactose (VESA; MARTEAU; KORPELA, 2000), mas estudos mais recentes apontam outros números, indicando que cerca de 75% da população mundial são intolerantes à lactose e que o problema atinge 25% dos brasileiros (UGGIONI; FAGUNDES, 2006).

Intolerância à lactose é definida como a incapacidade de digerir a lactose devido à deficiência ou ausência da enzima β -galactosidase no sistema digestivo (ANGELIS, 2005). Por não ser digerida, a lactose permanece no trato intestinal e é fermentada por bactérias no intestino grosso, produzindo ácido lático e gases, que

aumentam a pressão osmótica, causando diarreia ácida e gasosa, além de cólicas e flatulência (RUSYNYC; STILL, 2001).

Outro problema de saúde relacionado ao consumo de leite de vaca é a alergia à proteína do leite (APLV), uma doença inflamatória secundária à reação imunológica contra uma ou mais proteínas do leite de vaca e que afeta principalmente crianças, com surgimento dos sintomas por volta dos seis meses de vida (PINTO; TOLEDO; FRANQUELO, 2015). Por ser utilizado como substituinte ao leite de vaca, o EHS é popular e erroneamente conhecido como “leite” de soja. Conforme a RDC nº 91, de 18 de outubro de 2000 (BRASIL, 2000), onde é aprovado o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Alimento com Soja, é vedada a utilização da expressão “leite de soja”.

O baixo custo de produção e alto rendimento do EHS (1kg de grão de soja fornece de 6 a 10 litros de bebida), torna-o uma alternativa como substituinte ao leite de vaca na correção da desnutrição infantil e no combate à fome (MAIA; ROSSI; CARVALHO, 2006).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), em estudos divulgados no ano de 2015, cerca de 800 milhões de pessoas sofrem com a fome no mundo. No Brasil, são aproximadamente 7,2 milhões de afetados pelo problema. Em 1977, o Prof. Roberto Hermínio Moretti da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA/Unicamp), começou a estudar, a pedido da então primeira-dama de Mato Grosso, uma maneira de extrair “leite” de soja, uma bebida adicionada a alimentação de crianças carentes do estado (PORTAL UNICAMP, 2005). Por fim, o extrato de soja, constitui um dos produtos mais difundidos dessa leguminosa, penetrando consideravelmente no mercado como fonte proteica barata em substituição ao leite de vaca para atender populações carentes (LIU, 1999).

2.3. Okara *in natura*

O okara é a massa coesa e úmida, resultante do processo de fabricação do EHS, que apresenta em sua composição aminoácidos essenciais, lipídeos, carboidratos e fibras (PINTO; CASTRO, 2008), além de cerca de 21% de isoflavonas contidas no grão de soja integral, constituindo uma alternativa de baixo custo na alimentação humana, sendo seu uso adequado como substituinte de elevado valor proteico em formulações de alguns alimentos (SANTOS; BEDANI; ROSSI, 2004).

Grandes quantidades de okara produzidos anualmente no Brasil e demais países são destinados à alimentação de animais (BOMDESPACHO et al., 2011), que poderiam ser utilizadas no combate à fome.

Diversas pesquisas foram realizadas utilizando o okara como ingrediente substituinte em alimentos tradicionais, como alternativa de reaproveitamento desse subproduto, como cereal matinal, hambúrguer de frango fermentado, biscoito de chocolate (CAVALHEIRO et al., 2001; SANTOS; BEDANI; ROSSI, 2004; BOMDESPACHO et al., 2011), além de pães tipo francês (BOWLES; DEMIATE, 2006). Vale ressaltar que, em todas essas formulações, foram utilizados o okara desidratado e triturado.

Atualmente, a Prefeitura Municipal de Araraquara utiliza o okara *in natura* na confecção de pães, como substituinte à farinha de trigo na formulação, na proporção de 10%, atendendo a demanda de entidades beneficiadas junto à Coordenadoria de Segurança Alimentar, órgão da Secretaria Municipal de Assistência e Desenvolvimento Social do município. O okara é utilizado sem processamento (*in natura*) e mantido sob refrigeração até o momento da fabricação dos pães. Entretanto, quando se faz necessário, o produto é congelado para posterior uso para evitar a deterioração do mesmo, prática dispendiosa que pode encarecer o produto.

O okara é um subproduto que apresenta elevado teor de água em sua composição, o que favorece uma rápida degradação. A água é um solvente natural das proteínas e de outros componentes celulares. Sendo assim, a atividade de água elevada favorece reações químicas e bioquímicas de crescimento de microrganismos (SGARBIERI, 1996). O valor de atividade de água em 0,60 é considerado um fator limitante para a multiplicação de qualquer microrganismo (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Frente ao exposto, faz-se necessária a secagem do okara a fim de que este seja utilizado como base para preparação de vários produtos alimentícios. O processo de secagem de alimentos é comumente realizado com a finalidade de retirar uma determinada quantidade de água presente no alimento, possibilitando o prolongamento de vida de prateleira dos mesmos e, conseqüentemente, inibindo o crescimento microbiano e a atividade enzimática nos alimentos. Uma outra vantagem da secagem é a redução de custos de transporte e armazenamento com diminuição no peso e no volume do produto (FELLOWS, 2006).

2.4. Farinha de okara

Produtos como o tofu, o EHS, o iogurte à base de soja, a “carne” de soja, o missô, o isolado protéico e a farinha de soja são alimentos que fazem parte da dieta de orientais sendo fontes de isoflavonas, antioxidantes e outros componentes benéficos à saúde. O conteúdo de fibras da soja auxilia na redução de colesterol e triglicérides, além disso possui atividade mecânica na formação do bolo fecal, propriedade relacionada a sua porção insolúvel (SOUZA; VALLE; MORENO, 2000). Um quilograma de grãos de soja mais a água adicionada, geralmente, na proporção de 8:1 até 10:1, fornecem cerca de 1,1 kg de okara fresco. A desidratação de 1 kg deste subproduto fornece cerca de 250 g de okara seco, ou seja, 250 g de farinha (O'TOOLE, 1999; BOWLES; DEMIATE, 2006).

A secagem é uma tecnologia adotada pelas indústrias com o intuito de manter a qualidade e prolongar a vida de prateleira dos produtos, diminuindo as reações degradativas responsáveis pelos odores desagradáveis e pela contaminação. Além disso, promove a diminuição do tamanho e peso final do produto, de modo a facilitar seu transporte e armazenamento, constituindo assim, uma vantagem em relação ao produto *in natura*. No entanto, apesar dos avanços tecnológicos nas indústrias químicas e de alimentos, os problemas quanto à escolha de métodos adequados para a secagem de materiais biológicos ainda persistem, especialmente no tocante à alimentação humana (PIN; LESCOANO, 2009).

Pesquisas comprovam que esse subproduto pode ser utilizado como base ou na substituição parcial da formulação de diferentes produtos alimentícios tradicionais, podendo ser empregado em biscoitos, hambúrgueres e bolos, proporcionando enriquecimento nutricional, melhoria do rendimento, além da redução de custos e ainda conferir características funcionais aos produtos (LAROSA et al., 2006). Bowles e Demiate (2006) testaram formulações de pães tipo francês com adição de farinha de okara a 0%, 5%, 10% e 15% e submeteram à análise sensorial e análises físico-químicas. Os resultados demonstraram um aumento expressivo do teor proteico e do teor de fibras, quando da adição do subproduto, sendo que as amostras contendo 5% de subproduto passaram à categoria de produtos alimentícios considerados “fonte” de fibras, e as amostras contendo 10% e 15% de subproduto puderam ser classificadas

como produtos alimentícios com “alto teor” de fibras, de acordo com as denominações constantes da Portaria 27/98 da ANVISA (BRASIL, 1998).

Com o intuito de fazer um levantamento sobre produtos disponíveis no mercado brasileiro, foi realizada uma pesquisa e não foram encontradas marcas registradas de farinha de okara, sendo somente encontrado o produto industrializado fora do país (Figura 2). As buscas pelas marcas no Brasil foram realizadas no site do INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial), na seção Marcas e os termos pesquisados na busca foram “ocara”, “okara”, “farinha de okara”, “farinha de soja e okara” e “okará”, não tendo sido encontrados resultados na área de alimentos. Nas buscas pelo termo “ocara” foram encontrados registros na área de roupas com o produto relacionado a “Letras e grafismos especiais” e na área de “Cigarrilhas, Charutos, Ervas para fumar, Fumo de rolo, Fumo para mascar, Charuteiras e Cigarro”, com os registros vigentes na data da pesquisa. Já nas buscas pelo termo “okara” também foram encontrados produtos relacionados a “Letras apresentando grafismo especial” na área de comércio e acessórios de metais para veículos e automotores e na área de Televisionamentos e radiodifusão de programas de qualquer natureza, não sendo encontrado nenhuma marca de alimento à base de okara.

Na Figura 2 são apresentados, a título de ilustração, algumas marcas comerciais de farinha de okara produzidas fora do Brasil.

Figura 2 - Marcas comerciais de farinha de okara



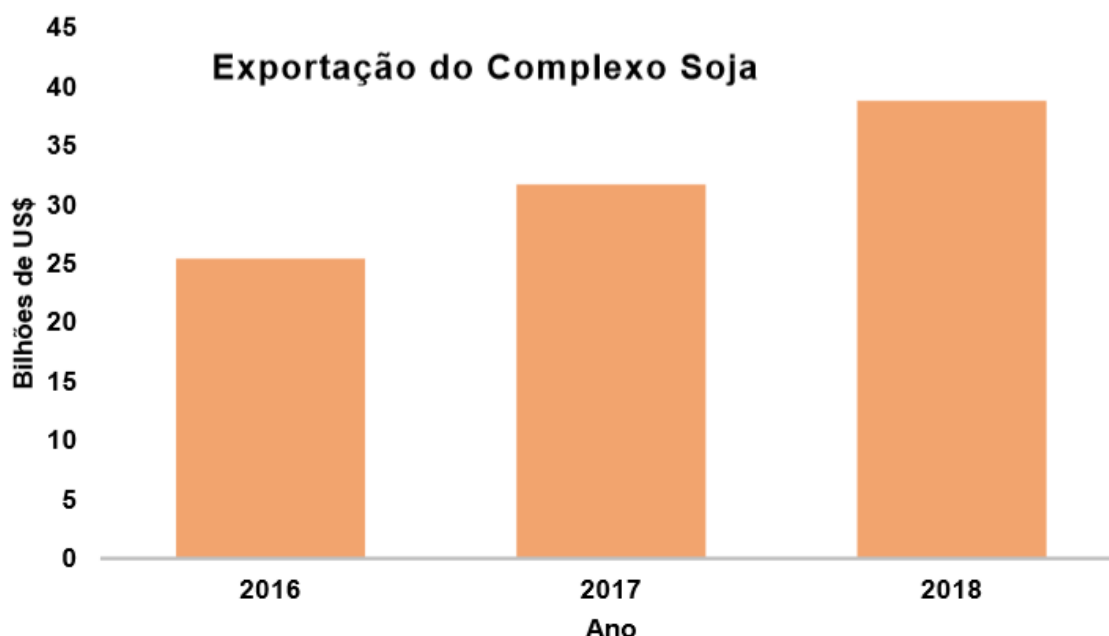
Fonte: KENYU, 2018 (a) e HAKARA, 2018 (b).

Na pesquisa por “patentes” no mesmo site, foram encontrados os depósitos de patentes referentes a produtos que utilizam a farinha de okara em suas composições, a saber : “Pães de forma sem glúten obtidos a partir de coprodutos de arroz e soja”, “Formulação de carne vegetal” e “Pós de pré-mistura ricos em proteína para indústria alimentícia saudável”, sendo que apenas o pedido de patente dos pães de forma está vigente.

2.5.Viabilidade Econômica

A soja foi responsável, no Brasil, por cerca de 31,7 bilhões de dólares em exportações no ano de 2017. Esses valores referem-se à exportação da soja em grão, farelo e óleo de soja, conjunto denominado como Complexo Soja, demonstrando sua importância econômica (MAPA, 2017; ABIOVE, 2018; EMBRAPA, 2018). A Figura 3 mostra o crescimento desse mercado entre os anos de 2016 a 2018 (previsão), sendo que entre 2016 e 2017 houve um crescimento de 24,8%, enquanto a estimativa para a safra atual é um aumento de 16,2% comparado ao ano anterior.

Figura 3 - Exportação do Complexo Soja entre os anos de 2016-2018



Fonte: ABIOVE, 2018.

No que se refere ao Índice de Desenvolvimento Humano - IDH, pesquisa realizada pelo Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento - PNUD, tendo como base o IDH dos anos de 1991 e de 2000, é revelado um aumento considerável da

qualidade de vida nos municípios em que a soja desempenha importante papel socioeconômico, efeito traduzido em aumento de empregos, de fontes de renda e ampliação de investimentos em educação, capacitação profissional e cidadania (ABIOVE, 2018). Já no cenário mundial, os biocombustíveis ocupam um lugar de destaque, pois têm notáveis efeitos na economia, especialmente quanto à promoção de redução dos gases gerados pelo excessivo uso dos combustíveis derivados do petróleo, que produzem efeito estufa. No Brasil, os principais vegetais utilizados como fonte de biocombustíveis são a soja e o pinhão-manso (POMPELLI et al., 2011). As leguminosas utilizadas na alimentação de diversas populações ao redor do mundo são importantes fontes de energia e de diversos nutrientes (ZAKIR; FREITAS, 2015).

No campo da saúde, inúmeros benefícios são atribuídos à soja, especialmente pela presença das isoflavonas. Trata-se de uma importante fonte de minerais como ferro, potássio, magnésio, zinco, cobre, fósforo, manganês e vitaminas do complexo B e é considerada um alimento funcional por apresentar diversos benefícios para a saúde, auxiliando na redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas como diabetes, colesterol, hipertensão arterial, cânceres, entre outros. O crescente interesse da população em consumir alimentos saudáveis, faz com que a indústria alimentícia empenhe-se em desenvolver novos produtos, como por exemplo, alimentos à base de soja importantes para prevenção e controle de diversas doenças (ZAKIR; FREITAS, 2015). Em decorrência de suas propriedades funcionais, os derivados da soja como as farinhas desengorduradas, isolados, concentrados e texturizados proteicos são largamente utilizados na indústria alimentícia brasileira, juntamente com o EHS e tofu que, por melhoria de suas qualidades sensoriais, estão conquistando um espaço no mercado consumidor brasileiro. Quantidades significativas de isoflavonas representam uma alternativa na prevenção de muitas doenças hormônio-dependentes incluindo câncer, sintomas da menopausa, doenças cardiovasculares e osteoporose (ZAKIR; FREITAS, 2015).

Outro campo da economia que a soja tem participação é a indústria cosmética. Gianeti e Campos (2012), estudaram o uso de extrato de soja e de trigo na proteção da barreira cutânea contra a desidratação e melhora da aparência da pele por diminuição das rugas. O estudo avaliou os efeitos de formulações cosméticas contendo extratos proteicos de trigo e/ou soja, na pele humana, por técnicas de biofísica e microscopia confocal a laser.

Além disso, estudos recentes têm demonstrado a utilização de resíduo de soja como substrato para obtenção de goma xantana (PEREIRA; FERRAZ, 2016). A goma xantana é um heteropolissacarídeo hidrossolúvel, produzida industrialmente por fermentação da sacarose por *Xanthomonas campestris*, com excelentes propriedades reológicas, alta viscosidade das soluções e solubilidade em água. A goma possui importantes aplicações na indústria de alimentos, farmacêutica, cosméticos e de petróleo, onde é habitualmente usada em processo de perfurações para recuperação de óleo (LUVIELMO; SCAMPARINI, 2009).

Pereira e Ferraz (2016) fizeram um estudo sobre bioprocessos para a produção da goma xantana propondo a utilização de resíduos agroindustriais como o bagaço de cana e de mandioca, soro de leite, suco de maçã e farelo de soja, como alternativas de redução de custos e seleção de variedades de microrganismos que produzam polissacarídeos em grande quantidade e economicamente interessantes a fim de promover o suprimento brasileiro da demanda de goma xantana.

2.6. Impacto Ambiental

No Brasil, o montante estimado de resíduos gerados na agroindústria da soja no ano de 2009 foi de 41,8 milhões de toneladas, com destaque para o estado de Mato Grosso como o maior gerador de resíduos no setor (IBGE, 2010; IPEA, 2012). Deste modo, há uma preocupação crescente com o gerenciamento de resíduos da agroindústria, o que se justifica pela necessidade da redução do uso dos recursos naturais, assim como pela preocupação em evitar o desperdício de consumo de materiais, controle da poluição e mitigação dos impactos ambientais (PUKASIEWICZ; OLIVEIRA; PILATTI, 2004). Uma das formas de minimizar os impactos é através da reutilização do resíduo gerado como fertilizante no solo, além da utilização como alimentação para animais, insumos para outros produtos e possibilidade de uso na geração de energia (PUKASIEWICZ; OLIVEIRA; PILATTI, 2004).

Estudos realizados pela EMBRAPA apontam que resíduos produzidos em fazendas e que são capazes de causar impactos ambientais negativos se mal descartados, podem ser matéria-prima para fertilizantes eficazes (EMBRAPA, 2016). O descarte desses resíduos no solo e o aproveitamento agrícola podem ser uma alternativa para o manejo destes resíduos (ALTHAUS et al., 2011). De acordo com a Resolução do Conselho nacional do Meio Ambiente - CONAMA Nº 313, de 29 de outubro de

2002, a incorporação desses no solo é considerada uma forma de reutilização ou reciclagem do resíduo e a compostagem, uma alternativa de tratamento.

Althaus et al. (2011) observaram que adubos orgânicos/resíduos, complementados com adubos solúveis, possibilitaram o bom desenvolvimento das plantas de milho, com resultados positivos, seja pela adição de nutrientes para as plantas ou pelo efeito não poluente ao ambiente, demonstrando, assim, que o solo é um importante meio de descarte de resíduos. Segundo a Resolução CONAMA 10004, que trata da classificação dos resíduos sólidos industriais, o resíduo da soja é considerado como Classe II, que são os resíduos não perigosos e que ainda podem apresentar propriedades como a combustibilidade, a biodegradabilidade ou solubilidade na água.

2.7.UniverSoja

A UniverSoja, Unidade de Produção e Desenvolvimento de Derivados de Soja da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara foi criada em 1997, com auxílio da UNESP, FAPESP, CABBIO/CNPq (Centro Brasileiro-Argentino de Biotecnologia/ Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e Governo Municipal com o objetivo de atender uma parcela específica da população através do Projeto UNISOJA, realizado em parceria com a Prefeitura Municipal de Araraquara (Figura 4).

Figura 4 - Fachada da UniverSoja (a) e Sala de processamento do EHS (b).

(a)



(b)



Fonte: UNESP, 2018.

O projeto UNISOJA, que em 2018 completou 21 anos, tem atuado melhorando a qualidade de vida dos beneficiários, além de colaborar com a formação de alunos de graduação e de pós-graduação da UNESP e de outras instituições no Brasil e exterior, fortalecendo a relação entre as atividades de ensino, pesquisa e extensão na UNESP.

Utilizada como substituta dos produtos de origem animal, a soja apresenta também em sua composição oligossacarídeos com potencial prebiótico (rafinose e estaquinose), além das vitaminas e minerais (FREITAS; MORETTI, 2006), especialmente o potássio, importante para a manutenção do equilíbrio eletrolítico dos tecidos (VIEIRA; CABRAL; DE PAULA, 1999), além de apresentar atividade antioxidante (SANTOS; BEDANI; ROSSI, 2004; MALENČIĆ; POPOVIĆ; MILADINOVIĆ, 2007). Devido a sua composição nutricional e o custo relativamente baixo, a soja e seus derivados, em especial o EHS, constituem uma boa alternativa alimentar para indivíduos portadores de restrições alimentares relacionadas ao consumo do leite de vaca (SANTOS; BEDANI; ROSSI, 2004; MUNHOZ et al., 2010).

