

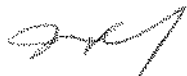
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Parcer

Este exemplar corresponde a redação final da Tese defendida por Sin Huei Wang e aprovada pela Comissão Julgadora em 03.02.86.

Campinas, 03 de fevereiro de 1986.



Presidente da Banca

TRATAMENTO DO GRÃO DE SOJA COM RADIAÇÃO  
DE MICROONDAS E SEUS EFEITOS NO SABOR,  
EXTRAÇÃO, E ALGUMAS PROPRIEDADES NUTRI-  
CIONAIS DO LEITE DE SOJA

Sin-Huei Wang

Farmacêutica e Bioquímica

01/86

Prof.<sup>a</sup> Maria Cecília F. Toledo

Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Ciências de Alimentos.

1986  
UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

O temor do SENHOR é o princípio da sabedoria  
(Provérbios 9:10).

Eu confio em Deus, que sucederá do modo por  
que me foi dito. (Atos 27:25).

Todas as cousas cooperam para o bem daqueles  
que amam a Deus. (Romanos 8:28).

Aos meus pais e irmãos  
com amor e gratidão.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.....

À Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), especialmente ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pelo afastamento concedido para a realização do curso de doutorado.

Ao Plano Institucional de Capacitação de Docentes (PICD) pela concessão das bolsas de estudo durante a realização do curso.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), UNICAMP, pela acolhida e oportunidade concedida para a realização do curso.

À Professora Maria Cecília de F. Toledo, pela orientação deste trabalho e pela amizade com que sempre me distinguiu.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de auxílio de pesquisa para a realização da parte experimental deste trabalho.

Ao Instituto Agronômico de Campinas (IAC) pelo fornecimento da soja e à indústria SANYO pelo empréstimo de forno de microondas, possibilitando a realização desta pesquisa.

Aos Professores: Walter Steves, Valdemiro C. Sgarbieri, Delia Rodrigues Amaya, Jaime Amaya F., Maria Amélia C. Moraes, pela permissão do uso de laboratório.

Aos Professores: Valdemiro C. Sgarbieri, Roberto H. Moretti, Fernanda E. Xidieh Murr, Ruth M. dos Santos, pelos conhecimentos transmitidos, o que propiciou a elaboração deste trabalho.

À Professora Maria Lúcia Setina, pela análise estatística.

A todos os funcionários da FEA, em especial a Helena, Cristina (Bioquímica Nutricional), Rosana (Toxicologia), Alice (Óleo), Roseli (Óleo), Luciene, Cleusa (Biblioteca), e Vilma, pela amizade.

A Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (ABIA), pela gentileza das cópias deste trabalho.

A todos aqueles que contribuindo de algum modo, direta ou indiretamente, possibilitaram a realização deste trabalho e ofereceram-me suas amizades.

# ÍNDICE GERAL

	Página
ÍNDICE DE QUADROS .....	v
ÍNDICE DE FIGURAS .....	ix
RESUMO .....	xi
SUMMARY .....	xiii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. Soja .....	4
2.1.1. Características físicas e composição química.	4
2.1.2. Proteínas da soja .....	5
2.1.2.1. Propriedades físicas e químicas ....	5
2.1.2.2. Produtos protéicos .....	6
2.1.2.3. Aspectos nutricionais .....	9
2.1.2.4. Efeito do processamento na solubili- dade e no valor nutricional .....	15
2.1.3. Óleo de soja .....	19
2.1.4. Problemas de sabor em produtos de soja .....	20
2.1.4.1. Lipoxidase e seu mecanismo de ação..	21
2.1.4.2. Inativação da lipoxidase de soja ...	28
2.2. Leite de soja .....	33
2.2.1. Efeito do processamento no sabor e/ou no va- lor nutricional .....	33
2.3. Microondas .....	41
2.3.1. Mecanismo de aquecimento .....	41
2.3.2. Aplicação na inativação enzimática .....	43

2.3.3. Influência sobre nutrientes e sobre sabor ...	45
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	48
3.1. Material .....	48
3.2. Métodos .....	50
3.2.1. Classificação do grão de soja por tamanho ...	50
3.2.2. Composição centesimal do grão de soja .....	51
3.2.2.1. Umidade .....	51
3.2.2.2. Extrato etéreo .....	51
3.2.2.3. Proteína .....	51
3.2.2.4. Fibra crua .....	51
3.2.2.5. Cinza .....	52
3.2.3. Maceração de soja .....	52
3.2.4. Tratamento do grão de soja com microondas ...	52
3.2.4.1. Atividade residual da lipoxidase ...	53
3.2.4.2. Índice de solubilidade de nitrogênio	54
3.2.5. Elaboração do leite de soja .....	54
3.2.6. Rendimento do leite extraído .....	54
3.2.7. Análise química do leite de soja .....	56
3.2.7.1. Proteína .....	56
3.2.7.2. Matéria graxa .....	56
3.2.7.3. Cinza .....	56
3.2.7.4. Sólidos totais .....	56
3.2.7.5. Aminoácidos totais .....	57
3.2.7.6. Escore de aminoácido ou escore químico .....	57
3.2.7.7. Rendimento de extração de proteína e matéria graxa. ....	58

3.2.8. Análises bioquímicas do leite de soja .....	58
3.2.8.1. Atividade do inibidor de tripsina ..	58
3.2.8.2. Digestibilidade da proteína <i>in vitro</i>	59
3.2.8.3. Disponibilidade aparente de metionina	59
3.2.9. Quociente da eficiência protéica (QEP) do	
leite de soja .....	59
3.2.9.1. Preparo das dietas .....	60
3.2.9.2. QEP .....	63
3.2.10. Avaliação sensorial do leite de soja .....	64
3.2.10.1. Teste piloto de preferência com	
adultos.....	64
3.2.10.2. Teste piloto de aceitação com esco	
lares .....	64
3.2.11. Análise estatística .....	65
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	67
4.1. Classificação do grão de soja por tamanho .....	67
4.2. Composição centesimal do grão de soja .....	68
4.3. Tratamento do grão de soja por microondas .....	69
4.3.1. Obtenção de grãos de soja com diferentes umi-	
dades .....	69
4.3.2. Elevação da temperatura e perda de umidade	
do grão de soja durante aquecimento por micro	
ondas .....	70
4.3.3. Atividade residual de lipoxidase e índice de	
solubilidade de nitrogênio do grão de soja	
submetido a microondas .....	75

4.4. Leite de soja proveniente de grãos de soja submeti-	
dos a microondas .....	87
4.4.1. Obtenção e composição química .....	87
4.4.2. Aspectos nutricionais .....	95
4.5. Avaliação sensorial do leite de soja .....	113
5. CONCLUSÕES .....	116
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	118



# ÍNDICE DE QUADROS

QUADRO		Página
1	Produtos protéicos de soja e suas aplicações em ali- mentos .....	7
2	Composição em aminoácidos essenciais de proteína de soja (g/16g N) .....	10
3	Composição em ácidos graxos do óleo de cinco culti- vares de soja produzidos no estado de São Paulo - sa- fra 1973 .....	19
4	Composição centesimal das dietas utilizadas nos en- saio biológicos .....	60
5	Composição centesimal da mistura salina usada nas dietas para os ensaios biológicos .....	61
6	Composição (mg/kg) da mistura vitamínica utilizada nas dietas para os ensaios biológicos .....	62
7	Classificação de grãos de soja por tamanho e penei- ra média .....	67
8	Composição centesimal da soja em grão (% base seca)	68

9	Umidade do grão de soja após diferentes tempos de maceração a 28°C .....	69
10	Efeito da umidade inicial na temperatura atingida pelo grão de soja após vários tempos de tratamento com microondas de 2450 MHz .....	71
11	Efeito da umidade inicial na perda de umidade do grão de soja após vários tempos de tratamento com microondas de 2450 MHz .....	74
12	Efeito da umidade inicial do grão de soja e do tempo de tratamento com microondas de 2450 MHz na atividade residual da lipoxidase .....	78
13	Efeito da umidade inicial e do tempo de exposição a microondas de 2450 MHz no índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja .....	82
14	Umidade do grão de soja utilizado para obtenção de leite, antes e após tratamento com microondas .....	88
15	Rendimento do leite extraído de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz .....	89
16	Composição química do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.	90

17	Rendimento da extração de proteína e matéria graxa de grãos de soja para elaboração de leite .....	93
18	Composição em aminoácidos (g/16g N) do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a <u>mi</u> croondas de 2450 MHz .....	96
19	Escore de aminoácidos essenciais (%) do leite de <u>so</u> ja obtido a partir de grãos de soja submetidos a <u>mi</u> croondas de 2450 MHz .....	98
20	Atividade do inibidor de tripsina do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a <u>micro</u> ondas de 2450 MHz .....	100
21	Digestibilidade da proteína <i>in vitro</i> do leite de <u>so</u> ja obtido a partir de grãos de soja submetidos a <u>mi</u> croondas de 2450 MHz .....	102
22	Disponibilidade aparente de metionina do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz .....	105
23	Quociente da eficiência protéica (QEP) e eficiência alimentar (EA) do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz .....	107

24	Teste piloto de preferência de sabor para leite de soja, usando 100 adultos .....	113
----	---	-----

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	Página
1 Fluxograma para produção de leite de soja em escala de laboratório, utilizando grãos tratados por microondas .....	55
2 Temperatura atingida por grãos de soja em função do tempo de exposição a microondas de 2450 MHz .....	72
3 Relação entre a perda de umidade e temperatura final de grãos de soja expostos a microondas de 2450 MHz .....	76
4 Atividade residual da lipoxidase de grão de soja em função do tempo de exposição a microondas de 2450 MHz .....	79
5 Atividade residual da lipoxidase em função da temperatura final atingida por grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz .....	80
6 Índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja em função do tempo de exposição a microondas de 2450 MHz .....	83

7	Índice de solubilidade de nitrogênio em função da temperatura final atingida por grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz .....	85
8	Índice de solubilidade de nitrogênio em relação à atividade residual da lipoxidase de grãos de soja expostos a microondas de 2450 MHz por diferentes tempos .....	86
9	Crescimento médio das ratas utilizadas nos ensaios biológicos de QEP do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz .....	108
10	Aceitação do leite de soja obtido a partir de grãos de soja com 8,70% de umidade inicial (b.s.) submetidos a microondas de 2450 MHz por 240 segundos .....	115

## RESUMO

Foi empregada a radiação de microondas de 2450 MHz como meio de aquecimento para inativação da lipoxidase da soja, utilizando-se como variáveis a umidade inicial do grão e o tempo de aquecimento. Após cada tratamento, foram determinados a atividade residual da lipoxidase, o índice de solubilidade de nitrogênio, a temperatura atingida pelo grão e a perda de umidade.

Tanto a inativação da lipoxidase como o decréscimo de índice de solubilidade de nitrogênio foram crescentes com o aumento da umidade inicial do grão e do tempo de exposição a microondas, não tendo sido, entretanto, observada uma relação linear entre atividade residual de lipoxidase e índice de solubilidade de nitrogênio. A inativação total da lipoxidase nos grãos com umidades iniciais entre 26,94 e 56,81% foi atingida após 210 segundos de aquecimento, correspondendo a índices de solubilidade de nitrogênio entre 49,42 e 39,22%, respectivamente. Para os grãos com 8,70% de umidade inicial, foram necessários 240 segundos de aquecimento para se inativar cerca de 98% da lipoxidase (índice de solubilidade de nitrogênio igual a 56,10%).

Os tratamentos considerados apropriados para inativação da quase totalidade da lipoxidase, mantendo uma solubilidade de proteína adequada para posterior obtenção de leite de soja, foram: 240 segundos de aquecimento para grãos com 8,70% de umidade inicial e 180 segundos para grãos com 26,94; 38,75; 47,00 e 56,81% de umidade inicial.

Cinco leites de soja preparados com grãos submetidos a microondas conforme as condições especificadas acima foram avaliados

nutricionalmente através de análises de composição química (proteína, matéria graxa, cinza e sólidos totais), aminoácidos totais, inibidor de tripsina, digestibilidade da proteína *in vitro*, disponibilidade aparente de metionina e QEP (quociente da eficiência proteica). Dentre os leites estudados, aquele obtido de grãos com 8,70% de umidade inicial, aquecidos com microondas por 240 segundos, foi o que apresentou o melhor balanço de aminoácidos globais, a maior disponibilidade aparente de metionina e o maior valor de QEP.

A avaliação sensorial deste leite, após fervura (10 minutos), através do teste piloto de preferência mostrou que a inativação da lipoxidase resultou num leite de sabor superior, diferindo ao nível de significância de 0,1%, quando comparado com aquele obtido de grãos não tratados. Quando avaliado por escolares do 1º grau o mesmo leite recebeu uma aceitação bastante satisfatória (76,36%).



## SUMMARY

Microwave oven (2450 MHz) was used as a heating source to inactivate soybean lipoxidase. Variables studied were initial moisture content of the soybean and the time of heating. After exposure to microwaves, residual lipoxidase activity, nitrogen solubility index (NSI), the final temperature and the moisture loss from the beans were determined.

Both lipoxidase inactivation and loss of nitrogen solubility increased with increased initial moisture content and time of heating. A linear relationship was not observed between residual lipoxidase activity and NSI. The complete inactivation of lipoxidase in the soybean with moisture content between 26.94 and 56.81% was reached after 210 seconds of exposure, corresponding to nitrogen solubility indexes between 49.42 and 39.22%, respectively. Soybeans with moisture content of 8.70% required 240 seconds of heating for approximately 98% inactivation of lipoxidase activity (NSI=56.10%).

Conditions considered to be appropriate to inactivate most of the lipoxidase while keeping the NSI high enough for further soy milk production were: 240 seconds of heating for soybean with 8.70% moisture and 180 seconds for soybean with moisture content of 26.94; 38.75; 47.00 and 56.81%.

Five soymilks prepared from beans heated as specified above were nutritionally evaluated by determining chemical composition (protein, fat, ash and total solids), aminoacid composition, trypsin inhibitor activity, *in vitro* protein digestibility, apparent methionine availability and protein efficiency ratio (PER). Among the

soymilks studied, the milk from the soybean with 8.70% initial moisture, heated on microwave for 240 seconds, was the one that had the best total aminoacid score, the highest apparent methionine availability and the highest PER.

The sensory pilot preference test (paired taste tests) of the milk, made from 8.70% initial moisture soybeans, after boiling (10 minutes), showed that lipoxidase inactivation resulted in a soymilk with better flavor, at a significance level of 0,1%, as compared to a control milk, to which microwaves were not applied. This soymilk also received a satisfactory score (76.36% acceptability) when it was evaluated by first grade students.

## 1. INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas do mundo atual reside na dificuldade em se suprir as necessidades protéicas das populações menos favorecidas, principalmente nos países sub-desenvolvidos. Diante desta situação, é necessário e urgente que se incentive o emprego de proteína vegetal, de baixo custo e de boa qualidade, como substituto para a proteína animal, escassa ou não existente em muitas partes do mundo.

Dentre os vegetais comuns, a soja representa, no momento, a melhor opção como suprimento protéico. O grão de soja, além de conter cerca de 40% de proteína, apresenta aproximadamente 20% de óleo comestível e encerra quantidade apreciável de sais minerais, vitaminas e carboidratos. A distribuição de aminoácidos das proteínas da soja é próxima à recomendada pela FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization) e o seu óleo é rico em ácido linoléico, que é um ácido graxo essencial.

Embora sejam indiscutíveis as vantagens do emprego da soja na alimentação humana, a sua utilização no Ocidente é pequena, quando comparada com o seu consumo no Oriente, onde o seu uso é tradicional.

O extrato protéico extraído do grão de soja, comumente conhecido como "leite de soja", é um alimento de alto valor nutritivo e de fácil elaboração. Este produto tem alcançado grande destaque na alimentação de crianças e adultos, particularmente daqueles que apresentam intolerância ao leite bovino.

No entanto, vários fatores dificultam o uso do leite de

soja em larga escala, dentre eles, fatores antinutricionais e, principalmente, o sabor característico da soja crua, desagradável ao paladar do ocidental.

Pesquisas relacionadas ao aparecimento de sabores estranhos durante a produção de leite de soja têm mostrado que grande parte desses sabores provém de compostos produzidos pela ação da enzima lipoxidase sobre ácidos graxos insaturados, particularmente ácidos linolêico e linolênico.

Alta temperatura com tempos variáveis de aquecimento é normalmente empregada para a inativação da lipoxidase durante o processamento do grão de soja para elaboração de leite. Os métodos mais utilizados são: (a) moagem do grão com água quente, (b) branqueamento e (c) moagem do grão em baixo pH seguido de cozimento. Os produtos obtidos por estes processos tem melhor sabor, porém, poderia ocorrer perda de solubilidade das proteínas, diminuindo a extratibilidade das mesmas na produção de leite.

Uma alternativa de aquecimento para se inativar a lipoxidase de soja, sem alterar de forma apreciável o seu valor protéico, seria o emprego de microondas. A radiação de microondas penetra rapidamente nos produtos alimentícios, tendo como resultado a formação de calor em tempos bastante inferiores àqueles utilizados por processos convencionais.