O projeto UNISOJA tem como finalidade o desenvolvimento e produção de alimentos à base de soja, para serem introduzidos na alimentação da população selecionada pelo Programa de Políticas Públicas de Alimentação e Nutrição da Prefeitura Municipal de Araraquara, visando melhorar as condições de saúde dos beneficiários através da alimentação. Pelo fato de ser isento de lactose, o EHS é adequado para portadores de intolerância à lactose ou alergia à proteína do leite de vaca, podendo ser utilizado na prevenção e correção da desnutrição infantil (WANG et al., 1997)

A produção de bebidas saborizadas à base de EHS atende à demanda da população que apresenta alergia à proteína do leite e/ou intolerância à lactose ou que se encontram em situação de vulnerabilidade social, constituindo-se, dessa forma, em um programa de política pública de alimentação ligado à Universidade. Por sua vez, a produção do extrato de soja saborizado gera uma quantidade expressiva de resíduos, o que pode chegar a aproximadamente 5,5 toneladas de resíduos por ano na UniverSoja, segundo levantamentos *in loco*, sendo que, nesse processamento, ocorre a formação de dois subprodutos: o resíduo da massa de grãos (okara) e o resíduo da casca (PINTO; CASTRO, 2008).

Como o okara é o resíduo proveniente do processo de obtenção do EHS em maior quantidade e possui propriedades nutricionais interessantes, possibilita sua utilização como matéria-prima para a produção de farinha de okara (PINTO; CASTRO, 2008). Atualmente, cerca de 85% do montante de resíduo é destinado à alimentação de suínos de criadores locais (okara e cascas) e em torno de 13% é destinado à manufatura de pães pela Prefeitura Municipal (apenas okara), como substituinte de parte da farinha de trigo da formulação e para melhorar o valor nutricional do produto. Ainda, uma pequena parcela é utilizada em pesquisas e aulas na Universidade. A composição centesimal média do okara, em base seca, é de: 38,0% de proteína, 12,2% de lipídeos, 30,3% de carboidratos, 16,1% de fibras e 3,4% de cinzas, além de conter cerca de 21% das isoflavonas da soja (CAVALHEIRO et al., 2001).

O projeto UNISOJA, em parceria com a Prefeitura Municipal de Araraquara cumpre uma importante função social de desenvolver produtos à base de soja e produzir, diariamente, o EHS que serve de alimento para as crianças portadoras de intolerância à lactose e/ou alergia à proteína do leite e a idosos, assim como população em situação de vulnerabilidade social, auxiliando na manutenção de uma boa condição nutricional da população, cumprindo o compromisso de atender grupos populacionais específicos, que se beneficiam com o consumo de EHS produzido diariamente na UniverSoja.

2.8. Composição Centesimal e Análise Microbiológica

A composição centesimal inclui a determinação do teor de umidade a 105°C, cinzas (resíduo mineral fixo), proteínas, lipídeos, carboidratos totais e fibra alimentar (NEPA, 2011).

Dados sobre composição de alimentos são importantes para verificar a adequação nutricional da dieta de indivíduos e das populações, para a avaliação do estado nutricional, para desenvolver pesquisas que correlacionem dieta e doença, na indústria alimentícia (TORRES et al., 2000), além da rotulagem nutricional e controle de qualidade dos alimentos (NEPA, 2011).

O teor de umidade representa a água contida no alimento, que pode ser água livre, presente na superfície externa do alimento, sendo facilmente evaporada e água ligada, encontrada no interior do alimento, sem combinar-se quimicamente com o mesmo. Além da água, outras substâncias que se volatilizam nessas condições

também podem ser removidas. O teor de umidade corresponde à perda em peso sofrida pelo produto quando aquecido em condições nas quais a água é removida e o resíduo assim obtido no aquecimento direto é chamado resíduo seco (IAL, 2008).

Resíduo por incineração ou cinzas é o nome dado ao resíduo obtido por aquecimento de um produto em temperatura próxima a 550-570°C (IAL, 2008). As cinzas representam os minerais, importantes para a manutenção das funções essenciais ao organismo humano (ROCHA et al., 2012).

Para a determinação de proteínas são considerados os polímeros de aminoácidos ou compostos que contém polímeros de aminoácidos (BRASIL, 2005). O método baseia-se na determinação de nitrogênio, geralmente feita pelo processo de digestão Kjeldahl, baseado em três etapas: digestão, destilação e titulação. A matéria orgânica é decomposta e o nitrogênio existente é transformado em amônia. Considerando o conteúdo de nitrogênio das diferentes proteínas em aproximadamente 16%, o número de gramas de nitrogênio encontrado é transformado em número de gramas de proteínas (IAL, 2008).

Os lipídeos são compostos orgânicos energéticos, contêm ácidos graxos essenciais ao organismo e atuam como transportadores das vitaminas lipossolúveis. São classificados em: simples (óleos e gorduras), compostos (fosfolipídeos, ceras etc.) e derivados (ácidos graxos e esteróis). Óleos e gorduras diferem entre si apenas na sua aparência física, pois à temperatura ambiente os óleos apresentam aspecto líquido enquanto as gorduras são pastosas ou sólidas (IAL, 2008).

Carboidratos, também chamados hidratos de carbono ou glicídeos: são todos os monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos, incluindo os polióis, presentes em alimentos, que são digeridos, absorvidos e metabolizados pelo ser humano (BRASIL, 2003). Os carboidratos totais são representados pelos carboidratos disponíveis juntamente com a fibra alimentar total (FUJITA; FIGUEROA, 2003).

As fibras são definidas como polissacarídeos (exceto o amido) e lignina que não são digeridos pelo intestino delgado humano. Podem ser classificadas de acordo com a sua solubilidade em solúveis e insolúveis. As fibras solúveis são responsáveis pelo aumento da viscosidade do conteúdo gastrointestinal, retardando o esvaziamento e a difusão de nutrientes; são as gomas, mucilagens, a maioria das pectinas e algumas hemiceluloses, tendo como principais fontes as leguminosas e frutas. As fibras

insolúveis diminuem o tempo de trânsito intestinal, aumentam o peso das fezes, tornam mais lenta a absorção da glicose e retardam a digestão do amido; incluem a celulose, lignina, hemicelulose e algumas pectinas e estão presentes nos grãos de cereais, no farelo de trigo, nas hortaliças e nas cascas de frutas. A maioria dos alimentos contém uma combinação dos dois tipos de fibras, embora em concentrações diferentes (IAL, 2008).

A equação 1, representada a seguir, corresponde à fração NIFEXT e determina os teores de carboidratos totais, realizada por diferença, dentre os quais incluem-se os valores de fibras alimentares totais (FUCHS et al., 2005; NEPA, 2011):

$$\text{Carboidratos totais(\%)} = 100\% - \%(\text{lipídeos} + \text{proteínas} + \text{cinzas} + \text{umidade}) \quad \text{Equação 1}$$

O valor da energia alimentar é expresso em quilocalorias (kcal). O cálculo do valor energético de cada alimento considera o calor de combustão e a digestibilidade, a partir dos teores em proteínas, lipídeos e glicídios, de acordo com o sistema Atwater, utilizando os coeficientes específicos. Carboidratos fornecem 4 kcal/g (exceto polióis), já as proteínas fornecem 4 kcal/g e gorduras, 9 kcal/g (NEPA, 2011).

Além da qualidade nutricional, faz-se necessário garantir a qualidade biológica e sanitária dos alimentos, de forma a proporcionar o consumo de alimentos seguros do ponto de vista microbiológico, com ausência de contaminantes de natureza biológica, física, química ou outros perigos que possam comprometer a saúde da população (RORIZ, 2012).

De acordo com a RDC 12/2001, que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, o controle microbiológico de contaminantes adota os padrões microbiológicos sanitários estabelecidos para “produtos à base de soja (bebida à base de extrato de soja, aromatizada ou não, desengordurada ou não, refrigerada e similares; extrato desidratado e proteína texturizada de soja, desengordurada ou não e similares)” através da pesquisa de: coliformes termotolerantes (coliformes a 45°C) pelo método do número mais provável, *Bacillus cereus* e *Salmonella* sp. No caso de análise de produtos não caracterizados nas tabelas especificadas na referida RDC, considera-se a similaridade da natureza e do processamento do

produto, como base para seu enquadramento nos padrões estabelecidos para um produto similar (BRASIL, 2001).

2.9. Análises Físico-químicas e Fitoquímicas

2.9.1. Acidez titulável

A determinação da acidez é um índice que pode indicar deterioração dos grãos por hidrólise, oxidação ou fermentação. No processo da deterioração, ocorre a formação de ácidos graxos livres, especialmente ácido linoleico. Operações inadequadas na colheita e beneficiamento iniciam o processo degradativo. As Boas Práticas na pré-colheita, colheita, armazenamento e transporte são importantes para evitar a deterioração dos grãos (OLIVEIRA et al., 2018). Em um produto alimentício, a determinação da acidez fornece dados para avaliar o estado de conservação pois a decomposição quase sempre promove alteração na concentração de íons hidrogênio, refletindo no teor de acidez. Essa alteração pode ser detectada por meio de titulação com solução alcalina, com o auxílio de soluções indicadoras ou através de titulação potenciométrica na determinação do ponto de viragem quando a solução a ser titulada for colorida ou turva (IAL, 2008).

2.9.2. pH

Outra forma de determinar a acidez é através da medida da concentração de íons hidrogênio livres por meio do pH, no qual valores abaixo de 7 indicam meio ácido e valores acima de 7, meio básico. A determinação é realizada por meio da medida potenciométrica usando um eletrodo de vidro e um de referência ou um eletrodo de vidro combinado, em equipamentos calibrados com soluções tampão (IAL, 2008).

2.9.3. Atividade de água (Aa)

A importância da atividade de água está na sua relação com a conservação dos alimentos, sendo que os valores de atividade de água mostram quais as chances do alimento se deteriorar. Valores de atividade de água próximos a 0,68 são propícios à multiplicação de fungos deteriorantes (FRANCO; LANDGRAF, 2003) enquanto valores elevados de atividade de água sugerem a possibilidade de deterioração rápida, pois a preservação do alimento depende da quantidade de água presente no mesmo, podendo encontrar-se livre ou ligada. A água livre ou absorvida é a forma predominante; a água não se encontra ligada a nenhuma estrutura molecular dentro da célula,

mas está presente nos espaços intergranulares e nos poros do alimento, sendo expressa pela atividade de água (CELESTINO, 2010). Por definição, atividade de água é a razão entre a pressão parcial de vapor da água contida no alimento e a pressão parcial de vapor da água pura, a uma dada temperatura.

A água é um solvente natural das proteínas e de outros componentes celulares. Dessa forma, a elevada atividade de água provocará, em geral, maiores oportunidades de reações químicas e bioquímicas de crescimento de microrganismos (SGARBI-ERI, 1996). Considera-se o valor de 0,60 como o valor de atividade de água limitante para a multiplicação de qualquer microrganismo (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Na obtenção de produtos como a farinha, o efeito da diminuição da atividade de água a um valor inferior ao considerado ótimo para um determinado microrganismo, reflete no aumento da fase *lag* do crescimento microbiano (latência), na diminuição da velocidade de multiplicação e no tamanho da população microbiana final (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

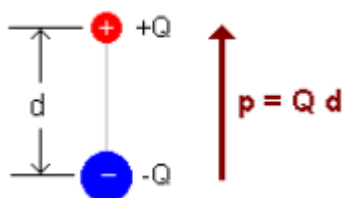
2.9.4. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) permite a identificação de grupos funcionais tais como amidas, aminas, anéis aromáticos, álcoois, fenóis, entre outros, quando os átomos de uma determinada amostra recebem um feixe de radiação na região do infravermelho (BARROS, 2016; GARMS, 2017).

Uma forma mais didática de entender o funcionamento desta técnica, é imaginar que uma certa molécula possui uma frequência característica de vibração nas ligações (Figura 5 a). Imagine que esta molécula absorve frequência (energia) selecionadas de radiação infravermelha. Neste processo, são absorvidas frequências que equivalem às frequências vibracionais das moléculas, aumentando assim a amplitude dos movimentos (Figura 5 b).

Figura 5 - Modelo simplificado da ligação química entre dois átomos.

a)

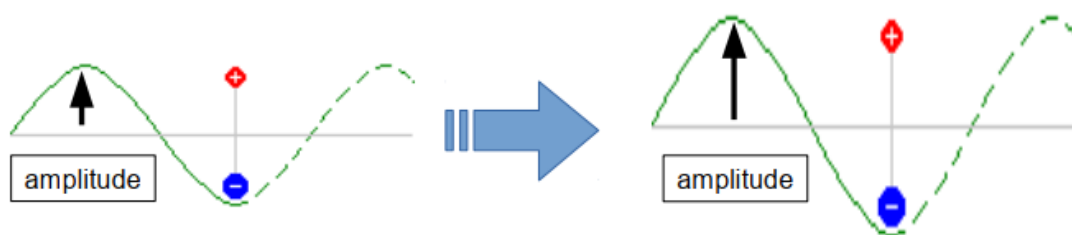


onde: p: momento

Q: carga

d: distância

b)



Fonte: BORGES (2015).

As ligações nas moléculas vibram por estiramentos que são movimentos de contração que alteram o comprimento da ligação e dobramento que são movimentos de flexão que alteram o ângulo de ligação. Este método tem a vantagem de ser rápido, simples e não ser necessário a utilização de reagentes químicos (FERREIRA, 2013; BORGES, 2015). As análises desta técnica podem ser realizadas por: a) refletância total atenuada (ATR), na qual a amostra é aplicada em um cristal altamente refrativo; b) refletância especular, onde o ângulo de incidência de energia na amostra é o mesmo refletido; e c) refletância difusa, na qual ocorre interação da radiação com a amostra e ocorre absorção e espalhamento.

2.9.5. Avaliação da Atividade Antioxidante (AA) – UV-Vis

A soja constitui uma importante alternativa para a nutrição humana por ser fonte de proteínas, vitaminas lipossolúveis (especialmente a vitamina E), de minerais como o ferro, cálcio e zinco, além de antioxidantes. Também é rica em ácidos graxos essenciais como o ácido linolênico. Juntamente com seus derivados, são fontes de compostos fenólicos e, entre eles, os flavonóides, em que predominam as isoflavonas (BOLANHO, 2010).

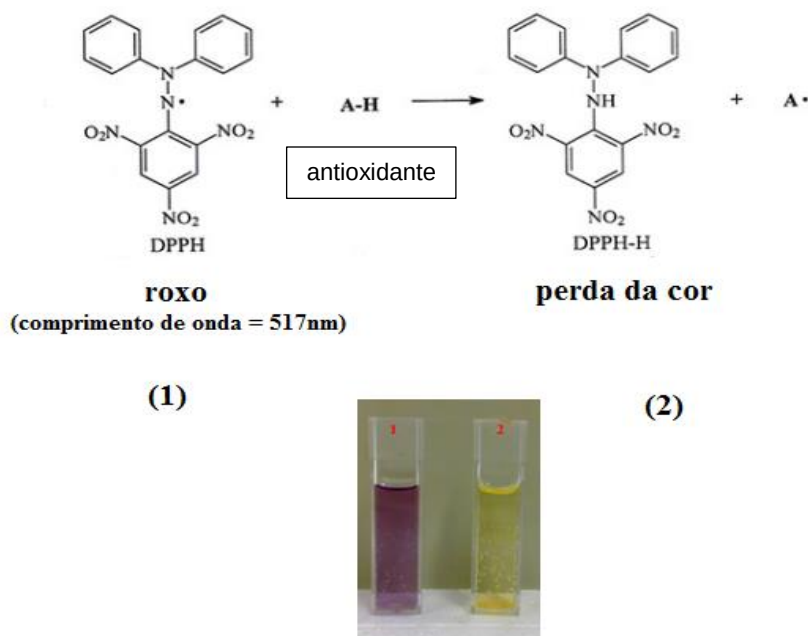
A atividade antioxidante das amostras pode ser determinada pela capacidade doadora de H^+ para o radical estável DPPH $\cdot$ (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), de acordo com a metodologia *in vitro* proposta por MANIAN et al., 2008. Este método baseia-se na redução do radical livre estável de coloração violeta à coloração amarelada.

Barros et al. (2018) avaliaram a atividade antioxidante do extrato de Serjânia pelas técnicas de espectroscopia ótica (UV-Vis) e por ressonância paramagnética eletrônica, em inglês, *electron paramagnetic resonance* (EPR), na qual, para a técnica de UV-Vis, foi observado que o radical livre DPPH foi aniquilado com a concentração de $15\mu g.mL^{-1}$.

O DPPH apresenta máxima absorbância à 517nm, que decresce na presença de moléculas doadoras de H^+ , indicado pela mudança da coloração roxa para amarelo. As amostras reagem com o radical DPPH por um período de 30 minutos em ambiente de pouca luminosidade e, em seguida, são submetidas ao espectrofotômetro UV-Vis a um comprimento de onda de 517nm (BOLANHO, 2010).

A Figura 6 mostra a estrutura do DPPH antes e depois da reação com um composto antioxidante (A-H).

Figura 6 - Mudança da coloração do radical livre (DPPH) antes e depois da reação com um composto antioxidante (A-H).



Fonte: RUFINO (2007); REZENDE (2010).

2.9.6. Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

A espectroscopia por Ressonância Paramagnética Eletrônica ou *Electron Paramagnetic Resonance* (EPR) é uma técnica que permite detectar e caracterizar moléculas com elétrons desemparelhados (espécies paramagnéticas), sem alterar ou destruir as moléculas (SWARTZ et al., 1972). Alguns exemplos destas espécies são: radicais livres, birradicais, defeitos pontuais em sólidos, imperfeições cristalinas (dos SANTOS, 2006). Radicais livres são frequentemente encontrados em sistemas biológicos e são moléculas com um só elétron desemparelhado. Para poder detectar estas moléculas, o elétron desemparelhado deve absorver energia eletromagnética em presença de um campo magnético (HERCULANO, 2005)

Regulla e Deffner (1982) definem o fenômeno EPR como a absorção ressonante de energia eletromagnética em substâncias paramagnéticas pela transição do *spin* de um elétron desemparelhado entre diferentes níveis de energia, em presença de um campo magnético. As primeiras observações experimentais da ressonância paramagnética eletrônica foram reportadas por ZAVOISKY (1946) medindo a potência

absorvida na faixa de radiofrequência. Cummerow e Halliday (1946), também realizaram medições de EPR, mas na região das microondas.