Considerando-se que poucos são os dados disponíveis sobre a utilização de microondas na inativação da lipoxidase da soja e seus efeitos no sabor e nas propriedades nutricionais do leite obtido, procurou-se neste trabalho:

- estabelecer condições ideais, em função da umidade inicial do grão de soja e do tempo de exposição a microondas, para se inativar a lipoxidase sem que ocorra uma perda considerável de

solubilidade das proteínas.

- avaliar algumas propriedades nutricionais dos leites preparados com grãos de soja submetidos a microondas.
- selecionar o leite de melhor qualidade nutricional, e submetê-lo a testes sensoriais de preferência e de aceitação.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Soja

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma planta leguminosa, procedente do leste da Ásia, onde tem constituído parte importante da dieta humana por vários séculos, COPPOCK (30).

Atualmente, o Brasil é o 2º produtor mundial da soja, com uma produção avaliada em 15,96 milhões de toneladas em 1983/84, IEA (63), logo em seguida aos Estados Unidos. É de se prever, para os próximos anos, uma continuidade no aumento da sua produção, dado à crescente importância que a soja passou a ocupar na economia brasileira e, sobretudo, por se tratar de valiosa fonte de proteínas e óleo, COSTA *et alii* (34).

#### 2.1.1. Características físicas e composição química

A soja é uma leguminosa que, dependendo da variedade, apresenta diferenças na forma, tamanho e cor dos grãos. Os grãos de cultivares comuns de soja podem apresentar forma quase esférica e alongada ou achatada, e o peso de 100 sementes se situa entre 4,3 e 21,2 g. A cor da casca varia do amarelo ao amarelo claro, existindo, porém, grãos de casca preta e marrom. A semente contém, aproximadamente, 8% de casca, 90% de cotilédones e 2% de embrião, PIPER & MORSE (108).

Dependendo da variedade, a composição química do grão de soja pode ter grandes variações (20, 33, 93, 108, 145). Ao determinar teores de proteína e óleo em 500 amostras de soja, PIPER &

MORSE (108) encontraram uma variação de 30 a 46% e de 12 a 24% para proteína e óleo, respectivamente.

No Brasil, COSTA, MIYA & FUJITA (33) e TURATTI *et alii* (145) analisaram a composição química dos grãos das principais variedades de soja e obtiveram teores de proteína que variavam entre 33,08 e 43,81%, e teores de matéria graxa que variavam entre 19,82 e 25,51% (base seca).

### 2.1.2. Proteínas da soja

O principal valor da soja na nutrição se deve ao seu alto teor de proteína de boa qualidade.

As proteínas acham-se estocadas em partículas denominadas corpos protéicos ou grão de aleurona, que são encontrados sobretudo nos cotilédones, WOLF (157). De acordo com TOMBS (144), nos corpos protéicos estão estocadas 60 a 70% do total de proteínas da soja.

#### 2.1.2.1. Propriedades físicas e químicas

As proteínas da soja constituem-se, principalmente, de globulinas com solubilidade mínima próxima de pH 4,5, correspondente ao ponto isoelétrico deste tipo de proteínas. São constituídas de uma mistura de componentes com pesos moleculares variando entre 8.000 e 600.000, com maior concentração na faixa de 250.000 a 350.000. A separação das proteínas por ultracentrifugação apresenta frações com médias de sedimentação aproximadas de 2, 7, 11 e 15S. As globulinas 7S e 11S (glicinina) representam as duas maiores proteínas da soja. Essas duas frações podem formar polímeros

dissulfídicos e sofrer reações de associação e dissociação, apresentando estruturas quaternárias que podem ser modificadas por ácidos, álcalis, uréia, detergentes e calor, WOLF (158, 159).

Uma importante propriedade das proteínas de soja é o seu alto teor em aminoácidos essenciais, particularmente lisina, aminoácidos aromáticos e leucina, BOOKWALTER *et alii* (14).

Entretanto, a deficiência em metionina da proteína de soja foi evidenciada por WOLF (158). Segundo SHELEF & MORTON (129), o teor médio da metionina em produtos de soja é 1,3g/16g de nitrogênio, que é comparável ao do trigo (1,5g), mas menor que o da carne (2,5g). Por outro lado, o teor médio da lisina em produtos de soja (6,1g/16g de nitrogênio) é consideravelmente maior que o do trigo (2,7g) e próximo ao da carne (8,7g).

KAKADE *et alii* (70) e LAM-SÁNCHEZ (82) citaram a deficiência em metionina e cistina, consideradas limitantes na soja, como uma das principais inconveniências na sua utilização.

#### 2.1.2.2. Produtos protéicos

Os principais produtos protéicos de soja e as suas aplicações no preparo de numerosos alimentos foram resumidos por COSTA *et alii* (34), conforme mostrado no QUADRO 1.

A farinha desengordurada de soja, contendo no mínimo 50% de proteína, pode ser considerada como o mais importante produto industrializado da soja, uma vez que é largamente utilizada no enriquecimento protéico de diversos alimentos, bem como empregada na obtenção de produtos como concentrado e isolado protéicos e proteína texturizada. Para sua produção, o farelo desengordurado cru, cozido ou tostado, obtido de soja de boa qualidade, sofre uma moagem,



QUADRO 1 - Produtos protéicos de soja e suas aplicações em alimentos.

Produto	Aplicações
1. Farinha de soja desengordurada	Enriquecimento do pão (12%), biscoitos (10 a 15%), macarrão (10 a 20%), farinha de mandioca, farinha de milho, flocos de banana com soja, produtos desidratados para alimentação infantil, salsichas, misturas para sopas. Semelhante às aplicações da desengordurada; a principal diferença é o menor teor de proteína e o maior teor de óleo.
2. Farinha de soja integral	Aplicações semelhantes à farinha; possuem teor mais elevado de proteína, praticamente desprovidos de sabor e aroma próprio.
3. Concentrado e isolado protéicos	Para produtos cárneos e outros, onde a consistência e estrutura são importantes para aceitação do produto.
4. Proteína texturizada de soja	Consumo com ou sem aromatizantes.
5. Leite de soja	Consumo semelhante ao amendoim torrado.
6. Soja frita ou torrada	Como feijão cozido ou feijoadado.
7. Soja preparada como feijão	Produto largamente empregado no Oriente como condimento e molho.
8. Molho de soja ("shoyu")	Usado comumente entre os orientais.
9. Queijo chinês ("Sufu")	Produto originário da Indonésia.
10. Tempeh	

Fonte: COSTA *et alii* (34).

de modo que 97% das partículas passem em peneira de 100 mesh, HORAN (58) e KELLOR (74).

Conforme PRINGLE (112), para a obtenção da farinha de soja integral (~ 40% de proteína), os grãos de soja limpos são lavados e em seguida recebem um tratamento térmico em cozedores contínuos, controlados para dar condições adequadas de calor. Depois da secagem dos grãos cozidos, estes são quebrados para soltarem as cascas, que são retiradas por um sistema de peneiras e aspiradores separando apenas cotilêdones. Este produto é moído e classificado. A fração grossa retorna para o moinho, sendo a farinha (fração fina que deve passar numa peneira de 100 mesh) levada ao empacotamento.

Os outros tipos de farinha de soja para uso geral são fabricados pelos mesmos processos básicos, podendo haver na prática algumas variações entre diferentes fábricas, TANGO (142).

Concentrado e isolado protéicos de soja são obtidos a partir da farinha de soja desengordurada e contêm 70 e 90% de proteína, respectivamente. O primeiro é obtido por meio de lavagem da farinha em pH isoelétrico, para solubilizar e remover carboidratos e outros materiais. Com esse procedimento, a proteína torna-se mais concentrada na farinha que sobra. O isolado protéico é obtido por solubilização da proteína da farinha em solução alcalina, seguida de precipitação, COSTA *et alii* (34).

Neste mesmo estudo, os autores relataram que existem diversas formas de apresentação da proteína texturizada de soja, principalmente em função da sua granulometria, dos aditivos e das condições de extrusão ou fiação. Distinguem-se dois grandes grupos de proteína texturizada de soja: os produtos obtidos por extrusão e os obtidos por fiação. Os produtos obtidos por extrusão são mais usados em hamburguers, bolinhos de carne e outros produtos cárneos,

ao passo que a proteína de soja texturizada obtida por fiação é usada para obter produtos similares à carne (bife), presunto, etc., uma vez que ela apresenta elevado teor de proteína.

De acordo com PIPER & MORSE (108), o leite de soja é tradicionalmente processado no Oriente a partir da soja ou da farinha de soja. Em geral, o produto é feito a partir de grãos de soja integral, envolvendo as seguintes etapas: operações preliminares de seleção, lavagem, maceração, desintegração, coagem, adição de água e aquecimento.

COSTA *et alii* (34) definiram a soja frita ou torrada como o produto obtido por torração ou fritura de grãos de soja previamente tratados para evitar o seu escurecimento.

Os grãos de soja cozidos inteiros podem ser usados como feijão ou em mistura com este (20, 30, 40 e 50% de soja), SGARBIERI *et alii* (128).

#### 2.1.2.3. Aspectos nutricionais

Conforme WOLF (158, 159) e SHELEF & MORTON (129), dependendo do produto protéico da soja, os teores de aminoácidos da proteína apresentam grandes variações.

Segundo WOLF (156), existe uma diferença marcante entre as proteínas 7S e 11S no que se refere à composição em aminoácidos, sendo que a globulina 11S apresenta 5 a 6 vezes mais triptofano, metionina e 1/2 cistina do que a 7S.

A composição de aminoácidos essenciais da soja, comparada com o padrão da FAO/WHO (42), indica que, com exceção dos sulfurados, a soja apresenta um bom balanço com respeito aos demais aminoácidos (QUADRO 2).

QUADRO 2 - Composição em aminoácidos essenciais de proteína de soja (g/16g N).

Aminoácidos essenciais	Soja em grão*	Padrão da FAO**
Isoleucina	4,5	4,0
Leucina	7,8	7,0
Lisina	6,4	5,5
Metionina + Cistina	2,6	3,5
Fenilalanina + Tirosina	8,1	6,0
Treonina	3,9	4,0
Triptofano	1,3	1,0
Valina	4,8	5,0
Total	39,4	36,0

\* Fonte: FAO ( 41 ).

\*\* Fonte: FAO/WHO ( 42 ).

BORCHERS (16) verificou que a suplementação de dieta à base de farinha de soja crua com metionina, treonina e valina aumenta o crescimento de ratos.

Segundo ROLIM *et alii* (122) e BOOKWALTER *et alii* (15), a adição de metionina à soja texturizada, farinha de soja desengordurada e aos alimentos contendo a soja como fonte de proteína, eleva o valor nutricional da sua proteína.

De acordo com BOOKWALTER *et alii* (14) e WOLF (158), o elevado conteúdo em lisina torna a proteína de soja importante na

suplementação de cereais, que tendem a ser pobres neste aminoácido.

KAKADE *et alii* (70) constataram que não há correlação positiva entre conteúdo de aminoácidos sulfurados totais e QEP (quociente da eficiência protéica) de diferentes variedades da soja.

Segundo SHELEF & MORTON (129), a maioria dos aminoácidos da proteína de soja apresenta 65-100% de disponibilidade.

RACKIS (114) afirmou que a soja crua apresenta substâncias que são responsáveis por diferentes respostas biológicas e fisiológicas em animais. Dentre essas substâncias, LIENER (83) destacou os inibidores de proteases, baseado no fato de que apenas tais substâncias exercem efeitos prejudiciais sobre animais que consomem dietas contendo proteína da soja.

OSBORNE & MENDEL (105) foram os primeiros a observar que as proteínas da soja crua eram de qualidades nutricionais muito pobres e que seu tratamento por calor úmido aumentava, consideravelmente, o seu valor nutritivo.

HAM & SANDSTEDT (54) mencionaram que, no extrato obtido da soja crua, havia uma substância que inibia *in vitro* a ação da tripsina sobre a caseína. Essa substância foi posteriormente isolada e caracterizada por KUNITZ (80, 81).

LIENER & KAKADE (84) afirmaram que na soja são conhecidos vários inibidores de proteases, entre os quais os inibidores de "Kunitz", "Bowman-Birk", 1,9 S, F<sub>1</sub>, F<sub>3</sub>, SBTI-A<sub>1</sub>, SBTI-B<sub>1</sub> e SBTI-B<sub>2</sub>. Entretanto, segundo WOLF & COWAN (160), apenas foram purificados e estudados com detalhe os inibidores de "Kunitz" e de "Bowman-Birk".

De acordo com YEN, HYMOWITZ & JENSEN (162), alguns inibidores de tripsina apresentam menor atividade inibidora e são nutricionalmente menos importantes do que os outros inibidores de tripsina.

LIENER & TOMLINSON (85) verificaram que a linhagem de soja

(PI 157440) livre do inibidor de "Kunitz", apresentava atividade dos inibidores de tripsina e quimotripsina aproximadamente  $1/2$  e  $3/4$ , respectivamente, daquela da farinha de soja comercial não tostada.

KROGDAHL & HOLM (78) observaram que as atividades de tripsina e quimotripsina do suco pancreático do homem eram completamente inibidas pelo extrato de soja crua e pelos inibidores purificados, embora 40 a 50% da atividade proteolítica total permanecesse. Segundo os mesmos autores, essa atividade proteolítica residual seria atribuída, principalmente, às carboxipeptidases A e B.

Em outro estudo, os mesmos autores (79) constataram que os inibidores de "Kunitz" contribuem apenas com  $1/3$  da atividade inibidora, ao passo que o inibidor de "Bowman-Birk" é responsável pela inibição restante. Foi também verificado pelos mesmos autores que os inibidores de "Bowman-Birk", quando ingeridos com soja, não são inativados pela passagem através do estômago, enquanto os inibidores de "Kunitz" são inativados.

CHERNICK, LEPKOVSKY & CHAIKOFF (24) mostraram que pintos ou ratos alimentados com dieta contendo farinha de soja crua apresentam fraco crescimento e hipertrofia do pâncreas, efeito este acompanhado pelo aumento na atividade secretória do pâncreas.

LYMAN & LEPKOVSKY (88) sugeriram que o crescimento fraco causado pelo inibidor de tripsina pode ser a consequência da perda endôgena de aminoácidos essenciais (especialmente sulfurados), a qual é devida à secreção aumentada de enzimas pancreáticas pelo pâncreas hiperativo.

Além da hipertrofia pancreática, hipersecreção de enzimas pelo pâncreas e crescimento inibido, RACKIS (115) relatou que a soja crua, quando ingerida, reduz a digestibilidade da proteína e a

disponibilidade de aminoácidos, vitaminas e minerais. O mesmo autor ainda informou que embora a soja crua cause problemas pancreáticos em ratos, camundongos e pintos, o mesmo não ocorre com os cães.

KAKADE *et alii* (70) constataram que, embora exista uma boa correlação negativa entre o peso de pâncreas e QEP, não há correlação entre inibidores de proteases (de tripsina e quimotripsina) e QEP.

Em outro estudo, KAKADE, HOFFA & LIENER (68) demonstraram que os inibidores de tripsina somente podem ser responsáveis por cerca de 40% do efeito hipertrófico pancreático e da depressão do crescimento de ratos.

RACKIS, MCGHEE & BOOTH (117) verificaram que ratos alimentados com farinha de soja contendo 31-45% da atividade do inibidor de tripsina não apresentavam hipertrofia pancreática, sendo que o valor máximo de QEP correspondia à inativação de apenas 79-87% de inibidores da farinha de soja.

KAKADE *et alii* (70) e ANTUNES & SGARBIERI (4) sugeriram a possibilidade da existência de um ou mais fatores antinutricionais na soja, talvez mesmo mais tóxicos que inibidores de tripsina e quimotripsina e hemaglutininas. Segundo os mesmos autores, tais fatores parecem ser extremamente termolábeis, podendo causar hipertrofia pancreática e inibição do crescimento.

TURNER & LIENER (146) demonstraram que nenhuma melhoria no valor nutricional é obtida quando as hemaglutininas são removidas da soja.

Segundo RACKIS (115), as saponinas isoladas da soja não acarretam danos em ratos, camundongos e pintos, mesmo quando administradas em altos níveis.

MAGA, LORENZ & ONAYEMI (91), consideraram que, embora as

proteínas de alguns vegetais como a soja possam ter valores nutricionais e bioquímicos altos, elas não poderiam ser rapidamente hidrolisadas pela tripsina no sistema digestivo, uma vez que apresentam estrutura altamente organizada.

Vários métodos *in vitro* para a medida de digestibilidade da proteína *in vivo* têm sido desenvolvidos. AKESON & STAHMANN (1), SAUNDERS *et alii* (125) e HSU *et alii* (59) utilizando sistemas enzimáticos pepsina-pancreatina, pepsina-tripsina ou pancreatina, e tripsina-quimotripsina-peptidase, respectivamente, concluíram que a avaliação da digestibilidade *in vitro* correlaciona-se positivamente com aquela *in vivo*.