2.9.6.1 - O Fenômeno da Ressonância Paramagnética

Neste estudo foi utilizado $spin = \frac{1}{2}$, portanto serão dois níveis de energia. A transição entre os dois níveis Zeeman ($\pm 1/2 g_e \beta H$) de um sistema paramagnético pode ser induzida pela irradiação de uma onda eletromagnética, com uma frequência ν satisfazendo a condição de ressonância (Equação 2):

$$\Delta E = g_e \beta H_r = h \nu \quad \text{Equação 2}$$

Sendo:

ΔE = diferença de energia para elétrons entre os dois níveis

g_e = é denominado fator g

$\beta = e \hbar / 2m_e c$ é o magneton de Bohr

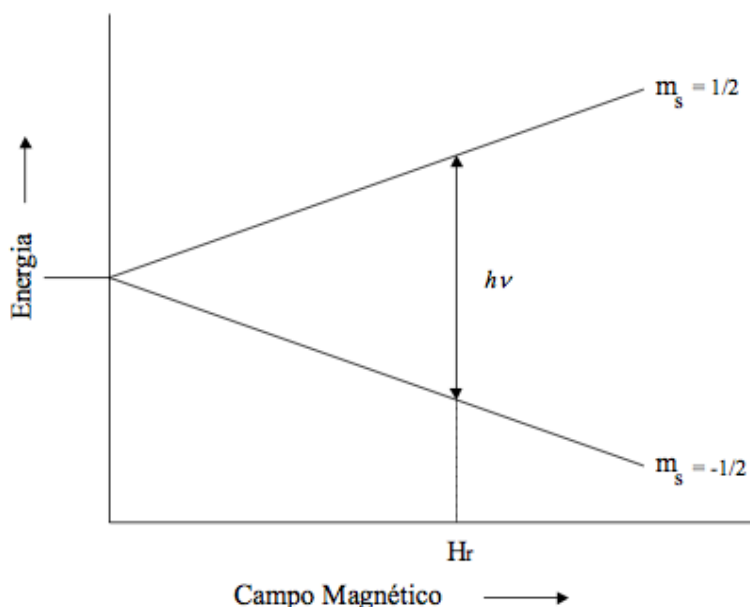
H_r = é o campo magnético de ressonância

$\hbar$ = é a constante de Planck

ν = frequência de microondas

O fator g, ou fator de desdobramento espectroscópico vale 2,0023 para o elétron livre. Com o processo de absorção de energia, a população dos dois níveis de energia N_- e N_+ tende a se igualar. Entretanto, o elétron situado no nível mais elevado libera um quantum de energia $h\nu$ e retorna para o nível de menor energia, satisfazendo a lei de equilíbrio de Maxwell-Boltzmann. Um esquema de energia dos níveis Zeeman e as correspondentes transições podem ser vistas na Figura 7.

Figura 7 - Níveis de energia do elétron em função da intensidade do campo magnético
 - H_r é o valor do campo na ressonância.



Fonte: Adaptado de Herculano (2005).

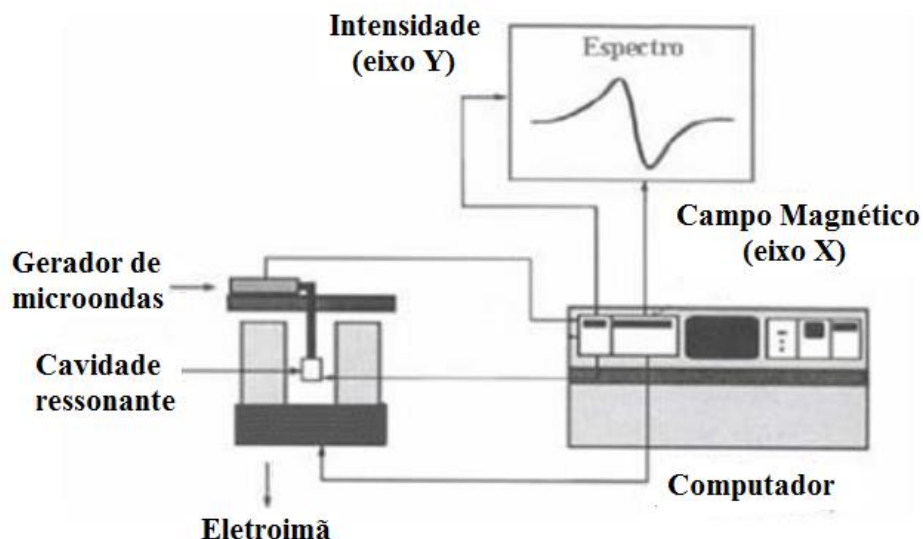
A outra condição para que aconteça a ressonância é que a componente magnética da onda eletromagnética deve ser perpendicular ao campo H_r . Nos experimentos, para atingir a ressonância, segundo a Equação 2, pode-se variar a frequência do campo eletromagnético oscilante ou o valor do campo magnético. Na prática prefere-se, por considerações experimentais, varrer o campo (**H_r**), deixando a frequência (**ν**) fixa. Valores típicos para arranjos experimentais de EPR são:

- Banda-X, tem-se que $\nu = 9.5\text{GHz}$ e $H_r \approx 340\text{mT}$;
- Banda-K, tem-se que $\nu = 25\text{GHz}$ e $H_r \approx 900\text{mT}$;
- Banda-Q, tem-se que $\nu = 70\text{GHz}$ e $H_r \approx 2500\text{mT}$.

Vale ressaltar que trata-se de uma técnica interessante para detectar e quantificar a redução de radicais livres de extratos vegetais (dos SANTOS et al., 2009). Além disso, é uma técnica complementar ao método comumente empregado que utiliza a espectroscopia ótica (UV-VIS). O espectrômetro de EPR é composto por uma fonte do campo magnético externo, fonte de micro-ondas, guia de ondas e cavidade ressonante, sistema de detecção e o registro (HERCULANO, 2005; BARROS et al.,

2018). A Figura 8 apresenta um esquema de sistema de detecção de sinal de EPR.

Figura 8 - Esquema do espectrômetro de EPR.



Fonte: Adaptado de Cogo (2008).

2.9.7. Fenólicos Totais

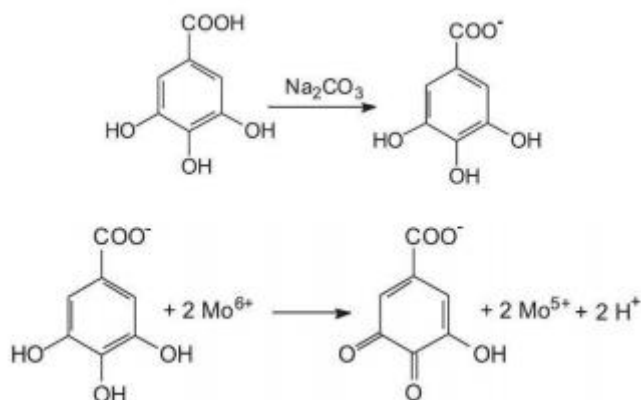
Um dos métodos mais utilizados para obtenção do teor de compostos fenólicos totais em alimentos é o desenvolvido por Singleton e Rossi (1965), modificado por Nuutila et al. (2003), no qual emprega-se o reagente de Folin-Ciocalteu.

Trata-se de um método colorimétrico, baseado na redução dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico em solução alcalina. Produz uma coloração azul pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos e é medida espectrofotometricamente, na faixa de absorção visível no comprimento de onda de 735 nm.

Os compostos fenólicos constituem uma grande classe de fitoquímicos alimentares e encontram-se distribuídos entre as partes das plantas; porém, sua maior concentração está nas frutas, hortaliças e em seus derivados. Sua estrutura química contém ao menos um anel aromático, o qual está unido a uma (ou mais) hidroxila(s) e, conforme o número e a posição dessas hidroxilas na cadeia, esses compostos apresentam diferentes propriedades de se complexar com os radicais livres, neutralizando-os. Os compostos fenólicos presentes nos vegetais são os principais responsáveis pela atividade antioxidante (SOUSA; VIEIRA; LIMA, 2011).

A Figura 9 mostra a desprotonação dos compostos fenólicos, no caso o ácido gálico em meio básico, gerando os ânions (neste exemplo, carboxilado). O componente de Folin-Ciocalteu sofre redução fazendo com que a reação mude da cor amarela para o azul (REZENDE, 2010).

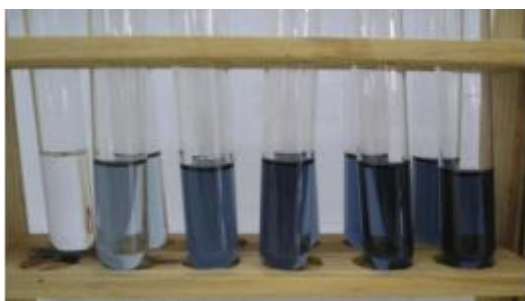
Figura 9 - Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.



Fonte: Adaptado de Rezende (2010).

A quantificação de compostos fenólicos por espectrofotometria presentes nas amostras de soja e seus subprodutos envolve a redução do reagente Folin-Ciocalteu com formação de complexo azul, cuja intensidade aumenta linearmente a 735nm. Tal coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, como pode ser observado na Figura 10.

Figura 10 - Dosagem de fenóis totais empregando o reagente Folin.



Fonte: VEDANA, 2008.

3.OBJETIVOS

3.1.OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antioxidante remanescente na farinha de okara obtida a partir de okara *in natura*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição química e centesimal e a avaliação microbiológica do grão de soja, extrato hidrossolúvel de soja, okara *in natura* e farinha de okara.
- Estabelecer a composição físico-química de grãos de soja, extrato hidrossolúvel de soja, okara *in natura* e farinha de okara utilizando a espectroscopia no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).
- Avaliar a atividade antioxidante (AA) utilizando a metodologia do sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) associado às técnicas de espectrofotometria e EPR em amostras de grãos de soja, extrato hidrossolúvel de soja, okara *in natura* e farinha de okara.
- Determinar compostos fenólicos totais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras estudadas foram obtidas da UniverSoja da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara/FCF-UNESP e foram analisadas no Laboratório do Grupo de Bioengenharia de Biomateriais do Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia da FCF/UNESP e no Laboratório de Pesquisas em Probióticos do Departamento de Alimentos e Nutrição da mesma Unidade.

4.1. Materiais

4.1.1. Grãos de soja

Os grãos de soja, grupo I, tipo 1, com hilo claro, safra 2017, Lote 084/17, cultivar 232, classificada para alimentação, cedidos pela UniverSoja foram adquiridos pela Prefeitura Municipal de Araraquara/SP da empresa Agro Pecuária Tibagi, situado na cidade de Tibagi/Paraná.

De acordo com a Instrução Normativa 11/2017, de 16/05/2017 do MAPA, a soja é classificada em dois grupos, I e II, que são destinados, respectivamente, ao consumo humano e a outros usos como a fabricação de óleo e farelo de soja. Ainda de acordo com a mesma Normativa, a classificação por tipos é baseada na qualidade do grão, de acordo com os percentuais de tolerância estabelecidos na referida Norma.

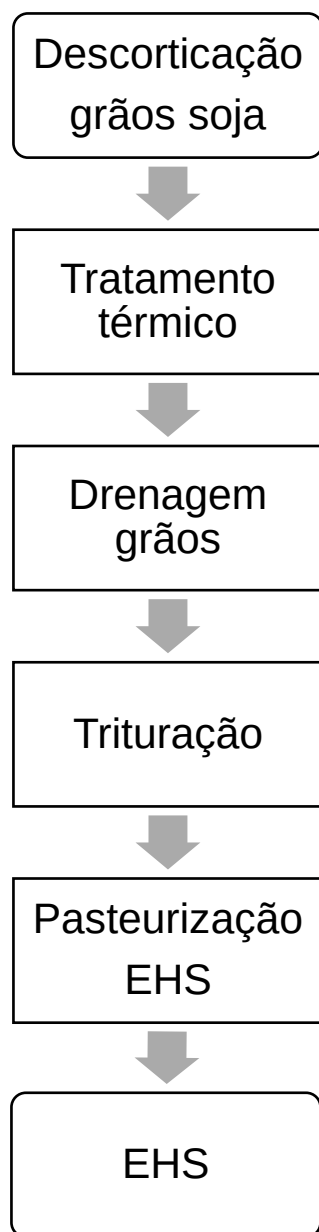
4.1.2. Extrato Hidrossolúvel de Soja (EHS)

O EHS foi obtido durante o processamento da UniverSoja e segue as Boas Práticas de Fabricação (BPF), de acordo com o Manual de Boas Práticas da UniverSoja/FCF-UNESP-Araraquara. Os grãos de soja pesados são levados, primeiramente, a um equipamento onde são descorticados e partidos. As cascas resultantes desse procedimento são levadas à área externa da planta industrial e consideradas resíduo. Os grãos já partidos são, então, manualmente levados para os tanques de cozimento (97°C), onde ocorre um primeiro tratamento térmico, com finalidade de hidratação dos grãos e inativação da enzima lipoxigenase para evitar a formação de compostos de sabor desagradável na bebida pronta.

Os grãos ficam imersos em água fervente por 7 minutos, com o equipamento ligado. A seguir, ficam por mais 7 minutos em imersão, com o equipamento desligado, sendo então drenados. Durante o período do tratamento térmico, cascas sobem à superfície do tanque de cozimento e são removidas com o auxílio de escumadeiras, sendo também consideradas resíduo do processamento do EHS. Após a drenagem, os grãos hidratados sofrem adição de antiespumante próprio para produtos à base de soja e são manualmente conduzidos à Unidade Básica de Extração, onde os grãos sofrem trituração em um moinho de 16 facas. Simultaneamente à trituração, ocorre a entrada regulada de água potável, resultando no extrato hidrossolúvel de soja e no okara, que é recolhido na saída do equipamento em baldes ou caixas plásticas higienizadas. A seguir, o extrato passa por um processo de pasteurização, com elevação da temperatura seguido de rápido resfriamento, sendo então conduzido à embaladora, na qual o produto é envasado em embalagens de polietileno de baixa densidade, flexíveis e esterilizadas por radiação ultravioleta.

O EHS é um produto sem conservantes e necessita de refrigeração (5°- 7°C) até o momento do consumo, dentro do prazo de validade estipulado (4 dias). A Figura 11 mostra o fluxograma de produção do EHS.

Figura 11 - Fluxograma de produção do extrato hidrossolúvel de soja



Fonte: Adaptado do Manual BPF UniverSoja, 2018.

4.1.3. Okara *in natura*

O resíduo foi obtido no processamento do extrato hidrossolúvel de soja na UniverSoja.

O okara é recolhido na saída lateral da Unidade Básica de Extração em baldes ou caixas plásticas higienizadas. A temperatura média do resíduo na saída lateral do equipamento é de 80°C. A Figura 12 mostra o okara *in natura* produzido pela UniverSoja.

Figura 12 - Okara *in natura* resultante do processamento do EHS.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.1.4. Farinha de okara

A farinha de okara foi obtida a partir do okara *in natura*, proveniente do processamento dos grãos de soja na obtenção do EHS. O material foi acondicionado em assadeiras e seco em estufa de circulação de ar forçada Quimis, a 60°C, por 8-10 horas (Figura 13a). Após a secagem (Figura 13b), o produto foi resfriado à temperatura ambiente, triturado e tamisado. Foi utilizado um tamis fabricado pela empresa Tamis Bertel Indústria Metalúrgica Ltda com abertura de 0,600mm, com Tyler/Mesh de 28.

Figura 13 - Okara em processo de secagem (a) e okara após secagem (b)

(a)



(b)



Fonte: Arquivo pessoal.

4.2. Métodos

4.2.1. Composição Centesimal e Nutricional

Os teores de umidade, cinzas e proteínas foram determinados segundo a AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2005).

Todas as amostras foram avaliadas quanto aos teores de gordura pelo método de Bligh-Dyer segundo IAL, 2008, quanto aos teores de proteína pelo método de Kjeldahl segundo a AOAC, 2005, de sólidos totais, cinzas e carboidratos pelo método de secagem do produto a 105°C, método de incineração a 550°C e por diferença (fração NIFEXT) segundo AOAC (2005), respectivamente. O teor calórico dos produtos foi calculado com base no conteúdo de proteínas, lipídeos e carboidratos. O teor de fibras alimentares (fibras solúveis e insolúveis) foi determinado pelo método enzimático gravimétrico (IAL, 2008). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.2. Determinação de Acidez titulável, Aa e pH

Os produtos analisados foram caracterizados quanto à acidez titulável, atividade de água e pH. Todas as análises físico-químicas foram realizadas em triplicata. A atividade de água foi determinada utilizando-se medidor de atividade de água (AQUALAB CX-2, EUA). As amostras de grãos de soja foram previamente trituradas e as demais foram analisadas sem nenhum tipo de preparo. Os valores de pH foram medidos em pHmetro (IAL, 2008) marca Qualxtron, modelo 8010, em amostras preparadas pela mistura de 10g de amostra e 90mL de água deionizada, exceto para o EHS (direto). A acidez titulável foi determinada por titulação com NaOH 0,1N e expressa em mL de NaOH/100g, nas mesmas condições de diluição utilizada para determinação de pH (AOAC, 2005).

4.2.3. Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas para garantir a segurança microbiológica dos produtos, de acordo com o que preconiza a RDC 12/2001, no item 24 letra “a” para produtos à base de soja (bebida à base de extrato de soja, aromatizada ou não, desengordurada ou não, refrigerada e similares; extrato desidratado e proteína texturizada de soja, desengordurado ou não e similares). Amostras de 25 g dos produtos foram assepticamente homogeneizadas com 225 mL de água peptonada tamponada 0,1%. Diluições seriadas foram preparadas e a inoculação foi realizada

em meios de cultura seletivos adequados para cada gênero/espécie estudado. Foram pesquisados: Coliformes termotolerantes a 45°C (NMP/mL), pela metodologia do número mais provável, *Bacillus cereus* e *Salmonella spp.*

A pesquisa de coliformes termotolerantes (coliformes a 45°C) foi realizada conforme a metodologia do Número Mais Provável (NMP) segundo a American Public Health Association (KORNACKI; JOHNSON, 2001), utilizando Caldo Lauril Sulfato Triptose para o teste presuntivo, caldo de Verde Brilhante-lactose bile e Caldo EC para os testes confirmativos. Para a pesquisa de *Bacillus cereus* foi realizada contagem direta em placas (BENNETT; BELAY, 2001), utilizando ágar Manitol-Polimixina B (MYP).

Para *Salmonella spp.* foi realizado pré-enriquecimento em água peptonada tamponada; enriquecimento seletivo em caldo Tetracionato (TT) e caldo Rappaport-Vassiliadis (RV); multiplicação em ágar Hekton-enteric (HE) e ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). Colônias características foram submetidas a testes bioquímicos: ágar triplice ferro (TSI), ágar lisina ferro (LIA) e ágar uréia (UA) (DOWNES; ITO, 2002).

4.2.4. Caracterização físico-química: Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Com o intuito de identificar os grupos funcionais, os espectros de infravermelho das amostras de grão de soja, EHS, EHS desidratado, okara *in natura* e farinha de okara foram avaliados pela técnica de espectroscopia no infravermelho em um espectrofotômetro FTIR - TENSOR 27/ BRUKER localizado no Grupo de Bioengenharia e Biomateriais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara/UNESP. O equipamento opera mediante a técnica de transformada de Fourier com o método de refletância total atenuada (ATR), sendo registrados os espectros com absorção na região compreendida entre 4000 e 400 cm^{-1} , fonte de laser HeNe e detector DLaTGS com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras.

4.2.5. Avaliação da Atividade Antioxidante (AA)

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada utilizando dois métodos, o ensaio espectrofotométrico e o ensaio de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR), ambos empregando o radical livre (DPPH, 2,2-difenil-1-picril-hidrazila). As metodologias foram selecionadas com o objetivo de fornecer dados comparativos para a

atividade antioxidante. O efeito antioxidante da soja e subprodutos foi determinado pela capacidade doadora de H^+ para o radical estável DPPH· (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), de acordo com a metodologia *in vitro* proposta por Manian et al., 2008.

4.2.5.1 Atividade Antioxidante pela técnica de espectrofotometria- UV-Vis

Este método baseia-se na redução do radical livre estável de coloração violeta à coloração amarelada. O teste possui ainda a vantagem de analisar muitas amostras em um curto período, sendo sensível o suficiente para detectar baixas concentrações dos princípios ativos. O potencial antioxidante das amostras foi observado pelo grau de descoloração do reagente após os 30 minutos necessários para acontecer a reação (BARROS et al., 2018).