Segundo AKESON & STAHMANN (1), o índice de digestibilidade por pepsina-pancreatina *in vitro* apresenta melhor correlação com valores biológicos para ratos em crescimento do que o índice de aminoácidos essenciais, que tende a sobrestimar esses valores, e do que o escore químico, que tende a subestimá-los.

MARSHALL Jr., WALLACE & SATTERLEE (94) constataram que, na maioria dos casos, não há diferenças significativas nos resultados obtidos quando se utiliza pancreatina humana, de porco ou de rato para a predição da digestibilidade *in vitro* de uma classe específica de proteína.

Usando tirosina liberada como o índice de aminoácidos totais liberados durante a digestão por tripsina *in vitro*, GUPTA, WAHIE & DEODHAR (49) verificaram que existem variações grandes entre as variedades da soja, e entre a soja crua e autoclavada.

SIMON & MELNICK (133) constataram que existe uma correlação ruim entre eficiência protéica (ganho de peso g/g proteína consumida) e digestibilidade *in vitro* para proteína nas amostras da farinha de soja (crua e termicamente processada), mesmo quando o fator



interferente era inativado.

De acordo com SIKKA *et alii* (132), o valor nutritivo da soja baseado no QEP e QPL (quociente de proteína líquida) parece estar mais ligado ao padrão de aminoácidos globais do que a qualquer aminoácido específico.

Considerando os valores de QEP, HACKLER *et alii* (50) con-cluíram que a qualidade da proteína presente no resíduo de soja (QEP=2,71) é bem melhor do que a do leite de soja (QEP=2,11), o que segundo HACKLER, STILLINGS & POLIMENI (52), se deve ao fato do ba-lanço de aminoácidos essenciais do resíduo ser melhor do que o do leite, pois o resíduo contém mais cistina e, conseqüentemente, mais aminoácidos sulfurados totais.

#### 2.1.2.4. Efeito do processamento na solubilidade e no valor nutricional

As proteínas nativas da soja apresentam um modelo de solu-bilidade complexo que depende de diversos fatores, entre eles, o tratamento térmico para inativação dos fatores antinutricionais, o método utilizado para extração de óleo, a temperatura de extração, e a relação sólido: solvente, pH e concentração de sais, WOLF (158, 159).

A ação do calor sobre a solubilidade das proteínas de soja já foi extensivamente estudada.

De acordo com BELTER & SMITH (12), 10 minutos de tratamen-to por vapor atmosférico reduz a extratibilidade da proteína da fa-rinha de soja de 80 para 20%. Os mesmos autores ainda informaram que o grau de desnaturação das proteínas determina suas propriedades físico-químicas e nutricionais, bem como sua aplicação industrial.

No mesmo estudo os autores também relataram que nas operações de extração de óleo com solvente ocorre pequena desnaturação, enquanto que durante o tratamento térmico com vapor ocorre a maior desnaturação das proteínas de soja.

Segundo JOHNSON, DEYOE & HOOVER (66), a insolubilização das proteínas pelo calor é imprevisível e a desnaturação parcial pode aumentar a solubilidade, sendo apenas a desnaturação extensiva responsável pela insolubilização.

Embora o calor como também a solução etanólica favoreçam a inativação da lipoxidase e/ou dos fatores antinutricionais presentes na soja, estes tratamentos desnaturam a proteína e a insolubilizam (2, 10, 18, 22, 38, 100).

PRADO, ANTUNES & SGARBIERI (111) verificaram que maior extração de proteína da soja pode ser obtida em solução aquosa de pH ligeiramente alcalino (pH 8,5), sendo que o abaixamento de pH do extrato para 4,5 causa precipitação de 83% a 86% da proteína.

Por outro lado, segundo WOODARD & SHORT (161), o calor úmido, sob condições suaves de alcalinidade, pode formar um aminoácido tóxico, a lisino-alanina, embora melhore a qualidade das proteínas da soja.

A redução do índice de solubilidade de nitrogênio (ISN) da farinha de soja em função do aquecimento foi constatada por SCHINGOETHE & AHRAR (127). Os autores observaram também que os aminoácidos essenciais são mais sensíveis ao calor no que diz respeito à insolubilização.

Conforme ANTUNES & SGARBIERI (4), os grãos de soja, quando fervidos por 30 minutos, mostram aumento na lisina disponível, enquanto que tempo mais prolongado (45 minutos) de tratamento provoca redução na disponibilidade de lisina.

ROLIM *et alii* (122) concluíram que o aquecimento no processo de extrusão não influencia a disponibilidade de lisina para o organismo animal e, mesmo que o faça, esse aminoácido não chega a se tornar fator limitante na proteína de soja texturizada.

Estudando o efeito de aquecimento no valor nutricional de diversas misturas preparadas com proteína oleaginosa (algodão, amendoim ou soja) e carboidrato (glicose ou sacarose), RHEE & RHEE (118) verificaram que após 2 horas de aquecimento a 100°C já se observava uma perda de lisina disponível, da digestibilidade de proteína, de QEP computado e de aminoácidos totais, principalmente arginina, lisina, triptofano e histidina.

Usando aquecimento em água fervente por 9 minutos, COLLINS & BEATY (28) verificaram que 96,1% da atividade do inibidor de tripsina da soja eram destruídos e que o valor de QEP aumentava para 1,90.

SOETRISNO, HOLMES & MILLER (137), verificaram que ocorria mais de 98% de inativação do inibidor de tripsina na soja macerada em água (25°C por 10 horas) e em seguida submetida a aquecimento em água fervente por 20 minutos.

De acordo com RACKIS (116), a 100°C, apenas 15 minutos de aquecimento por vapor são exigidos para se obter o máximo de QEP e inativar o inibidor de tripsina da farinha integral ou desengordurada.

BAKER & MUSTAKAS (10) constataram que a inativação do inibidor de tripsina era acelerada pela adição de base na água de cozimento, mas retardada pela adição de ácido.

A umidade inicial da soja é o fator mais influente na inativação do inibidor de tripsina do grão, tanto pelo método de vapor atmosférico como pela imersão em água fervente, ALBRECHT,

MUSTAKAS & MCGHEE (2).

Segundo MUSTAKAS *et alii* (99) e ROLIM *et alii* (122), o processo de extrusão inativa o inibidor de tripsina no produto de soja e aumenta os valores de QEP, RNC (retenção de nitrogênio na carcaça), QPL e QPLR (quociente de proteína líquida relativa).

Submetendo soja ao aquecimento dielétrico por 1,67 minutos (146°C), BORCHERS *et alii* (17) obtiveram 61 unidades/g de inibidor de tripsina e 3,70 g de ganho de peso/dia (o valor máximo de crescimento de ratos).

MAGA *et alii* (91) verificaram que produtos (vegetais e peixe) aquecidos por vapor mostravam uma velocidade de hidrólise pela tripsina mais rápida do que os produtos crus. Os autores consideraram que o aquecimento torna a proteína mais susceptível à hidrólise devido a três possibilidades: (a) modificações estruturais da proteína, (b) destruição dos fatores anti-enzimáticos presentes no produto e (c) atuação nos lipídios e carboidratos que poderiam estar ligados à proteína.

KAKADE *et alii* (68) constataram que ocorria maior aumento na digestibilidade de proteína da soja pelo tratamento térmico do que pela remoção do inibidor.

GUPTA *et alii* (49) verificaram que a autoclavagem melhora, notavelmente, a digestão *in vitro* da soja por tripsina.

O tratamento térmico parece ser o processo que mais afeta a qualidade nutricional da proteína da soja. DEL VALLE (35) relatou que, em geral, a qualidade protéica aumenta no período inicial de tratamento térmico, devido à inativação de fatores biologicamente ativos, passando em seguida por um máximo e depois diminuindo, devido à destruição e/ou inativação (perda de disponibilidade) de aminoácidos essenciais como cistina e lisina.

### 2.1.3. Óleo de soja

O óleo de soja contém cerca de 15% de ácidos graxos saturados e em torno de 85% de ácidos graxos insaturados, conforme mostrado no QUADRO 3, COSTA *et alii* (33).

QUADRO 3 - Composição em ácidos graxos do óleo de cinco cultivares de soja produzidos no estado de São Paulo - safra 1973.

Ácidos graxos	Cultivares de Soja				
	IAC-2	Sta.Rosa	Viçoja	Mineira	Davis
<u>Saturados</u>					
Mirístico	0,08	0,08	0,07	0,09	0,04
Palmítico	10,30	11,60	11,25	10,81	11,06
Esteárico	4,00	8,21	4,37	3,35	3,29
Behênico	0,29	0,19	0,42	0,48	0,40
<u>Insaturados</u>					
Palmitoléico	0,12	0,12	0,12	0,05	0,23
Oléico	20,83	21,38	21,86	20,59	26,84
Linoléico	58,18	57,27	55,63	58,01	52,95
Linolênico	6,18	6,16	6,27	6,61	5,16

Fonte: COSTA *et alii* (33).

#### 2.1.4. Problemas de sabor em produtos da soja

Os sabores estranhos de soja são divididos em dois tipos: sabores amargos e sabores semelhantes à erva.

Os sabores amargos são, de acordo com GOOSSENS (47), provenientes da deterioração oxidativa de aminoácidos e da proteólise. Utilizando espectroscopia no ultravioleta, ressonância magnética nuclear e análise elementar, HUANG, HSIEH & CHANG (60) identificaram daidzeína, 7- $\beta$ -O glicosídeo de gliciteína e genestina como constituintes menores não voláteis, responsáveis pelos gostos amargo e adstringente. As isoflavonas poderiam contribuir adicionalmente para tais gostos indesejáveis.

Segundo GOOSSENS (47), os constituintes de sabores semelhantes à erva são bastante complexos, destacando-se entre eles o isopentanol, hexanol, heptanol, 1-octeno-3-ol, hexanal, 2-heptenal, 2,4-decadienal, etilvinilcetona e 4-vinil-guaicol. No entanto, nem todos esses componentes estão simultaneamente presentes no produto de soja, uma vez que a ocorrência de muitos deles depende da variedade do grão, tipo do produto obtido e seu processo de obtenção.

Através de técnicas sofisticadas modernas, WILKENS & LIN (153) isolaram do leite de soja 80 compostos voláteis, sendo que 41 deles foram positivamente identificados. A maioria desses compostos é constituída por aldeídos, cetonas e álcoois, sendo hexanal o maior componente volátil (25% da fração total). Quase todos eles têm odores desagradáveis, em particular a etilvinilcetona, que, segundo MATTICK & HAND (95), tem sabor típico da soja crua. A adição de 5 ppm desse composto a leite de soja com sabor suave dará logo a seguir o sabor característico e distinguível da soja crua.

Os compostos responsáveis pelo sabor desagradável não estão

presentes no grão de soja intacto, mas aparecem quando os grãos são rompidos (19, 102, 136, 154). A atuação da enzima lipoxidase nas cadeias de ácidos graxos insaturados parece ser responsável pela formação dos compostos voláteis de sabor desagradável.

O sabor típico da soja crua tem limitado a inclusão de leite de soja no hábito alimentar do povo brasileiro. Conforme FERREIRA, BORGES & MENDES (40), o uso do leite de soja em nosso país é ainda restrito, sendo apenas usado como medicamento ou em algumas instituições escolares.

#### 2.1.4.1. Lipoxidase e seu mecanismo de ação

Várias isoenzimas da lipoxidase de soja têm sido encontradas. KOCH, STERN & FERRARI (76) constataram que na soja há duas lipoxidases altamente ativas, com propriedades notavelmente diferentes. Uma delas tem preferência pela tri-linoleína, especialmente em pH 5,3, e a outra tem preferência pelo ácido linolêico, particularmente em pH 8,1. O nome sugerido para a primeira é "lipoxidase de triglicerídeo", ao passo que para a última é "lipoxidase de ácido graxo".

CHRISTOPHER, PISTORIUS & AXELROD (25) purificaram uma isoenzima da lipoxidase de soja que difere da isoenzima de lipoxidase originalmente descrita por Theorell *et alii*, citado por eles mesmos, quanto a: (a) perfil de eluição da coluna DEAE-Sephadex, (b) eletroforese de gel de disco, (c) perfil da atividade vs. pH, (d) preferência pelo éster-ácido e (e) estabilidade ao calor. Essa isoenzima é designada como lipoxidase 2, enquanto que a de Theorell *et alii* como lipoxidase 1. Mediante o uso de coluna cromatográfica de Sephadex DEAE-A50 e de focalização isoelétrica, os mesmos autores (26) encon

traram mais tarde, em outro estudo, a terceira isoenzima da lipoxidase de soja. Esta enzima difere das duas anteriormente mencionadas quanto ao perfil de eluição da coluna DEAE-Sephadex, à focalização isoelétrica, ao perfil da atividade em função de pH (lipoxidase 1, 2 e 3 mostram pH ótimo de 9,5; 6,5 e 4,5-9,0, respectivamente), e ao efeito de  $\text{Ca}^{2+}$  na sua atividade.

A possibilidade de que essas isoenzimas possam ser dímeros híbridos de espécies monoméricas merece consideração, uma vez que STEVENS, BROWN & SMITH (139) informaram que a lipoxidase purificada de soja comercial consiste em duas subunidades de mesmo peso molecular (54.000) e que cada cadeia protéica apresenta quatro resíduos de grupo sulfidríla livre e quatro resíduos de 1/2 cistina.

De acordo com PISTORIUS & AXELROD (109), cada uma das isoenzimas de lipoxidase de soja possui, por molécula, um átomo de ferro, cuja natureza da ligação à enzima não é conhecida. O ferro é removido por Tiron (ácido 4,5-dihidroxi-m-benzenodissulfônico), mas a remoção é lenta, a não ser que a enzima seja desnaturada.

As lipoxidases de diferentes fontes variam na sua especificidade pela posição de oxigenação nos ácidos graxos insaturados (C-9 vs C-13). Há também especificidade estérica de oxigenação, que segue a regra L no C-13 e D no C-9, para todas lipoxidases, GARDNER (43).

Para estudar a especificidade da lipoxidase de soja pelo substrato, HOLMAN, EGWIM & CHRISTIE (57) utilizaram uma série de ácidos polinsaturados com diferentes comprimentos de cadeia, números e posições de ligações duplas, e chegaram à conclusão de que velocidades ótimas da reação são conseguidas com os ácidos que contêm ligações duplas nos 6º e 9º átomos de carbono contados a partir do grupo metila, e cuja carboxila terminal não está estericamente impedida. O isômero-9,12 é o melhor substrato enquanto que o isômero-13,16

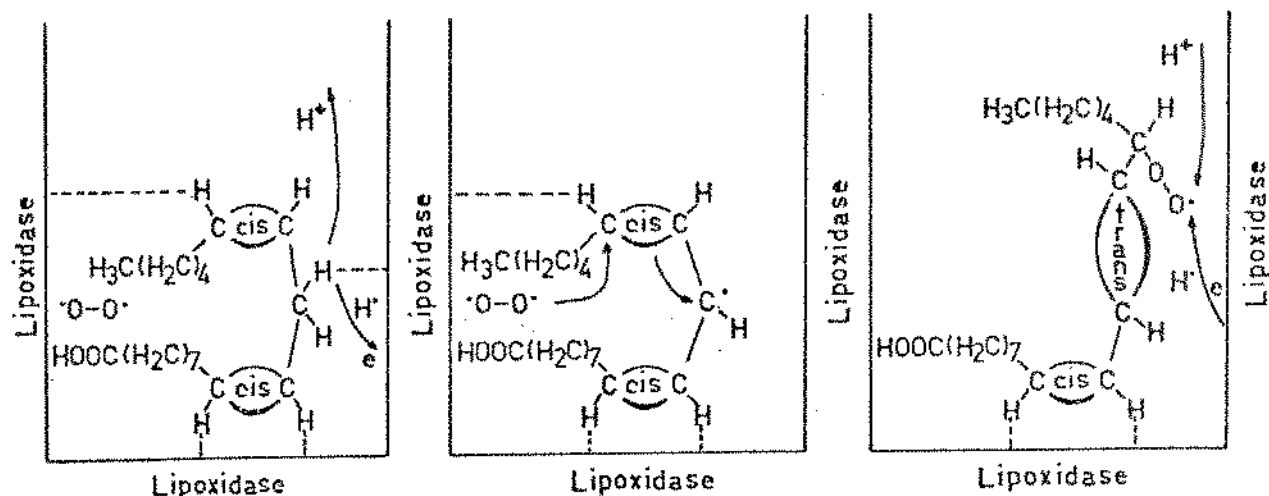


é 50% efetivo.

O mecanismo das reações catalisadas pela lipoxidase é bastante complexo, sendo que muitas pesquisas têm sido feitas para se poder compreendê-lo.

Conforme HAMBERG & SAMUELSSON (55) e VLIEGENTHART, VELDINK & BOLDINGH (148), a exigência estrutural para substratos é a presença do grupo cis, cis-1,4-pentadieno ( $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ ). Para vários autores (46, 55, 57, 148), a introdução de oxigênio nos substratos ocorre sempre na posição  $\omega-6$ .