Neste estudo, a curva padrão foi produzida com uma solução metanólica de ácido L-ascórbico Sigma-Aldrich, lote SLBF6747V, na concentração de $0,4 \text{ mg.mL}^{-1}$. As diluições utilizadas foram de 400, 300, 200, 100, 50, 25 e $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Os experimentos foram realizados em triplicata, utilizando 3,9mL de solução metanólica de DPPH ($0,04 \text{ mg.mL}^{-1}$) e 500 μL dos extratos das amostras. O DPPH apresenta máxima absorvância à 517nm, que decresce na presença de moléculas doadoras de H^+ , indicado pela mudança da coloração roxa para amarelo. A Figura 14(a) mostra o espectrofotômetro e a Figura 14(b), os tubos com amostras.

Figura 14 – Espectrofotômetro UV-VIS - Bel Engineering SF 200 ADV (LGS53) (a) e tubos de ensaio contendo os extratos das amostras e o radical livre DPPH (b)



Fonte: Arquivo pessoal.

As amostras foram incubadas com o radical DPPH por um período de 30 minutos em ambiente de pouca luminosidade e, em seguida, foram submetidas ao espectrofotômetro UV-Vis a um comprimento de onda de 517nm. O cálculo da atividade antioxidante foi realizado de acordo com a Equação 3:

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = \frac{(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}})}{A_{\text{controle}}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

A_{amostra} é a absorbância das amostras após 30 minutos em baixa luminosidade

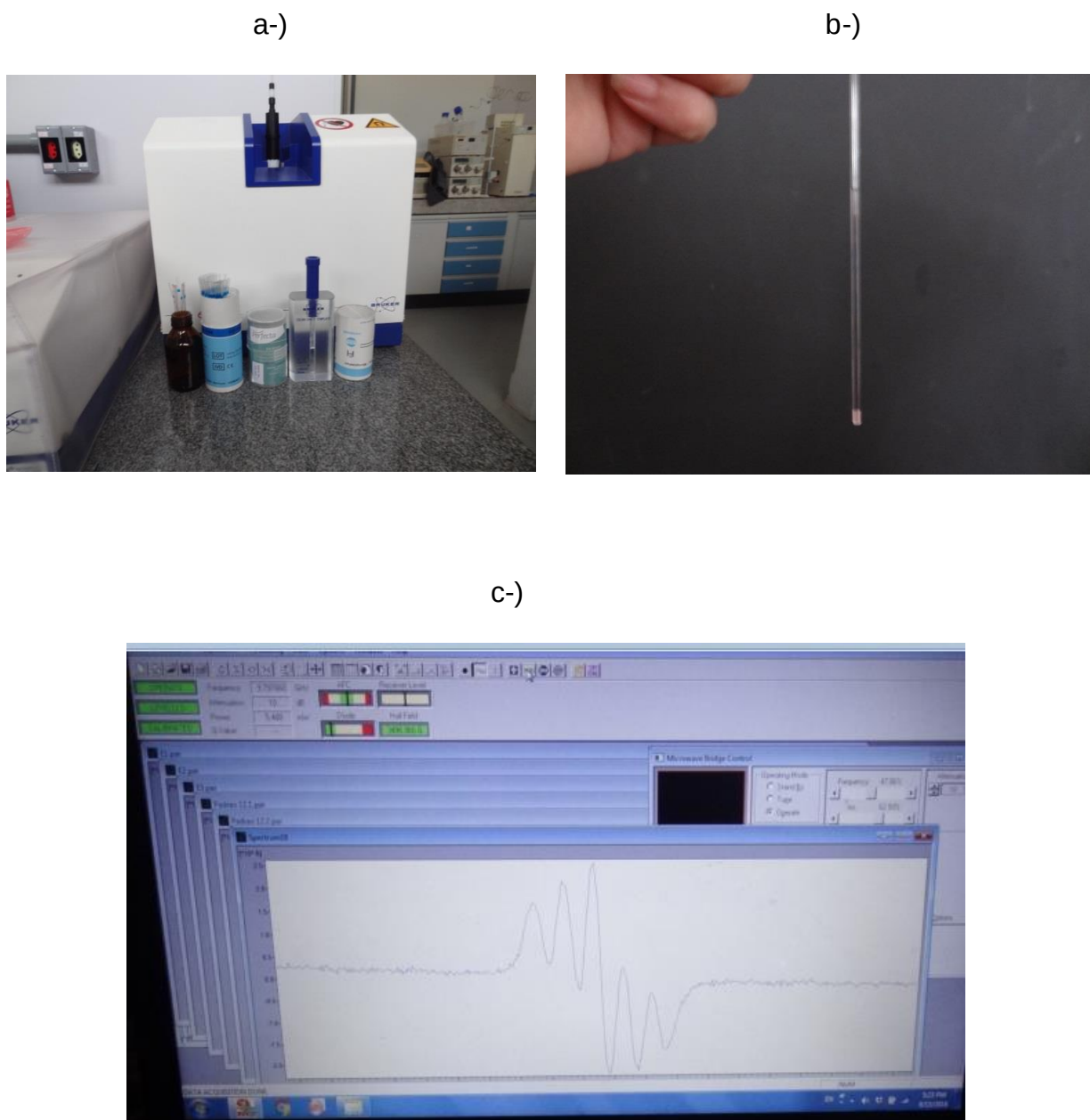
A_{controle} é a absorbância do DPPH, ambos a 517nm.

4.2.5.2 Atividade Antioxidante pela técnica de EPR - Ressonância paramagnética eletrônica

O teste da atividade antioxidante contra o radical livre presente no DPPH empregando a técnica de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) foi realizado de acordo dos Santos et al. (2006) com adaptações. Todas as soluções foram transferidas para um tubo de vidro capilar, que foi selado e colocado dentro de um tubo de quartzo padrão EPR (diâmetro interno de 3,00 mm) e levado para a cavidade ressonante do espectrômetro. Este procedimento foi realizado em temperatura ambiente (25°C).

Os espectros de EPR foram registrados em um espectrômetro banda X (9.5GHz) da marca Bruker® modelo e-Scan com um campo magnético central de 3480 Gauss (G), campo de varredura de 3395-3595 G, tempo de varredura de 20,97 segundos, amplitude de modulação de 3,29 G, frequência de modulação de 86,0 kHz e potência de microondas de 10,93 mW, demonstrados a seguir (Figura 15):

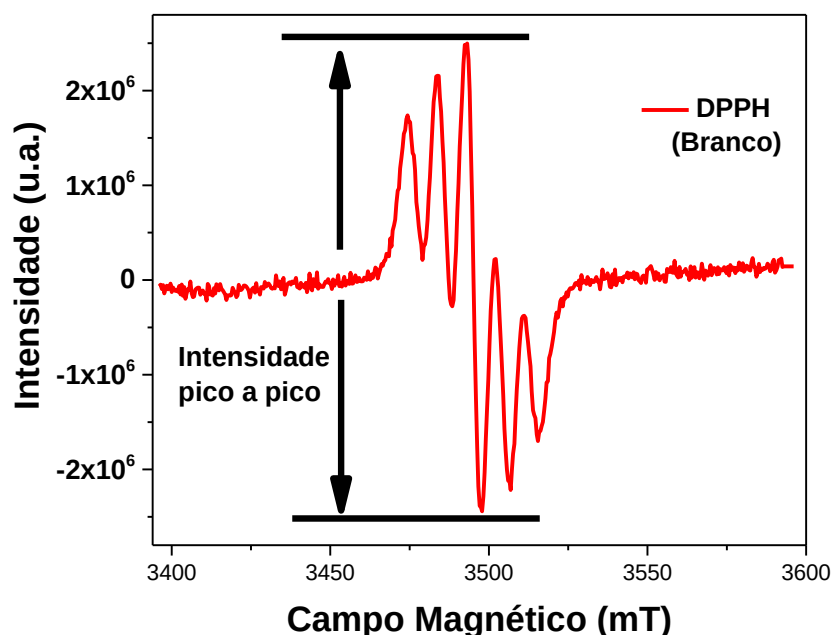
Figura 15 – Espectrômetro de EPR Bruker e-Scan, banda-X (a) capilar com amostra de DPPH (b) e exemplo de espectro da amostra de DPPH (c)



Fonte: Arquivo pessoal.

A atividade antioxidante dos extratos das amostras foi determinada pela intensidade do sinal, pois avaliou-se apenas uma espécie paramagnética na qual não foi observado nenhuma mudança significativa na forma de linha (HERCULANO, 2005). Nesta técnica, observou-se que com a adição dos extratos das amostras houve aniquilamento (diminuição) da intensidade do sinal de DPPH que é um radical, mostrando a capacidade antioxidante de cada composto (Figura 16).

Figura 16 - Intensidade do sinal do pico a pico do DPPH pela técnica de EPR.



4.2.6. Fenólicos Totais

A quantidade de compostos fenólicos totais foi determinada utilizando o método desenvolvido por Singleton e Rossi (1965), modificado por Nuutila et al. (2003), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. Uma curva padrão foi traçada utilizando o ácido gálico. Cinco soluções-estoque (10, 20, 40, 80 e 150 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) de ácido gálico foram preparadas em metanol e após diluições foram empregadas na construção da curva de calibração. A absorbância de todas as amostras e do padrão foi medida em 735 nm usando um espectrofotômetro modelo LGS 53 UV-Vis BEL Photonics, e os resultados foram expressos em μg de ácido gálico por mg de peso seco do extrato usando a equação obtida a partir de uma curva padrão de calibração de ácido gálico. Todos os testes foram realizados em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Composição centesimal e análises físico-químicas

A composição centesimal, que inclui análises de umidade, resíduo mineral fixo (cinzas), proteínas, lipídeos, fibras e carboidratos, permite calcular o valor calórico

total do alimento, importante dado para a rotulagem de produtos alimentícios e para bancos de dados de composição dos alimentos (BRASIL, 2003; TORRES et al., 2000; USP, 2017). Os valores de fibras alimentares, solúveis e insolúveis, estão inseridos em carboidratos totais.

A Tabela 1 apresenta os resultados (b.u.) da composição centesimal para as amostras estudadas e a Tabela 2 mostra os valores de Carboidratos Totais e de Fibras Alimentares Totais (FAT), Fibras Alimentares Insolúveis (FAI) e Fibras Alimentares Solúveis (FAS).

Tabela 1 - Resultados da composição centesimal: (média $\pm$ desvio padrão).

Amostra	Umidade	Cinzas	Lipídeos	Proteínas	CT	VCT
Grão soja	10,58 $\pm$ 0,24	4,59 $\pm$ 0,20	17,16 $\pm$ 1,05	36,23 $\pm$ 0,03	31,44 $\pm$ 0,65	425,16 $\pm$ 6,99
Okara	79,41 $\pm$ 0,58	0,69 $\pm$ 0,03	4,56 $\pm$ 0,07	9,64 $\pm$ 0,05	5,70 $\pm$ 0,55	102,37 $\pm$ 2,63
Farinha okara	6,59 $\pm$ 0,26	3,03 $\pm$ 0,08	24,09 $\pm$ 0,87	39,55 $\pm$ 1,17	26,74 $\pm$ 1,46	481,99 $\pm$ 3,45
EHS	96,24 $\pm$ 0,24	0,21 $\pm$ 0,01	1,38 $\pm$ 0,05	1,84 $\pm$ 0,14	0,33 $\pm$ 0,12	21,11 $\pm$ 1,21

Tabela 2 – Carboidratos Totais e Fibras Alimentares

(b.u.)	Grão soja	Okara <i>in natura</i>	Farinha okara	EHS
% Carboidratos totais,	31,44	5,70	26,74	0,33
dos quais:				
FAI (%)	16,29	3,66	16,58	0,005
FAS (%)	0,19	0,04	0,17	0,002
FAT (%)	16,48	3,70	16,75	0,009

* Fibras Alimentares Totais (FAT), Fibras Alimentares Insolúveis (FAI) e Fibras Alimentares Solúveis (FAS).

Os resultados da determinação de umidade dos grãos de soja encontrados no presente estudo (10,58%), apresentados na Tabela 1, estão de acordo com a Instrução Normativa 11/2007, na qual a porcentagem máxima de umidade é de 14%. Parâmetros de temperatura, tempo de armazenamento, teor de água e porcentagem de grãos quebrados são fatores que podem acelerar ou retardar o processo de deterioração do produto e interferir no valor do mesmo (DE ALENCAR et al., 2009). O valor encontrado para atividade de água nos grãos foi de 0,68, sendo que 0,65 é considerado como valor mínimo para a multiplicação de bolores xerofílicos. Valores de atividade de água próximos a 0,68 são propícios à multiplicação de fungos deteriorantes. Franco e Landgraf (2003) descrevem os valores de A_w para alguns alimentos, como o arroz (de 0,80 a 0,87), frutas secas (de 0,51 a 0,89) e cereais (de 0,10 a 0,20).

A umidade é o fator de maior importância na prevenção da deterioração do grão no período de armazenamento (SMANIOTTO et al., 2014). Dessa forma, o armazenamento seguro proporciona condições desfavoráveis ao desenvolvimento de insetos, roedores e microrganismos, sendo dependente da relação quantitativa entre a taxa de deterioração, qualidade e condições de armazenagem do grão, o que poderia causar, entre outros prejuízos, alteração das propriedades funcionais da soja (DE ALENCAR et al., 2009).

Gonçalves et al., 2014, ao estudarem a composição química de duas cultivares de grãos de soja, BRS 284 e BMX Potência RR, encontraram valores de umidade de 7,99 e 7,59%, respectivamente. Valores de umidade entre 9 e 11% são considerados ideais para a conservação dos grãos (BENASSI; BENASSI; PRUDÊNCIO, 2011). Embora o parâmetro de teor de umidade não seja utilizado na classificação dos grãos, o monitoramento desse parâmetro reveste-se de fundamental importância no recebimento de matérias-primas destinadas à produção de EHS pelos motivos supracitados. Os resultados das análises físico-químicas estão representados a seguir na Tabela 3:

Tabela 3 – Resultados de Análises Físico-Químicas (média±desvio padrão)

Amostra	pH	Acidez	Atividade de água
Grãos de soja	6,70 ± 0,02	0,65 ± 0,00	0,68 ± 0,01
Okara <i>in natura</i>	7,33 ± 0,01	0,05 ± 0,00	1,00 ± 0,01
Farinha de okara	7,04 ± 0,02	0,28 ± 0,03	0,45 ± 0,02
EHS	6,93 ± 0,01	0,58 ± 0,03	0,99 ± 0,01

Os elevados valores de umidade (79,41%) e de atividade de água (1,00) encontrados no okara *in natura* podem favorecer a possibilidade de deterioração rápida, pois a preservação do alimento depende da quantidade de água presente no mesmo, podendo encontrar-se livre ou ligada. A água livre ou absorvida é a forma predominante; a água não se encontra ligada a nenhuma estrutura molecular dentro da célula, mas está presente nos espaços intergranulares e nos poros do alimento, sendo expressa pela atividade de água (CELESTINO, 2010). Pauletto e Fogaça (2012), ao estudarem a composição centesimal de tofu e de okara, encontraram teor de umidade de 84,2% no okara, mais elevado que o valor obtido neste estudo. A diferença pode ser atribuída ao processo de extração e às diferenças entre as cultivares.

Por definição, farinha é o produto obtido pela moagem da parte comestível de vegetais, podendo sofrer previamente processos tecnológicos adequados (ANVISA, 1978). De acordo com essa legislação, farinha parcialmente desengordurada de soja e farinha desengordurada de soja podem ter valores de umidade até 14 e 8%, respectivamente. Considerando a similaridade do produto, os resultados obtidos estão em conformidade (6,59%), sugerindo uma boa estabilidade para a farinha assim como sugerem os resultados de acidez (0,28%) e atividade de água (0,45). Valores elevados de acidez poderiam comprometer a qualidade da farinha pois podem indicar deterioração por hidrólise, fermentação ou oxidação. Já a atividade de água está abaixo do valor considerado como limitante para a multiplicação de microrganismos (FRANCO; LANDGRAF, 2003). Na obtenção de produtos como a farinha, o efeito da diminuição da atividade de água a um valor inferior ao considerado ótimo para um determinado microrganismo, reflete no aumento da fase *lag* do crescimento microbiano (latência) e

na diminuição da velocidade de multiplicação e do tamanho da população microbiana final (FRANCO; LANDGRAF, 2003). Os valores elevados de carboidratos para a farinha devem-se ao teor de açúcares, digeríveis e não digeríveis, além do teor de fibras alimentares.

Os valores obtidos nas análises de umidade para o EHS (96,24%) encontram-se acima dos dados disponíveis na literatura, sendo que para os parâmetros cinzas (0,21%), carboidratos (0,33%) e lipídeos (1,38%) encontram-se de acordo. Já o valor de proteínas encontrado (1,84%) foi inferior à recomendação de teor mínimo de 3%, conforme consta na RDC 268, de 22 de setembro de 2005, que aprova o regulamento técnico para produtos proteicos de origem vegetal. Ciabotti (2004) analisou o teor de umidade em extratos obtidos a partir de soja convencional, soja convencional branqueada e soja livre de lipoxigenase e encontrou valores de 93,70%, 95,18% e 93,79%, respectivamente. A umidade elevada é decorrente do fator de diluição empregado no processo de extração na UniverSoja, o que pode interferir no valor de proteínas no extrato. Para os teores de fibras, os valores encontrados são baixos, como esperado. Isso pode ser explicado pelo processo de extração na UniverSoja, devido ao moinho de 16 facas e ao processo de filtração adicional, que utiliza uma tela de tecido, acoplada ao cesto perfurado da centrífuga. Com isso, o extrato obtido possui maior teor de água e uma possível redução no teor de fibras. Para o parâmetro teor de cinzas, Ciabotti (2004) encontrou teores de 0,18 a 0,36%. O valor encontrado de teor de lipídeos encontra-se muito próximo de outros dados encontrados na literatura. Mercaldi (2006) relata o valor de 1,4% em seu estudo para esse parâmetro. Já Ciabotti (2004) encontrou valores de carboidratos entre 0,05 e 0,87% nas amostras estudadas.

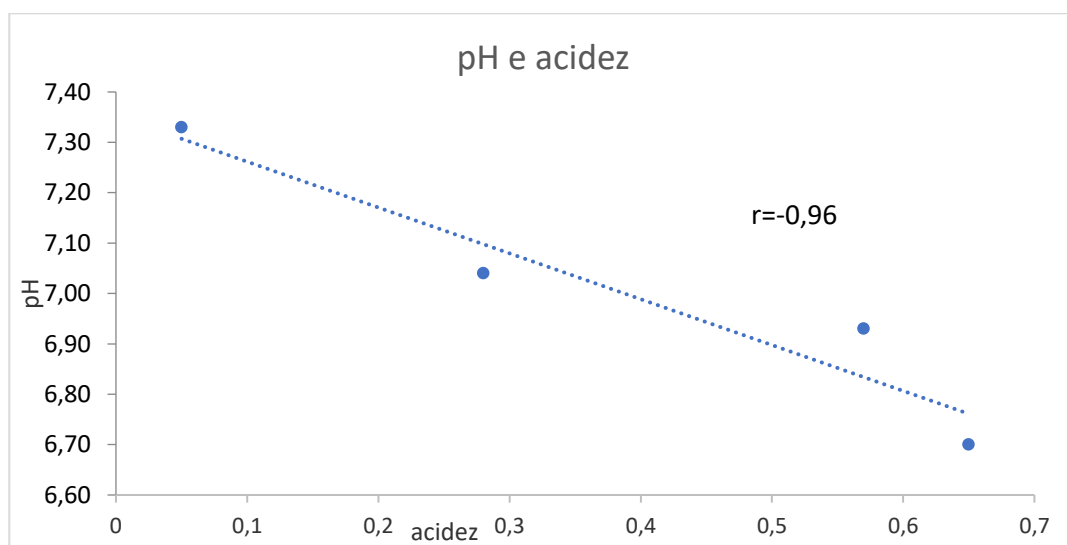
O valor elevado de Aa do extrato, assim como o do okara, favorecem a possibilidade de deterioração, embora os resultados microbiológicos apresentem-se satisfatórios. A importância da atividade de água está na sua relação com a conservação dos alimentos, sendo que esses valores demonstram quais as chances do alimento se deteriorar.