SIDDIQI & TAPPEL (131) propuseram um mecanismo da catálise feita pela lipoxidase, conforme segue ilustrado.

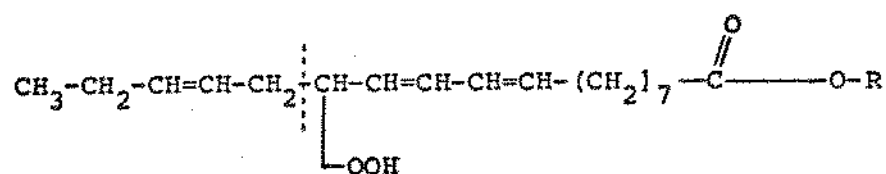


A cadeia protéica da lipoxidase poderia momentaneamente reter um elétron do grupo  $\alpha$ -metileno do linoleato, permitindo a oxidação. O início da reação é a formação do complexo enzima-substrato, o qual resulta num radical livre no grupo  $\alpha$ -metileno pela remoção do átomo de hidrogênio. Ao mesmo tempo, a lipoxidase absorve o oxigênio e o entrega à molécula de linoleato. Logo a seguir ocorre a isomerização das ligações duplas, resultando a conjugação e a produção do radical cis-trans peroxila. O oxigênio do radical peroxila é levado à

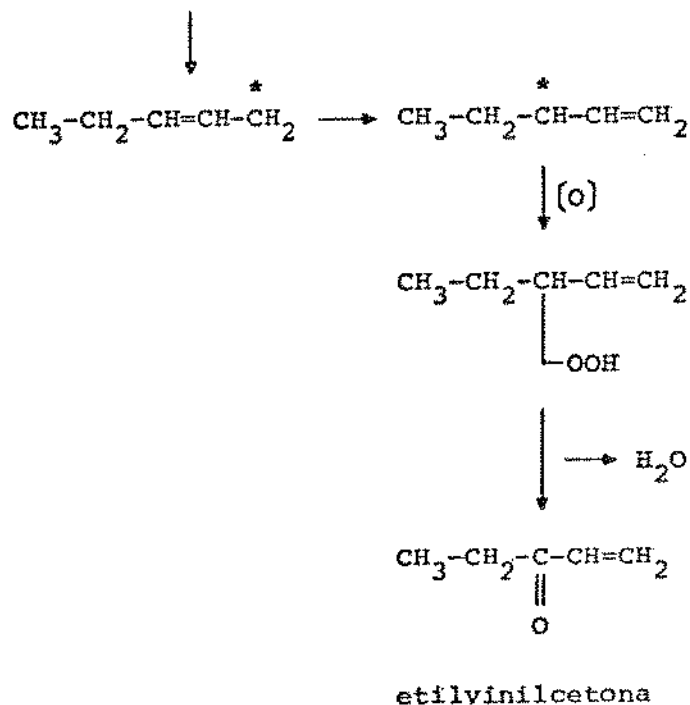
proximidade da cadeia protéica da lipoxidase. Neste estado, a lipoxidase ou transfere o elétron ao oxigênio, sendo o  $H^+$  retirado do meio, ou transfere o radical hidrogênio, permitindo, dessa maneira, a formação de hidroperóxido de linoleato.

De acordo com GARDNER (43), os hidroperóxidos são produtos iniciais da auto-oxidação, e a sua decomposição resultará numa variedade de produtos secundários, tais como: voláteis, compostos oxigenados e polímeros.

Estudando a etilvinilcetona, que é o principal composto volátil responsável pelo sabor típico da soja crua, MATTICK & HAND (95) evidenciaram um mecanismo possível da sua formação a partir do hidroperóxido linolênico ( $LnOOH$ ), conforme se segue:

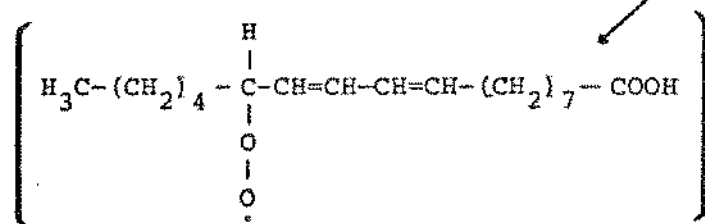
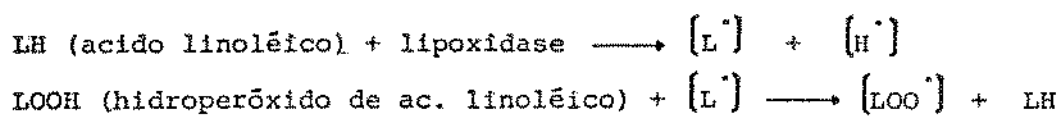


Ácido 13-hidroperóxido linolênico

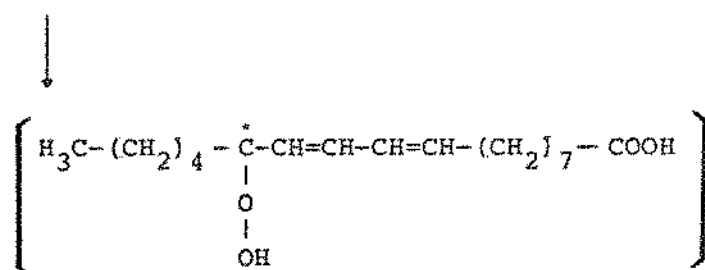


O tipo da lipoxidase e o pH do meio são fatores determinantes da quantidade dos compostos carbonila voláteis formados a partir da reação de ácido linolêico ou ácido linolênico. Incubando-se as lipoxidases 1, 2 e 3, nos respectivos pH 9,0; 6,5 e 6,5 em ácido linolêico ou ácido linolênico, GROSCH & LASKAWY (48) observaram que as lipoxidases 2 e 3 formam, significativamente, mais compostos carbonila do que a lipoxidase 1 (alcalina). Das reações com ácido linolênico como substrato, são formados os seguintes compostos pela ação de lipoxidase 3: propanal, 41 moles %; 2-trans-pentenal, 11 moles %; 2-trans-hexenal, 9 moles %; 2-trans,6-cis-nonadienal, 2,5 moles %; 2-trans,4-cis-heptadienal, 20 moles %; 3,5-octadieno-2-ona, 8 moles %; e 2,4,6-nonatrienal, 8,5 moles %. Para a lipoxidase 2, o percentual dos compostos carbonila identificados é semelhante. Por outro lado, apenas 77 moles % de 2-trans-hexenal; 18 moles % de propanal e 5 moles % de 2-trans-pentenal aparecem durante a incubação de ácido linolênico com a lipoxidase 1.

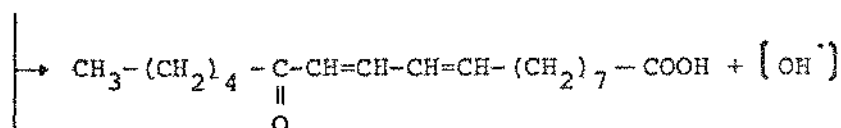
GARSSEN, VLIEGENTHART & BOLDINGH (46) sugeriram que na ausência de oxigênio, a formação de compostos carbonila a partir de hidroperóxido de ácido linolêico depende da presença tanto da lipoxidase nativa como dos ácidos graxos que são substratos normais da enzima. Sob condições anaeróbicas, acredita-se que a retirada do radical hidrogênio, a partir de hidroperóxido, seja a causa da formação do radical peroxila, o qual é posteriormente sujeito a rearranjos estruturais, conforme mostrado no ESQUEMA 1.