O índice de acidez titulável é tolerável até 0,70% para grãos de soja e o resultado obtido encontra-se dentro dos padrões. A determinação da acidez é um índice que pode indicar deterioração dos grãos e, nesse processo, ocorre a formação de ácidos graxos livres, especialmente ácido linoleico. Operações inadequadas na

colheita e no beneficiamento iniciam o processo degradativo. As Boas Práticas na pré-colheita, colheita, armazenamento e transporte são importantes para evitar a deterioração dos grãos (OLIVEIRA et al., 2018).

Em todas as amostras estudadas, os valores encontrados para índice de acidez e pH encontram-se de acordo com outros dados da literatura e se correlacionam negativamente como era esperado ($r = -0,96$), conforme demonstrado na Figura 17.

Figura 17 - Relação entre pH e acidez



Os valores encontrados de pH, próximos à neutralidade, sugerem que valores entre 6,5 e 7,5 são os mais favoráveis para a multiplicação da maioria dos microrganismos, tanto de espécies patogênicas, quanto de deteriorantes (FRANCO; LANDGRAF, 2003), mas não interferiram nos resultados das análises microbiológicas, que se encontram nos padrões para alimentos à base de soja.

Os resultados de cinzas em grãos de soja encontram-se de acordo com dados encontrados na literatura. Gonçalves et al., 2014 estudaram duas cultivares de soja e encontraram valores de 4,43 e 4,23% de cinzas em base úmida. Estudos apontam que a composição centesimal de oito diferentes cultivares de grãos de soja apresentaram resultados para a determinação de cinzas que variaram de 4,45 a 6,60% e os resultados nos grãos estudados encontram-se concordantes com essa faixa de valores. A importância de determinações de cinzas relaciona-se à determinação da composição centesimal e do valor calórico total, além de fornecer informações sobre a quantidade de minerais e de matéria orgânica total (ALVES et al., 2011).

Os valores de resíduo mineral fixo (cinzas) do okara *in natura* estão relacionados com quantidades de cálcio, ferro, magnésio, fósforo, sódio, potássio e zinco encontrados na soja (CARRÃO-PANIZZI; MANDARINO, 1998), assim como ocorre com a farinha e encontram-se de acordo com dados da literatura. Pauletto e Fogaça (2012) encontraram teores de 0,8% de cinzas em amostras de okara.

Os valores encontrados de lipídeos para grãos de soja encontram-se pouco abaixo (17,16%) dos valores apontados em outros estudos e as diferenças podem estar relacionada ao cultivar estudado. Benassi et al., 2011, encontrou 20,17% (b.u.) de teor de lipídeos na cultivar BRS 155. Já os teores de proteínas (36,23%) estão um pouco acima de acordo com outros estudos. Segundo Gonçalves et al., 2014, ao estudarem grãos de soja, encontraram teores de proteínas de 30,58% e 32,10% em base úmida em duas variedades.

O valor encontrado de carboidratos nos grãos deve-se à presença, além da sacarose, de açúcares não digeríveis, a rafinose e a estaquinose (CALLEGARI, 2003), além de fibras, em que predomina a fração insolúvel.

Os efeitos positivos da fibra alimentar relacionam-se, em parte, ao fato de que uma parcela da fermentação de seus componentes ocorre no intestino grosso, produzindo impacto sobre a velocidade do trânsito intestinal, sobre o pH do cólon e sobre a produção de importantes subprodutos com função fisiológica. Indivíduos com elevado consumo de fibras parecem apresentar menor risco para o desenvolvimento de doença coronariana, hipertensão, obesidade, diabetes e câncer de cólon. O aumento na ingestão de fibras reduz os níveis séricos de colesterol, melhora a glicemia em pacientes com diabetes, reduz o peso corporal e foi associado com menores níveis séricos de proteína C reativa ultrassensível. O maior consumo de fibras e a ingestão de mais fibras do que a atualmente recomendada (14 g/1.000 kcal) poderão trazer maior benefício à saúde, incluindo a redução de processos inflamatórios de baixo grau. Bernard (2013), em seu estudo, encontrou, em todas as amostras testadas, predomínio de fibras insolúveis como a celulose, hemicelulose, lignina e algumas pectina.

Os valores de lipídeos, tanto para o okara *in natura* (4,56%) quanto para a farinha de okara (24,09%), estão acima dos valores encontrados em outras pesquisas, demonstrando que a maior parte dos lipídeos dos grãos encontram-se no okara e, conseqüentemente, na farinha fabricada a partir dele, o que também é explicado por

se tratar de produto não desengordurado. Larosa et al.(2006) aponta 3,36% de teor de lipídeos em farinha de okara enquanto outro estudo sugere teor de 0,8% de lipídeos em okara *in natura* (PAULETTO; FOGAÇA, 2012). Os resultados obtidos para o parâmetro teor de proteínas do okara (9,64%) está acima de outros dados da literatura, Pauletto e Fogaça encontraram teor de 6,3% em um estudo de tofu e okara. Para a farinha (24,09%), Larosa et al. (2006) encontraram valores superiores no teor de proteínas (38,27%) na elaboração de um biscoito doce à base de farinha de okara. O teor de carboidratos no okara *in natura* (5,70%) encontra-se próximo ao valor descrito por Pauletto e Fogaça (2012), assim como o teor de fibras (3,50%) descrito no trabalho citado e 3,70% na amostra objeto desta pesquisa.

O resultado obtido para o EHS para atividade de água (0,99) encontra-se no limite máximo para o crescimento microbiano, que é ligeiramente menor que 1,00. Em geral, as bactérias requerem atividade de água mais alta que os fungos e as bactérias deteriorantes não se multiplicam em atividade de água inferior a 0,91 (Tabela 3). Embora a condição pareça ideal para a multiplicação de microrganismos, existem outros fatores interdependentes como a temperatura e a disponibilidade de nutrientes que interferem nesse crescimento. Os valores encontrados de pH (6,93) e de acidez (0,57%), próximos à neutralidade, favorecem a multiplicação da maioria dos microrganismos, tanto de espécies patogênicas, quanto de deteriorantes (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

5.2. Avaliação Microbiológica

Nas amostras analisadas foram pesquisados coliformes termotolerantes a 45°C, *Bacillus cereus* e *Salmonella spp.* Os resultados obtidos estão de acordo com os padrões estabelecidos na RDC 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de 02 de janeiro de 2001, para produtos à base de soja, farinhas e similares, que estabelece limite máximo de 10 NMP/mL para Coliformes a 45°C, 5×10^2 UFC/mL para *Bacillus cereus* e ausência em 25 gramas de amostra para *Salmonella spp.* Boas Práticas de Fabricação e procedimentos operacionais padronizados são fundamentais para a manutenção desses resultados. A Tabela 4 apresenta os resultados da avaliação microbiológica da soja e seus derivados.

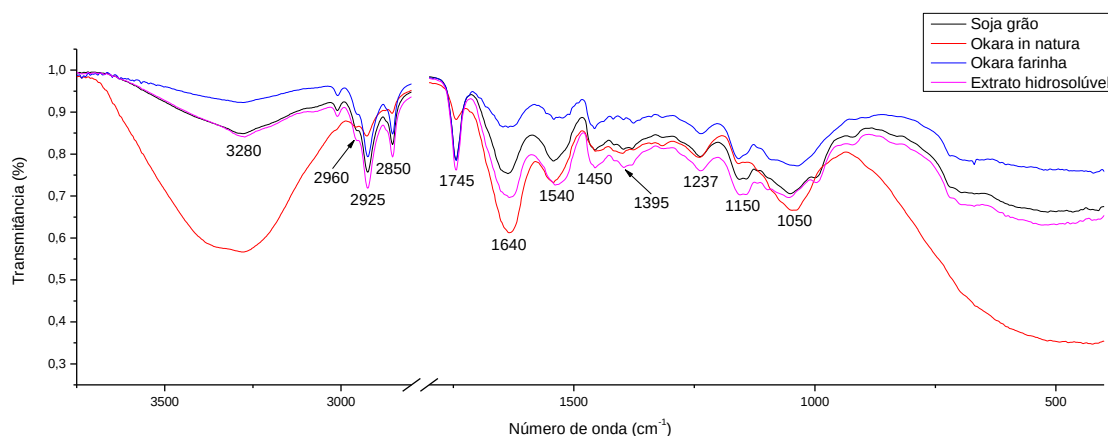
Tabela 4 - Avaliação microbiológica das amostras estudadas

Amostra	Coliformes a 45°C	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salmonella</i> (em 25,0g)
Grãos de soja	<3 NMP/mL	<1 UFC/mL	Ausência
Okara in natura	<3 NMP/mL	<1 UFC/mL	Ausência
Farinha de okara	<3 NMP/mL	<1 UFC/mL	Ausência
EHS	<3 NMP/mL	<1 UFC/mL	Ausência

5.3. Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

Na Figura 18 estão representados os espectros de infravermelho para o grão de soja, extrato hidrossolúvel de soja, okara *in natura* e farinha de okara. Os espectros apresentaram as seguintes bandas de absorção: 3280 cm^{-1} O-H e N-H; 2960 cm^{-1} CH_3 ; 2925 cm^{-1} CH_2 ; 1640 cm^{-1} Amida I (proteína C=O) pode ser confundido com uma das bandas de absorção da água; 1540 cm^{-1} Amida II (proteína N-H e C-N); 1450 cm^{-1} CH_2 ; 1395 cm^{-1} CH_3 ; e 1237 cm^{-1} C-N. Além destas, as seguintes bandas também estão presentes: 2850 cm^{-1} C-H alifático; 1745 cm^{-1} C=O de ésteres, 1150 cm^{-1} C-O de éster alifático ou álcool terciário; e 1050 cm^{-1} C-O de álcool primário. Os espectros de infravermelho mostram que o processamento do grão de soja, para a produção do extrato hidrossolúvel de soja e a farinha de soja, não altera as bandas de absorção no infravermelho. A diferença na intensidade das bandas de absorção nas regiões de 3200-3600; 1600-1700; e de 400-800 cm^{-1} deve-se pela presença de umidade nas amostras. As bandas observadas estão de acordo com os resultados apresentados por Chen et al. (2013).

Não houve variação dos grupos funcionais das amostras em estudo, indicando que houve preservação das bandas características.

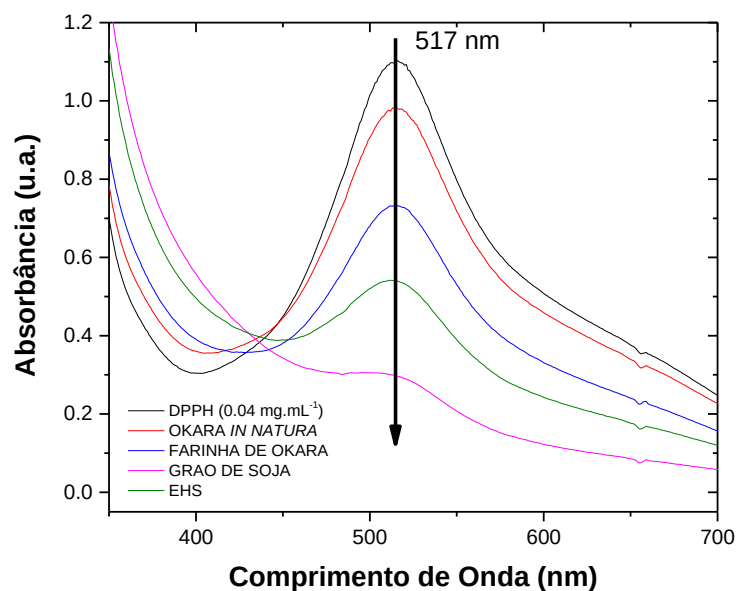
Figura 18 - Espectros de infravermelho da soja e seus derivados

5.4. Atividade Antioxidante (AA) por espectrofotometria – UV-Vis

Um composto antioxidante é capaz de proteger um sistema biológico contra efeitos danosos de processos ou reações que podem causar oxidação excessiva (KRINSKY, 1994) protegendo o organismo de danos ocasionados pelos radicais livres (OLIVEIRA, 2015). A atividade antioxidante pode ser determinada pela capacidade doadora de H^+ para o radical estável DPPH, que apresenta máxima absorbância à 517nm (BOLANHO, 2010).

Para a análise da atividade antioxidante foi utilizada uma solução de concentração $0,04 \text{ mg.mL}^{-1}$ de DPPH e o ensaio foi conduzido nas seguintes condições: 3,9 mL de DPPH na concentração de $0,04 \text{ mg.mL}^{-1}$ e 500 μL de extrato metanólico de cada amostra, com três repetições e o padrão utilizado foi o ácido ascórbico. A Figura 19 apresenta os resultados nessas condições, na qual o pico formado (DPPH) sofre decréscimos gradativos em 517 nm, demonstrando o aniquilamento do sinal.

Figura 19 - Experimento para a aniquilação do DPPH com as amostras de soja e seus derivados.



A Tabela 5 apresenta os resultados da intensidade de absorbância com as respectivas porcentagens de sequestro do radical livre, que indicam a atividade antioxidante.

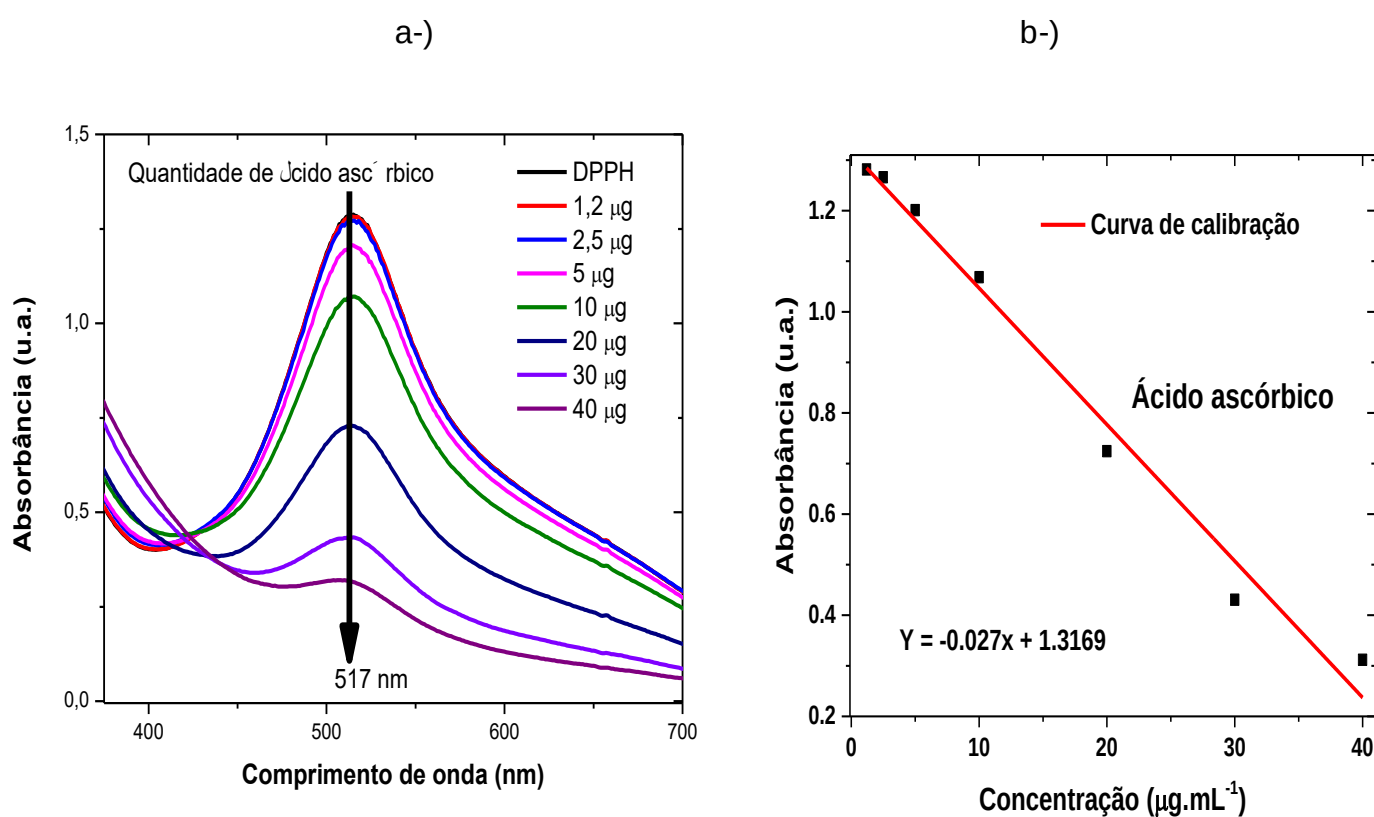
Tabela 5 – Intensidade de absorbância e Atividade Antioxidante (%) das amostras de soja e derivados

Amostra	Intensidade (absorbância)	%Atividade antioxidante	Massa
Controle DPPH	1,10	100	---
Grãos de soja	0,29	73,6	44,71 mg
Okara <i>in natura</i>	0,98	10,9	10,30 mg
Farinha de okara	0,73	33,6	46,71 mg
EHS	0,54	50,9	50,00 mg

Foi observado que a amostra de grão de soja e do EHS aniquilaram mais de 50% do sinal do DPPH, como acima demonstrado.

Para relacionar a atividade antioxidante de um determinado extrato, usualmente é realizada a equivalência com a quantidade de ácido ascórbico. A Figura 20 (a) demonstra o comportamento do ácido no aniquilamento do sinal gerado e curva de calibração do ácido ascórbico.

Figura 20 - Atividade antioxidante do ácido ascórbico: diminuição do espectro de absorção (a) e curva de calibração (b).



A Tabela 6 apresenta os resultados da intensidade de absorbância com as porcentagens de atividade antioxidante do ácido ascórbico.

Tabela 6 - Intensidade de absorbância e Atividade Antioxidante (%) do ácido ascórbico.

Massa ác.ascórbico 0,1ml	Intensidade(abs)	%Atividade antioxidante
DPPH controle	1,287	controle
1,2µg	1,281	0,47
2,5µg	1,271	1,24
5,0µg	1,205	6,37
10µg	1,070	16,86
20µg	0,728	43,43
30µg	0,432	66,43
40µg	0,316	75,45

Relacionando os dados da Figura 19 com a Figura 20 é possível encontrar a equivalência de AA entre as amostras e o ácido ascórbico (vitamina C), que é comumente utilizado como padrão para capacidade antioxidante. Observa-se que 38,9µg de vitamina C aniquilou 73% do DPPH, enquanto para mesma proporção de aniquilação foi necessário 44,71mg de grão de soja. Já para aniquilar 73% do DPPH foram necessários 71,5mg de extrato hidrossolúvel de soja (EHS).

Para calcular o EC₅₀, que corresponde as concentrações dos extratos de grãos de soja e EHS necessárias para se atingir 50% da atividade sequestrante de radicais DPPH, utilizou-se a equação da reta obtida através da relação entre massa e atividade antioxidante do extrato do grão de soja e do EHS ($y = Ax + B$), sendo $y = 50$. Para este estudo, empregou-se o valor em massa ao invés de concentração, assim, o EC₅₀ para EHS foi de 49,12mg e para o grão de soja foi 30,62mg. Usualmente, o EC₅₀ é relacionado entre a concentração e atividade antioxidante.

Barbosa et al. (2006) avaliaram a capacidade antioxidante da soja e produtos derivados, observando que a capacidade antioxidante desses produtos está associada não apenas aos teores de compostos fenólicos totais, mas também à estrutura das agliconas e aos diferentes tipos de conjugação presentes. Ruiz-Larrea et al. (1997) reportaram que a capacidade antioxidante das isoflavonas segue a ordem genisteína > daidzeína > genistina > daidzina, ou seja, está associada ao número de

hidroxilas livres do anel A. Assim, de acordo com a literatura, a atividade antioxidante dos derivados de soja resultaria não apenas dos teores de isoflavonas, mas também do processamento empregado.

Por fim, os resultados comprovam que o grão de soja e o EHS apresentam atividade antioxidante, sendo importante fonte de compostos bioativos com esse tipo de atividade. Entre as amostras testadas, foram os mais potentes em atividade antioxidante. Os resultados mostraram que a AA do EHS é 1,6 vezes menor que do grão de soja, de tal forma que os derivados da soja ainda mantêm propriedades interessantes que, além de agregar valor nutricional, podem ainda manter algum composto de interesse biológico. Já o okara *in natura* e a farinha de okara foram os menos potentes em atividade oxidante.

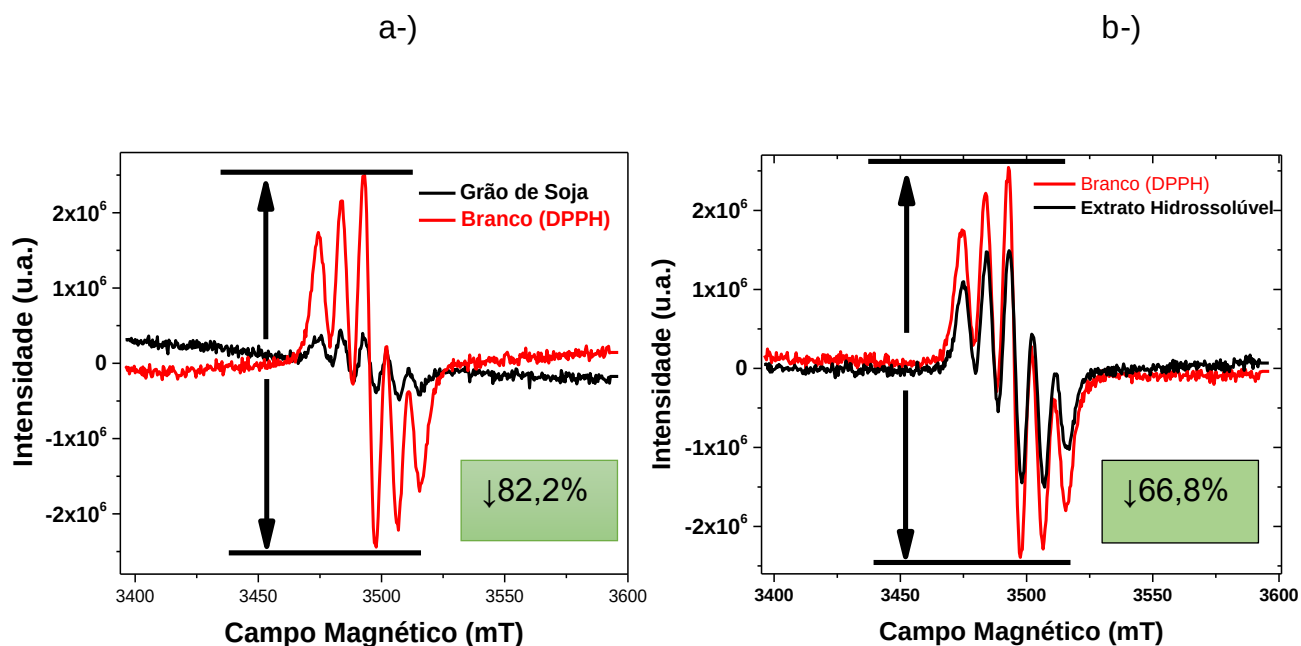
Estes valores encontrados podem ser correlacionados com os resultados obtidos pela técnica do EPR que foram 6,58 μ g e 2,4 μ g para o grão e para o extrato, respectivamente. Além disso, os resultados obtidos em compostos fenólicos também apresentaram maior atividade nos grãos de soja (5,80 mgEAG/g) e no EHS (4,43mgEAG/g).

5.5. Atividade Antioxidante (AA) pela técnica de EPR

A ressonância paramagnética eletrônica (EPR) é uma técnica que tem sido pouco empregada no estudo da capacidade antioxidante das plantas da flora brasileira, mesmo sendo uma técnica seletiva para a detecção de radicais livres (dos SANTOS et al., 2009). Além disso, este tipo de espectroscopia pode fazer análises de cinética e de estequiometria das reações. Herculano (2005) relata ainda que este método não destrói a amostra, além de não ser necessário o contato direto, entretanto, limita-se a espécies paramagnéticas.

A Figura 21a apresenta o espectro de EPR da solução do radical livre DPPH (branco) e da mesma solução de DPPH após a incorporação do grão de soja. É possível observar as três linhas características do espectro de DPPH, mas quando o grão de soja é incorporado há um decréscimo do sinal equivalente a 82,2%. Na Figura 21b, observa-se que o EHS, que é um dos subprodutos do grão, apresenta uma influência menor na atividade antioxidante do DPPH, com uma diminuição equivalente a 66,8%.

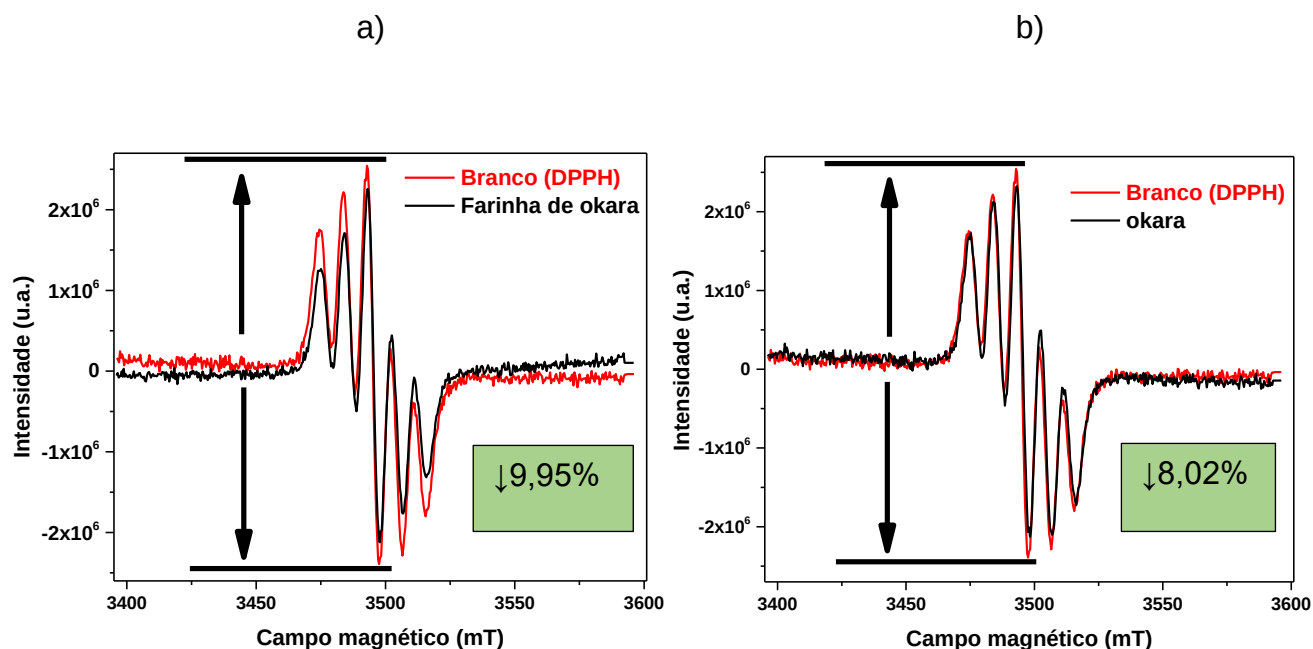
Figura 21 - Intensidade pico a pico do espectro de EPR: a-) DPPH e grão de soja, b-) DPPH e Extrato Hidrossolúvel de Soja (EHS).



Fonte: Autoria própria.

Já para os subprodutos okara *in natura* e farinha de okara, observa-se que a capacidade antioxidante é muito pequena. A Figura 22 mostra que o sinal de EPR do DPPH (branco) apresenta uma diminuição equivalente a 9,95% quando incorporada com a farinha de okara (Figura 22a), enquanto a redução para o okara *in natura* foi calculada em 8,02% (Figura 22b). A diferença pode estar relacionada à temperatura no processamento já que o okara não passa por resfriamento na saída da Unidade Básica de Extração, assim como também ao tempo de exposição prolongado no tratamento térmico na obtenção da farinha de okara.

Figura 22 - Intensidade pico a pico do espectro de EPR: a) DPPH e Farinha de okara, b) DPPH e okara *in natura*.



Fonte: Autoria própria.

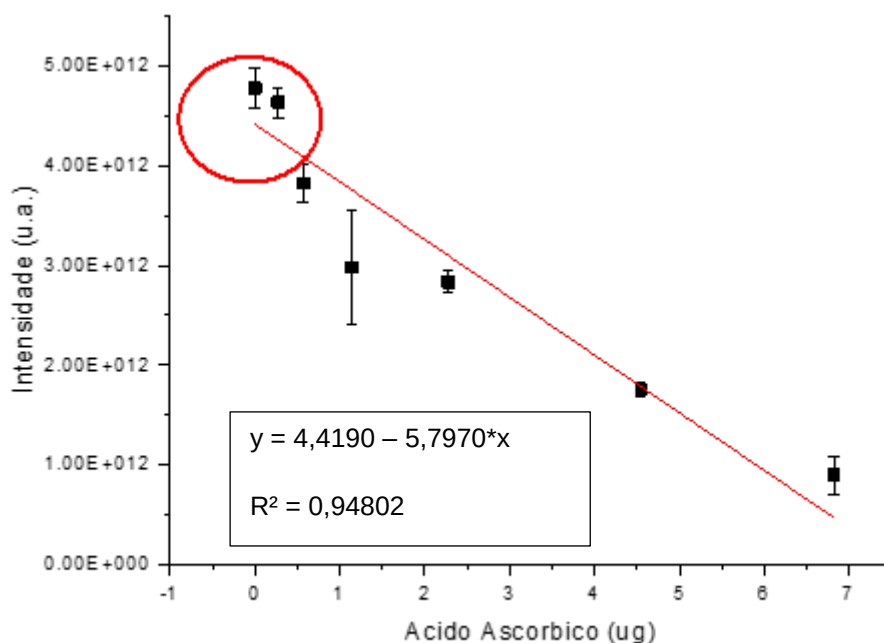
A quantificação da atividade antioxidante de compostos bioativos é difícil de ser comparada, pois cada autor pode utilizar diferentes diluições das suas amostras. Assim, a capacidade antioxidante de diferentes amostras é usualmente expressa em função de um padrão (BARROS et al., 2018). Além disso, a partir desta relação é possível calcular o EC 50 que é a concentração que induz metade do efeito máximo. Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, maior será sua atividade sequestradora (LIMA NETO et al., 2015). Para este trabalho, utilizou-se o ácido ascórbico como padrão, variando entre as concentrações 0,27 – 6,81 mg/mL (Figura 23) e obtendo a equação 4:

$$Y = 4,42 \times 10^{12} - 5,79 \times 10^{11}$$

Equação 4

Para a obtenção desta curva de calibração, o etanol foi utilizado como controle negativo (branco). A Figura 23 mostra uma função linear decrescente, apresentando um perfil compatível ao encontrado na literatura (BARROS et al., 2018).

Figura 23 - Diminuição do sinal de EPR com o aumento da concentração de ácido ascórbico.



A Tabela 7 apresenta a equivalência entre as amostras de soja e derivados em função de μg de ácido ascórbico e o EC 50 com respectivos desvios padrão. Os resultados mostraram que a atividade sequestradora do grão de soja ($6,58\mu\text{g}$) e do extrato hidrossolúvel ($2,39\mu\text{g}$) foram os mais potentes, sugerindo a presença de compostos que contribuem particularmente e mais efetivamente para a ação sequestradora de radicais livres.

Tabela 7 - Atividade sequestradora do radical DPPH das amostras em equivalente (μg) de ácido ascórbico por mg de amostra – técnica de EPR

Amostras	Massas (mg)	Equivalente μg de Ácido Ascórbico	Desvio Padrão	EC 50
Grãos	4,47	6,58	0,28	3,07
Okara in Natura	1,03	0,00	0,45	-79,69
Farinha de Okara	4,67	0,97	1,11	67,53
Extrato hidrossolúvel	5,00	2,39	0,20	4,71

	EC 50	Desvio Padrão
EC 50 ácido ascórbico	3.51	0.17

Popović et al., 2013 avaliaram a atividade antioxidante de uma espécie de soja utilizada na Sérvia após a irradiação de doses de 1, 2, 4 e 10KGy de radiação gama. Para isso, foi empregada a técnica de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e alguns radicais livres, como o DPPH. Os autores observaram que a dose de radiação gama até 10Kgy melhorou o aniquilamento do sinal, induzindo assim a atividade antioxidante.

Kameya e Todoriki (2016) observaram a melhora da capacidade antioxidante de soja após serem irradiadas por radiação gama. Liu et al., 2018 combinaram a cromatografia gasosa/espectrometria de massas e a técnica de EPR para avaliar a estabilidade oxidativa do óleo de soja durante o processo de fritura.

Sami (2017) avaliou as propriedades antioxidantes de peptídeos de refeições de grãos de soja hidrolisados utilizando a técnica de EPR. O autor observou que este hidrolisado pode servir como uma boa fonte antioxidante como ingredientes nutracêuticos e farmacêuticos.

Na literatura não há muitos trabalhos empregando a técnica de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) para avaliar a atividade antioxidante da soja e derivados, entretanto há vários achados empregando esta técnica para outros extratos vegetais. Barros et al. (2018) avaliaram a atividade antioxidante do extrato de *Serjania marginata* pela técnica de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), observando

que a capacidade oxidante do radical livre (DPPH) diminuía com o aumento da concentração.

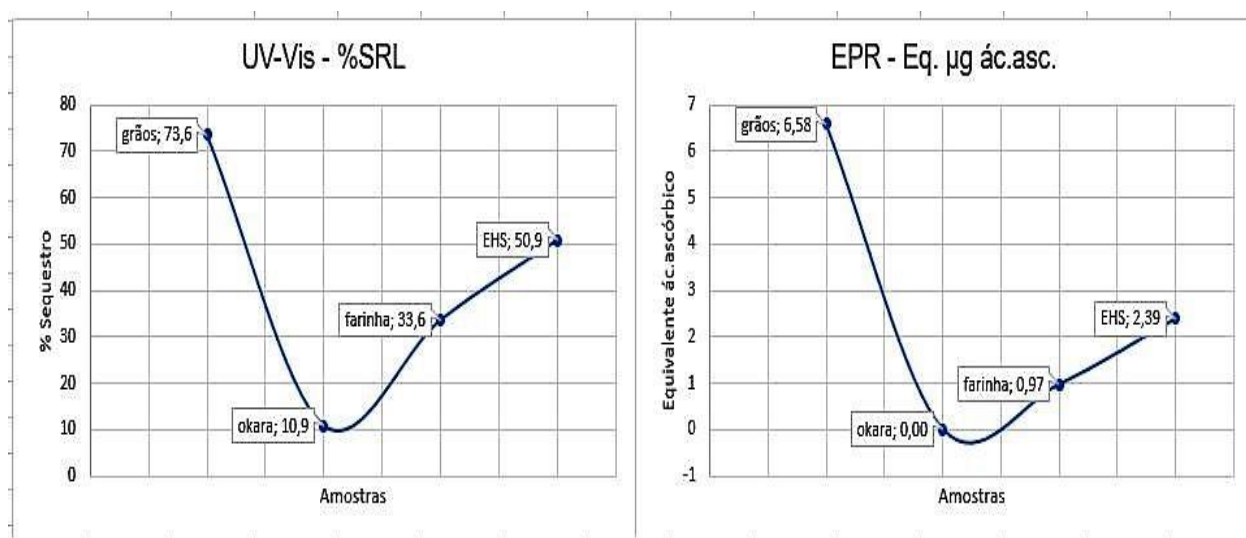
Santos (2009), avaliou a capacidade antioxidante de 10 extratos vegetais, a saber: *Swartzia langsdorffii*, *Machaerium villosum*, *Pterogyne nitens*, *Maytenus ilicifolia* (casca de raiz), *Pera glabrata*, *Aegiphyla sellowiana*, *Copaifera langsdorffii*, *Chrysophyllum inornatum*, *Iryanthera juruensis* (folhas e sementes), *Didymopanax vinosum* utilizando a ressonância paramagnética eletrônica (EPR), onde foram utilizados dois métodos: o primeiro método mede a atividade antioxidante por meio do controle da quantidade de radicais livres, TEMPOL (4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo) e DPPH, em contato com o extrato vegetal, e o segundo método que utilizou o spin trap DMPO. O autor observou que o extrato de *Iryanthera juruensis*, tanto de folhas quanto de sementes, demonstrou a maior atividade antioxidante nos métodos empregados.

Tzika et al. (2008) avaliaram a capacidade antioxidante de alguns sucos de frutas e vegetais comerciais utilizando a técnica EPR e o radical livre TEMPOL. Como esperado, a intensidade do espectro do TEMPOL decresceu com a adição do suco, mostrando uma efeito dose-dependente.

Kaneyuki et al. (1999) analisou o aniquilamento do radical livre (dimetil-1-pirrolina-N-óxido (DMPO) por 16 extratos vegetais empregando a técnica de EPR. Em base seca, os extratos de berinjela e de pimentões verde, vermelho e amarelo mostraram uma potente atividade antioxidante. Os autores observaram que com o tratamento térmico, estes extratos tiveram uma diminuição da capacidade antioxidativa.

A Figura 24 apresenta um comparativo da atividade antioxidante através das técnicas UV-Vis e EPR, onde observa-se um perfil de similaridade entre as amostras e os resultados obtidos.

Figura 24 - Atividade Antioxidante – perfil comparativo entre as técnicas UV-vis e EPR.



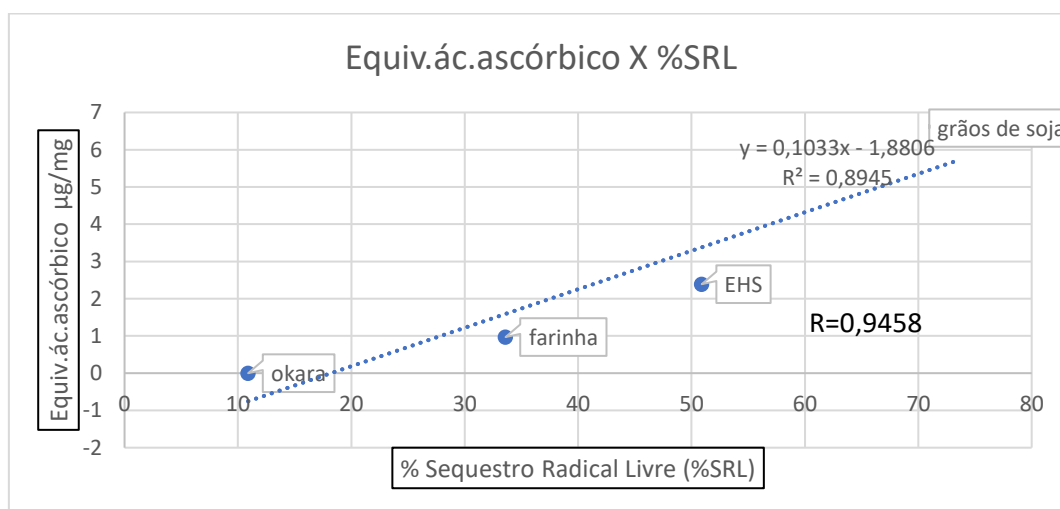
Fonte: Autoria própria.

As duas metodologias foram selecionadas com o objetivo de fornecer dados comparativos para a avaliação da atividade antioxidante da soja e seus subprodutos, sendo que ambas empregam o mesmo radical oxidante e o mesmo padrão. Enquanto na técnica por espectrofotômetro UV-Vis observa-se o aniquilamento do sinal gerado pelo sequestro do radical livre, na técnica por EPR detecta-se os elétrons desemparelhados (espécies paramagnéticas) pela aplicação de um campo magnético.

Os valores encontrados na técnica por espectrofotometria podem ser correlacionados com os resultados obtidos pela técnica do EPR que foram 6,58 µg e 2,39 µg para o grão e para o extrato, respectivamente.

Na Figura 25 está demonstrado o grau de relacionamento entre as variáveis Equivalente em µg de ácido ascórbico por mg de amostra (EPR) x % de sequestro do radical livre (UV-Vis), sendo $R = 0,9458$, indicando uma correlação positiva forte entre as variáveis.

Figura 25 - Atividade Antioxidante: Equivalente em ácido ascórbico X % Sequestro do radical livre



Fonte: Autoria própria.

5.6. Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante em vegetais, constituindo uma grande classe de fitoquímicos (SOUSA; VIEIRA; LIMA, 2011). O teor de compostos fenólicos pode ser obtido por meio do emprego do reagente de Folin-Ciocalteu em método colorimétrico, baseado na redução dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico em meio alcalino, através de medida espectrofotométrica (SINGLETON; ROSSI, 1965; NUUTILA et al., 2003).

A análise fitoquímica (teor de fenóis e capacidade antioxidante) de extratos vegetais é importante para saber se os metabólitos secundários presentes nos materiais possuem interesse nutracêutico ou farmacológico. Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias como fenóis simples, flavonóides, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), taninos condensados etc. (MALENČIĆ; POPOVIĆ; MILADINOVIĆ, 2007; DELARCO et al., 2016). A Tabela 8 apresenta a atividade antioxidante do ácido ascórbico na elaboração da curva-padrão e a Tabela 9 apresenta os resultados obtidos na determinação dos fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu, expressos como equivalentes de ácido gálico por g de amostra de soja e seus subprodutos. A quantidade de fenólicos totais foi calculada por regressão linear com base na curva padrão de ácido gálico P.A. relacionando as concentrações do padrão (10 e 150 µg/mL) com as absorvâncias (LIMA NETO et al., 2015). O

coeficiente de determinação da curva analítica ($y = 0,04211 + 0,007x$) foi de $R^2 = 0,995$ (Figura 26).

Tabela 8 - Atividade antioxidante do ácido ascórbico.

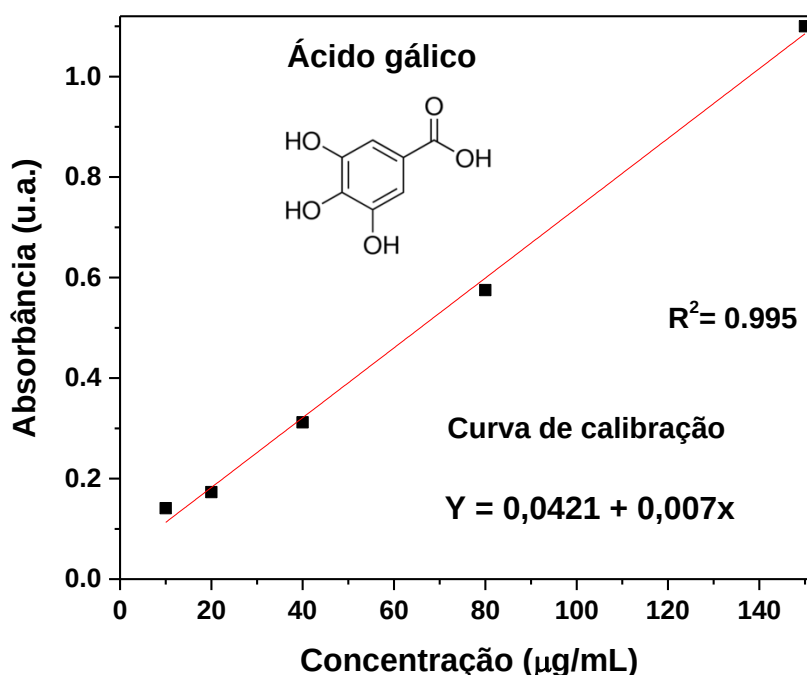
Massa de ácido ascórbico	Intensidade (absorbância)	Atividade antioxidante (AA)
DPPH (controle)	1,287	controle
1,2µg	1,281	0,47%
2,5µg	1,271	1,24%
5 µg	1,205	6,37%
10 µg	1,07	16,86%
20 µg	0,728	43,43%
30 µg	0,432	66,43%
40 µg	0,316	75,45%

Tabela 9 - Valores de absorbância e Equivalentes em mg de ácido gálico por grama das amostras na determinação de fenólicos totais:

Amostra:	Absorbância: média ± dp	Equiv. em mg ácido gálico/g (b.s.)	massas:
Grãos de soja	0,77 ± 0,15	5,80 mg/g	0,0179 g
Okara <i>in natura</i>	0,13 ± 0,01	2,98 mg/g	0,0041 g
Farinha de okara	0,32 ± 0,02	2,10 mg/g	0,0187 g
EHS	0,66 ± 0,05	4,43 mg/g	0,0200 g

dp: desvio padrão

Figura 26 - Curva de calibração do padrão ácido gálico.



Nota-se que, na Tabela 9, o grão de soja e o EHS demonstraram maiores teores de compostos fenólicos. Isso ocorre pois são as amostras que não tiveram ou tiveram pouco tratamento no processo de produção.

Todas as amostras analisadas apresentaram altos teores de compostos fenólicos, quando comparados ao suco da tangerina murcote (DUTRA et al., 2012) e à goiaba fresca e congelada (HAIDA et al., 2015). Além disso, os resultados obtidos foram superiores ao encontrados por Barbosa et al. (2006) que avaliaram os teores de fenóis da soja e seus derivados: 200mg/100 g (b.s.) para grãos de soja e para farinha desengordurada de soja.

Dutra et al. (2012) observaram que a alta temperatura (100°C) no processo simulado influenciou na redução da concentração de ácido ascórbico em tangerina murcote. Já Firmo et al. (2015) relatam que estes resultados se devem à afinidade destas substâncias por solventes polares, melhorando assim sua extração.

Barbosa et al. (2006) mostraram que o teor de fenóis totais das amostras de soja e derivados varia de 101 a 413 mg equivalentes de catequina/100 g (base seca),

sendo que o grão de soja apresentou o maior valor de teor de fenólicos totais contendo 200 mg/100 g (base seca). Delarco et al. (2016) observaram que o envelhecimento natural da soja por 18 meses dos cultivares de soja (BRS 257 e BRS 284) não afetou o conteúdo de fenólicos totais e sua atividade antioxidante. Entretanto, Kamizake et al. (2014) obtiveram aumento no conteúdo de fenólicos totais em cultivares BRS 267 e Coodetec 214, também envelhecidas em condições ambientais semelhantes.

Malenčić et al. (2007) avaliaram os teores de fenóis de 20 cultivares de soja, sendo que o cultivar sérvio 1511 e o cultivar chinês LN92-7369, apresentaram os maiores teores de fenóis, bem como a maior atividade antioxidante, mostrando uma relação dependente.

Seibel et al.(2018), ao estudarem a influência dos solventes utilizados nas extrações de compostos fenólicos em grãos de soja cultivar 232, encontraram valores de 0,52 mgEAG/g (miligramas de equivalente em ácido gálico por grama de amostra) para extração em etanol absoluto e 3,50 mgEAG/g na extração em água, valores inferiores aos encontrados neste estudo utilizando metanol como solvente (5,80 mgEAG/g). Bolanho (2010), estudando a cultivar BRS 267, encontrou resultados de 1,88 mgEAG/g em grãos de soja, de 1,94 a 2,30 mgEAG/g em EHS em pó e 2,42 mgEAG/g em farinha de soja desengordurada. A diferença encontrada nos resultados para os grãos pode estar relacionada ao grau de maturidade dos grãos, genótipo e à condições edafoclimáticas.

Os valores encontrados para o okara *in natura* (2,98 mgEAG/g) foram muito próximos ao encontrado por Morales et al. (2018) (2,96 mgEAG/g) em que foi avaliada a variação de fenólicos totais em função de diferentes temperaturas empregadas na secagem para a obtenção de farinha.

Para a farinha de okara, Paes et al.(2017) ao analisarem a correlação entre atividade antioxidante e compostos fenólicos, quantificaram os fenólicos totais em 1,19 mgEAG/g, valores similares aos encontrados na literatura para soja e seus diversos derivados, sugerindo que parte de seus compostos bioativos permaneçam no okara após processamento térmico. O valor obtido foi inferior ao encontrado neste estudo (2,10 mgEAG/g), que por sua vez foi inferior aos valores encontrados por Lazarin (2018) em okara seco (5,74 mgEAG/g) e em okara liofilizado (6,36 mgEAG/g)

em seu estudo sobre a influência da radiação (microondas) sobre os compostos fenólicos da soja.

O resultado encontrado para o EHS de 4,43 mgEAG/g foi superior ao encontrado por Bueno et al. (2017) ao estudarem os compostos fenólicos do extrato hidrossolúvel produzido a partir de grãos de soja da cultivar BRS 257 ($2,03 \pm 0,01$ mgEAG/g) assim como os valores encontrados por Bolanho (2010), que encontrou valores de 1,94 a 2,30 mgEAG/g em três amostras de EHS em pó. A diferença pode estar relacionada às características de cada cultivar, que produzem seus reflexos no respectivo extrato hidrossolúvel, além de diferenças provenientes da variação do nível de fertilidade do solo, época de semeadura e região do plantio (EMBRAPA, 2018).

Além disso, os resultados obtidos em compostos fenólicos também apresentaram maior atividade nos grãos de soja (5,80 mgEAG/g) e no EHS (4,43mgEAG/g).

Em resumo, observou-se que os valores de compostos fenólicos presentes nos grãos de soja (5,80 mgEAG/g) e no EHS (4,43mgEAG/g) acarretaram uma alta capacidade antioxidante, o mesmo não acontecendo com o okara *in natura* e com a farinha de okara. Considerando que o processo de produção do EHS não é capaz de extrair o conteúdo total de proteínas e de outras substâncias da soja, constata-se que o mesmo ocorre em relação aos compostos fenólicos, o que somado às condições de processamento da farinha (tratamento térmico prolongado) e do okara *in natura*, afetaram as propriedades antioxidantes dos fenólicos presentes nestes produtos.

Sugere-se que sejam incluídas como rotina no controle de qualidade da planta piloto as análises de teor de umidade dos grãos de soja no recebimento da matéria-prima, assim como adotar como limite mínimo 3% de proteínas no EHS (produto final) e implantação e implementação de controle de qualidade físico-químico e microbiológico do okara *in natura* que é destinado à produção de pães pela Prefeitura Municipal.

6. CONCLUSÕES

A composição centesimal e a caracterização físico-química do okara demonstrou estar em conformidade com dados da literatura, apresentando sua importância do ponto de vista nutricional e possibilitando um melhor aproveitamento de um subproduto que, na atualidade, é descartado, embora a atividade antioxidante não tenha

sido preservada tanto no okara *in natura* quanto na farinha. Além disso, a composição centesimal, análises físico-químicas e microbiológicas demonstram que os subprodutos estão adequados para o consumo.

A desidratação do okara *in natura* possibilita um aumento considerável no tempo de prateleira e redução no volume do produto, que favorece tanto o transporte quanto o armazenamento da farinha obtida, além da possibilidade de estocagem à temperatura ambiente, dispensando os custos com refrigeração.

As análises de FTIR mostraram que o processamento do grão de soja, para a produção do extrato hidrossolúvel de soja, okara *in natura* e a farinha de okara, não alteraram as bandas de absorção no infravermelho.

Finalmente, foi possível observar que o EHS possui atividade antioxidante (AA) 1,6 vezes menor do que a do grão de soja empregando a técnica de espectrofotometria, mostrando que os seus derivados podem ter possíveis aplicações biotecnológicas. Parte da atividade antioxidante dos grãos foi preservada no EHS, não ocorrendo o mesmo com o okara *in natura* e com a farinha de okara, além disso os resultados demonstram que a mesma atividade foi constatada pela técnica do EPR e pelos resultados obtidos em fenólicos totais.

7. REFERÊNCIAS:

ABIOVE- Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. Disponível em:

<<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=importancia-economica-e-social&area=NC0yLTI>>. Acesso em: 04 jul. 2018.

<<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=estatistica&area=NC0yLTE>>.

Acesso em: 13 dez. 2018.

<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=fotos&area=NC0yLTQ> Acesso: em 13 dez. 2018.

ALTHAUS, D.; TEDESCO, M. J.; TORNQUIST, C. G.; GIANELO, C. Utilização no solo de adubos minerais/orgânicos e de resíduos industriais. In: **VII Salão do Ensino, UFRGS**, Porto Alegre, RS, 2011. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/62840>.

ALVES, F. P.; OLIVEIRA, M. A.; MANDARINO, J. M. G.; BENASSI, V. T.; LEITE, R. S.; SEIBEL, N. F. Composição centesimal de grãos de soja de oito diferentes cultivares. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 6., Londrina: Embrapa soja, 2011. p. 7-9. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/49834/1/composicao.pdf>>.

ANGELIS, Rebeca Carlota. **Alergias alimentares**: tentando entender por que existem pessoas sensíveis a determinados alimentos. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 123p.

AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 16th. ed. Arlington: AOAC, 2005.

BARBOSA, A. C. L.; HASSIMOTTO, N.M.A.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 26, n. 4, p.921-926, 2006.

BARROS, N.R. **Estudo da incorporação e liberação de peptídeos hormonais utilizando membranas de látex natural como carreador**. 70p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

BARROS, N. R.; HERÉDIA-VIEIRA, S. C.; BORGES, F. A.; BENITES, N. M.; REIS, C. E.; MIRANDA, M. C. R.; CARDOSO, C. A. L.; HERCULANO, R. D. Natural rubber latex biodevice as controlled release system for chronic wounds healing. **Biomedical**

Physics & Engineering Express, v. 4, n.3, Article n. 035026, 2018. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2057-1976/aab33a>.

BENASSI, V. T.; BENASSI, M. T.; PRUDÊNCIO, S. H. Cultivares brasileiras de soja: características para a produção de tofu e aceitação pelo mercado consumidor. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1901-1914, 2011.

BENNETT, R. W.; BELAY, N. *Bacillus cereus*. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th. ed. Washington: American Public Association of Health, 2001. p. 311-316.

BERNAUD, F. S. R.; RODRIGUES, T.C. Fibra alimentar – ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.57, n. 6, 397-405, 2013.

BOLANHO, B. C. Composto bioativos e potencial antioxidante em derivados de soja. 77p. Dissertação (Mestrado) - Ciência de Alimentos- Universidade Estadual de Londrina, 2010.

BOMDESPACHO, L. Q.; CAVALLINI, D. C .U.; DE CASTRO, A. D.; ROSSI, E. A. O emprego de okara no processamento de hambúrguer de frango fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n.2, p.315-322, 2011.

BORGES, F. A. **Aplicação da membrana de látex natural (NRL) como suporte para cultura das células osteogênicas MC3T3-E1 para regeneração óssea guiada (GBR)**. 82p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015.

BOWLES, S.; DEMIATE, I. M. Caracterização físico-química de okara e aplicação em pães do tipo francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n.3, 652-659, 2006.

BRASIL ABNT- NBR 10004. **Classificação Resíduos Sólidos** ABNT. 2. ed. Rio de Janeiro-RJ, 2004. Disponível em: <http://www.abnt.org.br>. Acesso em: 04 jul. 2018.

BRASIL. CONAMA-Resolução Nº 313, de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 de novembro de 202. Seção 1.

BRASIL. ANVISA Resolução CNNPA nº 14 , de 28 de junho de 1978. **Estabelecer o padrão de identidade e qualidade para alimentos**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/anvisaegis/resol/14_78.htm>. Acesso em: 12 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria Nº 27/98 SVS/MS — **Regulamento Técnico Referente à Informação Nutricional Complementar**. Disponível em:< http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/POR-TARIA_27_1998.pdf/72db7422-ee47-4527-9071-859f1f7a5f29> Acesso em: 30 dez. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Rotulagem nutricional obrigatória: manual de orientação às indústrias de alimentos** - 2º versão. 2005. Disponível em:< <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/389979/Rotulagem+Nutricional+Obrigat%C3%B3ria+Manual+de+Orienta%C3%A7%C3%A3o+%C3%A0s+Ind%C3%BAstrias+de+Alimentos/ae72b30a-07af-42e2-8b76-10ff96b64ca4>>. Acesso em: 06 jan. 2019.

BRASIL. Resolução RDC Nº 91, de 18 de outubro de 2000. **Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Alimento Com Soja.** Disponível em: <<https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/>> Acesso em: 12 jul. 2018.

BRASIL. Resolução RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b> Acesso em: 07 jan. 2019.

BRASIL. Resolução RDC Nº 360, de 23 de dezembro de 2003. **Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados.** Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc Acesso em: 07 jan. 2019.

BUENO, D. B.; CARDOSO, T.M. ; CHIAROTO, A. B. S. ; ALVES NETO, J. ; SILVA JUNIOR, S. I.; TAVANO, O. L. Alterações nos fenólicos, flavonóides e potencial antioxidante de extratos aquosos de soja germinada (BRS257).v.9. In: **9ª Jornada Científica IFSULDEMINAS e 6º Simpósio de Pós Graduação**, 2017. < <https://jornada.ifsuldeminas.edu.br/index.php/jcpas/jcmch4/index>> Acesso em: 30 jan. 2019.

CALLEGARI, C. M. **Hidrólise de oligossacarídeos de rafinose, presentes em produtos de soja por α -galactosidases.** 87 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; MANDARINO, J. M. G. Soja: potencial de uso na dieta brasileira. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1998. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/460385/soja-potencial-de-uso-na-dieta-brasileira>. Acesso em: 20 jul. 2018.

CARVALHO, W. T. ; REIS, R. C.; VELASCO, P.; SOARES JR, M.S.; BASSINELO, P.Z.; CALIARI, M. Características Físico-químicas de extratos de arroz integral, quí-
rera de arroz e soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. v. 41, n. 3, p. 422-429, 2011.

CAVALHEIRO, S. F. L.; TININIS, C. R. C. S.; TAVANO, O. L.; CUSTÓDIO, M. F.;
ROSSI, E. A.; CARDELLO, H. M. A. B. Biscoito sabor chocolate com resíduo de soja,
“OKARA”: Teste afetivo com crianças em idade pré – escolar. **Alimentos Nutrição**, v.
12, p. 151-162, 2001.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos**. Planaltina, DF: Em-
brapa Cerrados, 2010. 49 p.

CHEN, X.; RU, Y.; CHEN, F.; WANG, X.; ZHAO, X.; AO, Q. FTIR spectroscopic char-
acterization of soy proteins obtained through AOT reverse micelles. **Food Hydrocol-
loids**, vol. 31, n. 2, p. 435-437, 2013.

CIABOTTI, S. **Aspectos químico, físico-químico e sensorial de extratos de soja e
tofus obtidos dos cultivares de soja convencional e livre de lipoxigenase**. 122p.
Dissertação (Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de La-
vras, Lavras, 2004.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos** v. 5 - Safra 2017/18, n.9 -
Nono levantamento, junho 2018 p. 142. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/>>
Acesso em: 14 jul. 2018.

CUMMEROW, R. L.; HALLIDAY, D. Paramagnetic Losses in 2 Manganous Salts.
Physical Review, v. 70, n. 5-6, p. 433, 1946.

DE ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D.; LACERDA FILHO, A. F. ; PETERNELLI, L. A.; COSTA, A. R. Qualidade dos grãos de soja armazenados em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n.5, p. 606-613, 2009.

DELARCO, M. F.; BOM, N .C. V. ; PRUDÊNCIO, S. H. Teor de fenólicos e atividade antioxidante de soja envelhecida. In: **XV Encontro Anual de Iniciação Científica – UEL**, 2016.

DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of methods for microbiological examination of foods**. American Public Health Association. 4.ed. Washington, D.C.: Sheridan Books, 2002.

DUTRA, A. S.; FURTADO, A. A. L. ; PACHECO, S.; OIANO NETO, J. Efeito do tratamento térmico na concentração de carotenoides, compostos fenólicos, ácido ascórbico e capacidade antioxidante do suco de tangerina murcote. **Brazilian Journal of Food Technology**, vol.15, n.3. p.198-207, 2012.

EMBRAPA - **Dados Econômicos - Cultivos da Soja**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>> Acesso em: 04 jul. 2018.

EMBRAPA - **História: Cultivo da Soja**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/historia>> Acesso em: 14 jul. 2018.

EMBRAPA – **Notícias**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/noticias>> Acesso em: 05 jul. 2018

EMBRAPA. **Soluções tecnológicas: Processo de obtenção de extrato hidrossolúvel de soja (EHS)**, 2002. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/1200/processo-de-obtencao-de-extrato-hidrossolovel-de-soja-ehs> Acesso em: 13 jul. 2018.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Número de vítimas da fome cai para menos de 800 milhões: a erradicação é o próximo objetivo, 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/news/story/pt/item/288582/icode/2015>> Acesso em: 12 jul. 2018

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 448 p.

FERREIRA, D. S. **Aplicação de espectroscopia no infravermelho e análise multivariada para previsão de parâmetros de qualidade em soja e quinoa**. 119p. Tese. (Doutorado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas, 2013.

FIRMO, W. C. A.; MIRANDA, M. V.; COUTINHO, G. S. L.; BARBOZA, J. R.; ALVES, L. P. L.; OLEA, R. S. G. Determinação de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante de *Lafoensia pacari* (Lythraceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 12 ,n.1 , p.1-10, 2015.

FRANCO, B. D. G. ; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2.ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 2003. 192 p.

FREITAS, D. G. C.; MORETTI, R. H. Caracterização e avaliação sensorial de barra de cereais funcional de alto teor protéico e vitamínico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 318-324, 2006.

FUCHS, R. H. B.; TANAMATI, A. A. C.; ANTONIOLI, C. M.; GASPARELLO, E. A.; DONEDA, I. 'Iogurte' de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 175-181, 2005.

FUJITA, A. H. ; FIGUEROA, M. O. R. Composição Centesimal e teor de β -glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p.116-120, 2003.

GARMS, B. C. **Caracterização física, química e biológica de membranas de látex natural incorporadas com moxifloxacina para tratamento de feridas cutâneas**. 67p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2017.

GENOVESE, M. I. ; LAJOLO, F. M. Isoflavones in soy-based foods consumed in Brazil: levels, distribution, and estimated intake. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 20, p.5987-5993, 2002.

GIANETI, M. D.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Avaliação da eficácia de formulações cosméticas contendo extratos proteicos de trigo e soja por técnicas de biofísica e microscopia confocal a laser. **Revista Brasileira de Medicina, Especial Dermatologia**, v. 69, n. especial, p.12-18, 2012.

GONÇALVES, L. C.; ANDRADE, A. P. C.; RIBEIRO, G.P.; SEIBEL, N. F. Chemical composition and technological properties of two soybean cultivars. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.3, n.1, p.33-40, 2014.

HAIDA, K. S.; HAAS, J.; MELLO, S .A. HAIDA, K. S.; ABRÃO, R. M.; SAHD, R., Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Goiaba (*Psidium guajava* L.) Fresca e Congelada. **Revista Fitos**, v.9, n.1, p.1-72, 2015.

HAKARA – Okara Powder. Marca comercial de farinha de okara. Disponível em: <<https://www.amazon.co.uk/Harada-store-gluten-free-smooth%20powder/dp/B01J716L6Y>> Acesso: em: 05 jul. 2018.

HERCULANO, R. D. **Sensor Sólido de óxido nítrico utilizando látex como matriz**. 68 p. Dissertação – (Mestrado em Física aplicada à Medicina e Biologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

IAL-INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4ª ed. 1ª ed. Digital , 2008. 1020 p.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/>> Acesso em: 10 jul. 2018

INPI - Instituto Nacional de Propriedade Industrial . Disponível em: <https://gru.inpi.gov.br/pePI/jsp/marcas/Pesquisa_classe_basica.jsp>, Acesso em: 09 jul. 2018

INPI - Instituto Nacional de Propriedade Industrial . Disponível em: <https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController>, Acesso em: 09 jul. 2018

IPEA - Instituto de Pesquisa e Estatística Aplicada. **Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas**, 2012. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=15493&Itemid=1>. Acesso em: 20 jul. 2018.

KAMEYA, H.; TODORIKI, S. Analysis of radical-scavenging activity in gamma-irradiated soybean seeds by electron spin resonance spectroscopy. **Food Irradiation**, Japan. v. 1, p.11-16, 2016.

KAMIZAKE, N.K.K.; YAMASHITA, F.; PRUDÊNCIO, S. H. Physical alterations of soybean during accelerated and natural aging. **Food Research International**, v. 55, p.55-61, 2014.

KANEYUKI, T.; NODA, Y.; TRABER, M. G.; MORI, A.; PACKER, L. Superoxide anion and hydroxyl radical scavenging activities of vegetable extracts measured using electron spin resonance. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology Journals**, v.47, n.6, p.979-989, 1999.

KENYU - Okara Powder. Marca comercial de farinha de okara. Disponível em: <https://samurai-mall.com/products/detail.php?product_id=123548> Acesso em: 05. jul. 2018.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, Coliforms, Escherichia coli as quality and safety indicators. In: APAH. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th. ed. Washington: American Public Association of Health, 2001. cap. 8, 69-82.

KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, n.5, p.1003-1010, 1994.

LAROSA, G; ROSSI, E. A.; BARBOSA, J. C.; CARVALHO, M. R. B. Aspectos Sensoriais, Nutricionais e Tecnológicos de Biscoito Doce Contendo Farinha de okara. **Alimentos Nutrição** v.17, n.2, p.151-157, 2006.

LAZARIN, R. A. **Secagem de okara em leite pulso fluidizado com e sem aplicação de microondas**. 93 p. Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos-Universidade Estadual de Campinas, 2018.

LIMA NETO, G. A.; KAFFASHI, S.; LUIZ, W. T.; FERREIRA, W. R.; DIAS DA SILVA, Y. S. A.; PAZIN, G. V.; VIOLANTE, I.M.P. Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1069-1077, 2015.

LIU, Keshun. **Soybeans as Functional Foods and Ingredients**. 1 ed., Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999. 331p.

LIU, Y.; WANG, Y.; CAO, P.; LIU, Y. Combination of Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Electron Spin Resonance Spectroscopy for Analysis of Oxidative Stability in Soybean Oil During Deep-Frying Process. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 5, p. 1485-1492, 2018.

LUVIELMO, M. M. ; SCAMPARINI, A. R .P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos tecnológicos**. v. 5, n.1, p.756-776, 2009.

MADRONA, G. S.; ALMEIDA, A.M. Elaboração de biscoitos tipo cookie à base de okara e aveia. **Revista Tecnológica**, v.17, p.61-72, 2018.

MAIA, M. J. L.; ROSSI, E. A. ; CARVALHO, M. R. B. Qualidade e rendimento do “leite” de soja da Unidade de Produção de Derivados da Soja - UNISOJA – FCFAR/UNESP. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.1, p.65-72, 2006.

MALENČIĆ, D.; POPOVIĆ, M.; MILADINOVIĆ, J. Phenolic Content and Antioxidant Properties of Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Seeds. **Molecules**, v. 12, n.3, p.576-581, 2007.

MANIAN, R.; ANUSUYA, N.; SIDDHURAJU, P.; MANIAN, S. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L., **Food Chemistry**, v. 107, n.3, p.1000-1007, 2008.

MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROSTAT.html>> Acesso em: 04 jul. 2018.

MERCALDI, J.C. **Desenvolvimento de bebida a base de “leite” de soja acrescida de suco de graviola**. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP. Araraquara, 2006.

MORALES, M. ; SIQUEIRA, P.; IDA, E. I.; YOSHIARA, L. Y. Avaliação do teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de okara seco em diferentes temperaturas. In: ANAIS DO DIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS, 2017, Campinas. **Anais eletrônicos...** Campinas, GALOA, 2017. Disponível em: <<https://proceedings.science/slaca/slaca-2017/trabalhos/avaliacao-do-teor-de-fenolicos-totais-e-capacidade-antioxidante-de-okara-seco-em-diferentes?lang=en>>. Acesso em: 17 dez. 2018.

MUNHOZ, C. L. ; SILVA, T. V. ; TELEGINSKI, F. ; POPOSKI, M. ; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J. Elaboração de sorvete de soja e de uma cobertura crocante a partir de okara. **Ambiência Guarapuava**, v. 6, n.3, p.493-500, 2010.

NEPA. (Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação). Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO. 4.ed. 2011. Online. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela> Acesso em 12jul.2018.

NUUTILA, A. M.; PUUPPONEN-PIMIA, R.; AARNI, M.; OKSMAN-CALDENTY, K. M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. **Food Chemistry**, London, v. 81, n.4, p.485-493, 2003.

O'TOOLE, D. K. Characteristics and use of okara, the soybean residue from soy milk production - a review. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 47, n.2, p.363-371, 1999.

OLIVEIRA, G. L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v.17, n.1, p.36-44, 2015.

OLIVEIRA, M. A.; LORINI, I.; MANDARINO, J. M. G.; BENASSI, V. T.; FRANÇANETO, J. B.; HENNING, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, F. A.; HIRAKURI, M. H.; LEITE, R. S.; OSTAPECHEN, C. F.; SANTOS, L. E. G.; SHIMABUKURU, S. K.; SOUZA, R. Y. Y.; LION, A. V. S.; AVANZI, B. B. Determinação do índice de acidez titulável dos grãos de soja colhidos nas safras 2014/2015 e 2015/2016 no Brasil. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DA SOJA, GOIÂNIA, GO, 2018. p.58-60.

PAES, J. ; PERRONE, D. ; KAMP, F. Determinação dos teores de fenólicos totais e saponinas e da atividade antioxidante da farinha de okara de soja orgânica. ANAIS

DO SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS, Campinas, 2017.

PAULETTO, F. B.; FOGAÇA, A. O. Avaliação da composição centesimal de tofu e okara. **Disciplinarum Scientia: Ciências da Saúde**, v. 13, n. 1, p. 85-95, 2012.

PEREIRA, E. L.; FERRAZ, A. T. Bioprocessos para a produção de goma xantana utilizando resíduos agroindustriais como matérias-primas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 2, p.756-776, 2016.

PIN, J. B. B. ; LESCANO, C. A. A. Análise do planejamento fatorial da secagem das partículas do resíduo de leite de soja “okara” em secador de cilindro rotativo assistido a micro-ondas. **Resumo de Congresso. Laboratório de Fluidodinâmica e Secagem**. UNICAMP, Campinas, 2009.

PINTO, D. D. J. ; CASTRO, P. S. Estudo preliminar da secagem do okara (resíduo do extrato aquoso de soja) para inativação dos fatores antinutricionais e conservação. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII BMCFB, v. 12, n. esp., p.125-131, dez. 2008. Disponível em:
<http://bjft.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/especial_2009_2/v12ne_t0246.pdf>.

PINTO, J. H. P.; TOLEDO, R. L. ; FRANQUELO, W. P. Alergia à Proteína do Leite de Vaca Persistente em Adulto: Relato de Caso. **Revista Ciências em Saúde**, v. 5, n.4, p.1-10, 2015.

POMPELLI, M. F. ; OROZCO, A. J. J. ; OLIVEIRA, M. T.; RODRIGUES, B. R. M. ; BARBOSA, A. O.; SANTOS, M. G. ; OLIVEIRA, A. F. N. ; ALMEIDA-CORTEZ, J. S. A. Crise energética mundial e o papel do Brasil na problemática de biocombustíveis. **Agronomía Colombiana**, v.29, n.2, p.50-67, 2011.

POPOVIĆ, B. M.; STAJNER, D.; MANDIĆ, A.; BRUNET, J.C., KEVRESAN, S. Enhancement of Antioxidant and Isoflavones Concentration in Gamma Irradiated Soybean. **The Scientific World Journal**, v. 2013, Article ID 383574, 5 p. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/383574> 5p.

PORTAL UNICAMP. **A segunda geração da 'Vaca Mecânica'**. Disponível em: http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/novembro2003/ju238pag11.html Acesso em: 11 jul. 2018.

PUKASIEWICZ, S. R. M. ; OLIVEIRA, I. L. ; PILATTI, L. A. Estudo de caso: gerenciamento de resíduos sólidos industriais em uma indústria processadora de soja. In: XI SIMPEP-Simpósio de Engenharia de Produção de Bauru, SP, Brasil, 2004. 8p.

REGULLA, D. F., DEFFNER, U. Dosimetry by Electron-Spin - Resonance Spectroscopy of Alanine. **International Journal of Applied Radiation and Isotopes**, v.33, p.1101-1114, 1982.

REZENDE, L. C. **Avaliação da atividade antioxidante e composição química de seis frutas tropicais consumidas na Bahia**.118p. Tese. (Doutorado em Química) Área de concentração Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 2010.

ROCHA, D. A. ; ABREU, C. M. P. ; SOUSA, R. V. ; CORRÊA, A. D. Método de obtenção e análise da composição centesimal do polvilho da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* ST. HIL) **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 1, p.248-254, 2012.

RORIZ, R.F.C. **Aproveitamento dos resíduos alimentares obtidos das centrais de abastecimento do Estado de Goiás S/A para alimentação humana**.158p. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Goiás, 2012.

ROSSI, E. A.; ROSSI, P. R. Bebidas funcionais a base de soja. In: VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni. **Bebidas não alcoólicas: ciência e tecnologia**. 1 ed. São Paulo: Blucher, 2010. v. 2, p. 57-79.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ - JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica**: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH, Fortaleza, CE, 2007. (Comunicado Técnico On-Line (Embrapa), v. 127, p.1-4, 2007).

RUIZ-LARREA, M. B.; MOHAN, A. R.; PAGANGA, G.; MILLER, N. J.; BOLWELL, G. P.; RICE-EVANS, CA. Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. **Free Radical Research**, v. 26, n. 1, p.63-70, 1997.

RUSYNYK, R. A.; STILL, C. D. Lactose intolerance. **The Journal of the American Osteopathic Association**, v. 101, n.4, p.10S-12S, 2001.

SAMI, R. Antioxidant Properties of Peptides from Soybean Meal Protein Hydrolysates Evaluated by Electron Spin Resonance Spectrometry. **Advances in Environmental Biology**, v.11, n.4, p.12-18, 2017.

SANTOS, G. C.; BEDANI, R.; ROSSI, E. A. Utilização de Resíduo de Soja (okara) no desenvolvimento de um cereal matinal. **Alimentos Nutrição**, v. 15, n.1, p.31-34, 2004.

dos SANTOS A.B. **Atividade Antioxidante de Extratos Vegetais da Flora Brasileira: Estudo com Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) e Teoria do Funcional da Densidade (TFD)**. 103p. Tese (Doutorado em Física Aplicada à Medicina e Biologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

dos SANTOS, A.B.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI V.S.; SANTOS, L.A., SCHMIDT. T.M., BAFFA O. Antioxidant Properties of Plant Extracts: an EPR and DFT Comparative Study of the Reaction with DPPH, TEMPOL and Spin Trap DMPO. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 8, 1483-1492, 2009.

SEIBEL, N.F.S.; SILVA, J.B.M.D. ; TAVARES, L.S. ; SILVA, S.C. Compostos fenólicos totais de soja amarela extraídos em diferentes equipamentos e solventes. ANAIS DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, Goiânia, GO, 2018.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. 1.ed. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p.144-158, 1965.

SMANIOTTO, T. A. de S.; RESENDE, O.; MARÇAL, K. A. F.; OLIVEIRA, D.E. C.; SIMON, G. A. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n.4, p.446-456, 2014.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, p.202-210, 2011.

SOUZA, G.; VALLE, J. L. E.; MORENO, I. Efeitos dos componentes da soja e seus derivados na alimentação humana. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.34, n.2, p.61-69, 2000.

SWARTZ, H. M.; BOLTON, J. R., BORG, D.C. **Biological Applications of Electron Spin Resonance**. New York: John Wiley & Sons, 1972. p.378-390.

TORRES, E. A. F. S. ; CAMPOS, N. C. ; DUARTE, M. ; GARBELOTTI, M. L. ; PHILIPPI, S. T. ; RODRIGUES, R. S. M. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p.145-150, 2000.

UGGIONI, P. L. ; FAGUNDES, R. L. M. Tratamento dietético da intolerância a lactose infantil: teor de lactose em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 21, n. 140, p. 24-29, 2006.

UNESP. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara. **UNISOJA**: Unidade de Desenvolvimento e Produção de Derivados de Soja. Fotógrafo: Francisco Carlos Rocatelli. Disponíveis em: <<http://www2.fcfar.unesp.br/#!/unidade-auxiliar/alimentos-e-analise-ambiental/unisoja>>. Acesso em: 05 jul. 2018.

USDA. Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. **World oilseed supply and distribution**. Disponível em: <<https://www.ers.usda.gov/data-products/oil-crops-year-book.aspx>> Acesso em: 13 jul. 2018.

USP- **e-Disciplinas**: Sistema de Apoio às Disciplinas da USP. Disponível em:<<https://edisciplinas.usp.br>> Acesso em: 09 jul. 2018.

TZIKA, E. D.; PAPADIMITRIOU, V.; SOTIROUDIS, T. G.; XENAKIS, A. Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables Shots and Juices: An Electron Paramagnetic Resonance Study. **Food Biophysics**, v. 3, n.1, p.48-53, 2008.

VANDENPLAS, Y.; CASTRELLON, P. G.; RIVAS, R.; GUTIERREZ, C. J.; GARCIA, L. D.; JIMENEZ, J. E.; ANZO, A.; HEGAR, B.; ALARCON, P. Safety of soya-based infant formulas in children. **British Journal of Nutrition**, v.111, n.8, p.1340-1360, 2014.

VEDANA, M.I.S. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva**. 88p. Dissertação. (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Setor de Tecnologia-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

VESA, T. H.; MARTEAU, P.; KORPELA, R. Lactose Intolerance. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, suppl. 2, p.165S-175S, 2000.

VIEIRA, C. R.; CABRAL, L. C.; de PAULA, A. C. O. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesquisa agropecuária brasileira**. v.34, n.7, p.1277-1283, 1999.

WANG, S-H; BIET, K. R. A., BARROS. L. M.; SOUZA, N. L. Efeito da proporção soja: água e aquecimento sobre rendimento e qualidade protéica do leite de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 32, n.10, p.1059-1069, 1997.

ZAKIR, M. M. ; FREITAS, I. R. Benefícios à saúde humana do consumo de isoflavonas presentes em produtos derivados da soja. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 2, n.3, p.107-116, 2015.

ZAVOISKY, E. Paramagnetic Absorption in some Salts in Perpendicular Magnetic Fields. **Zhurnal Eksperimentalnoi I Teoreticheskoi Fiziki**, v.16, n.7, p.603-606, 1946.