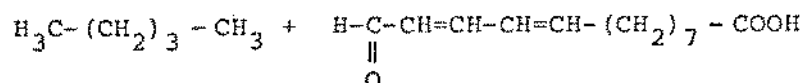
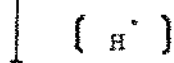
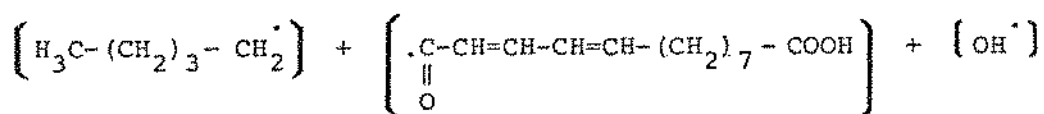
ácido 13-peroxi-9cis-11trans-octadecadienônico



ácido 13-hidroperóxi-9cis-11trans-octadecadienônico



ácido 13-oxo-9,11-octadecadienônico

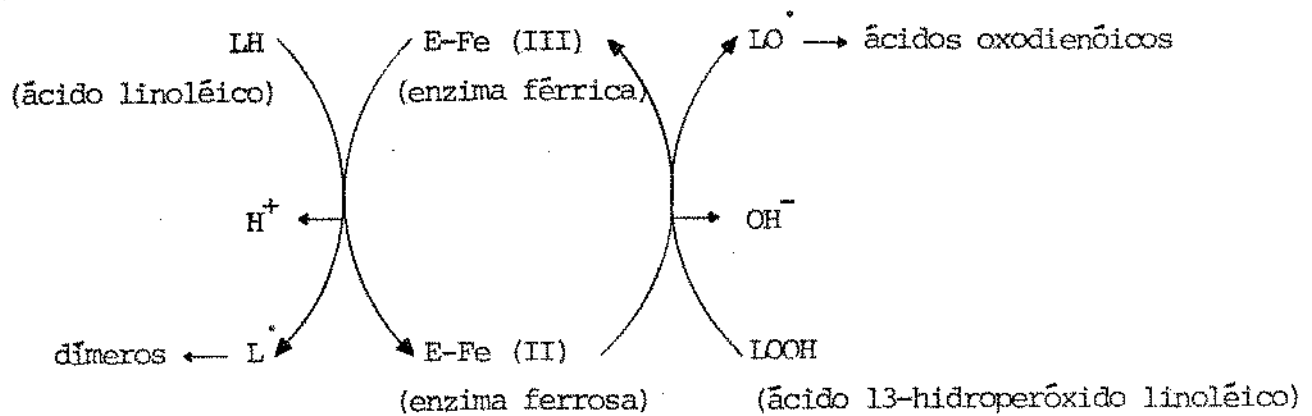


n-pentano

ácido 13-oxo-9cis(trans)-11trans-tridecadienônico

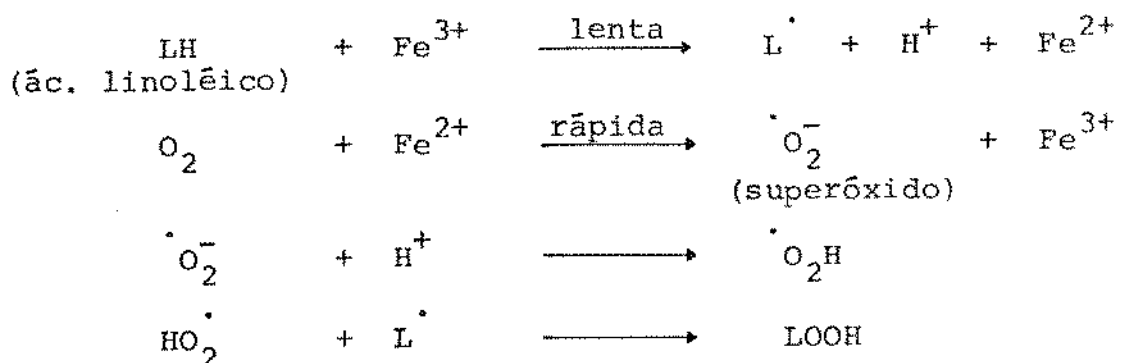
ESQUEMA 1.

O mecanismo da reação anaeróbica de ácido linolêico, catali\_sada pela lipoxidase, foi resumido por VLIEGENTHART *et alii* (148) , conforme o seguinte esquema:



A enzima fêrrica é reduzida pelo ácido linolêico à enzima ferrosa , a qual, por sua vez, é oxidada pelo ácido 13-hidroperóxido linolêi-co. Essa reação anaeróbica, catalisada pela lipoxidase 1, procede até que um dos dois substratos (ácido linolêico e 13-hidroperóxido linolêico) seja consumido; entretanto, independentemente das propor\_ções molares iniciais desses dois substratos, 50% do hidroperóxido consumido são convertidos em ácidos oxodienôicos.

A oxidação aeróbica normal de ácido linolêico pela lipoxida\_se foi relatada por GARDNER ( 43), consistindo em:



O hidroperóxido formado sofrerá, posteriormente, a decomposição pela lipoxidase 1 da soja.

Ao estudar a decomposição aeróbica de hidroperóxido pela lipoxidase, AOSHIMA, KAJIWARA & HATANAKA ( 5 ) verificaram que a velocidade da reação, independentemente do pH, é proporcional à concentração da enzima. O ácido 13-L-hidroperóxido linolêico decompõe-se mais rapidamente do que o ácido 13-L-hidroperóxido linolênico, embora o primeiro seja mais termoestável do que o último. Os produtos provenientes da decomposição de ácido 13-L-hidroperóxido linolêico são diversos, dentre os quais destacam-se o ácido 9-oxo-13-epóxi-12trans-10trans-octadecenóico e o ácido 13-epóxi-9-hidroperóxi-12trans-10trans-octadecenóico, GARDNER & KLEIMAN ( 44 ) e GARDNER, WEISLEDER & KLEIMAN ( 45 ).

SMITH & LANDS (135) constataram a ocorrência da destruição auto-catalítica da lipoxidase durante a oxigenação de ácidos graxos. Os autores observaram que os valores da constante de velocidade desta inativação são maiores para os ácidos graxos que têm maiores números de insaturação, e que os produtos (hidroperóxidos) desempenham um papel essencial na reação auto-catalítica global.

#### 2.1.4.2. Inativação da lipoxidase de soja

CHAPMAN Jr.; ROBERTSON & BURDICK ( 23 ) verificaram que o nível da atividade da lipoxidase de soja no grão é controlado geneticamente, não sendo influenciado pelas condições ambientais. Portanto, um teor baixo da lipoxidase é sempre considerado como um dos critérios para a seleção de grãos de soja.

Entretanto, a obtenção do grão de soja com baixo teor da lipoxidase nem sempre é possível e, neste caso, há necessidade de

eliminar ou evitar o sabor desagradável do leite de soja provocado pela ação da lipoxidase, através de: (a) remoção de compostos voláteis do leite de soja preparado pelo processo tradicional ou (b) inativação da lipoxidase para evitar a formação de constituintes voláteis, WILKENS, MATTICK & HAND (154).

Neste mesmo estudo, submetendo grãos de soja inteiros ou decorticados ao aquecimento a seco a  $100^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos, os autores não conseguiram inativar a lipoxidase presente. No entanto, usando a temperatura de  $200^{\circ}\text{C}$  por 15 e 30 minutos, os autores verificaram que a atividade da lipoxidase diminuía bastante, particularmente após 30 minutos.

Tratando grãos de soja decorticados de 6% de umidade com calor seco, a temperaturas que variavam entre  $82^{\circ}\text{C}$  (28 minutos) e  $103^{\circ}\text{C}$  (62 minutos), MUSTAKAS *et alii* (100) verificaram que à temperatura de  $82^{\circ}\text{C}$  ou abaixo ocorria uma inativação inferior a 50%, mas a  $103^{\circ}\text{C}$ , ocorria aproximadamente 98,4% de inativação da lipoxidase.

WALLACE & WHEELER (150) estudaram a ação da lipoxidase em concentrados protéicos de trigo com diferentes umidades, submetidos a tratamento térmico, e observaram que um pequeno aumento no teor de umidade da amostra aumentava marcadamente a sensibilidade da enzima ao calor. Trabalhando com 16% de umidade, 99% da atividade da lipoxidase foram destruídos em 30 minutos a  $65^{\circ}\text{C}$ .

Utilizando vapor livre à pressão atmosférica como meio de aquecimento, RICE *et alii* (119) estabeleceram as condições ótimas para inativação da lipoxidase do grão de soja. Segundo os autores, o tempo necessário para a inativação da lipoxidase diminui à medida que o teor de umidade do grão aumenta. O óleo e a farinha obtidos dos grãos de soja termicamente tratados com vapor apresentaram uma maior estabilidade à oxidação.

Em vez de usar água para ajustar a umidade do grão de soja antes do aquecimento, BROWN *et alii* (22) maceraram os cotilédones (9,7% umidade inicial) em água mole e em tampões carbonato pH 9,8 e 10,8. Submetendo esses grãos a aquecimento com vapor atmosférico, os autores observaram que a nível de 16,3% de umidade, e para a mesma temperatura, a velocidade de inativação da lipoxidase era maior nos cotilédones macerados com tampões carbonato. Contudo, a nível de 32% de umidade, maior velocidade de inativação foi observada apenas nos grãos macerados em tampão carbonato pH 10,8, para a mesma temperatura.

Conforme MUSTAKAS *et alii* (100), aquecimento úmido do grão e aquecimento por vapor direto, quando utilizados isoladamente em grãos de soja, são métodos eficientes na inativação da lipoxidase. A farinha obtida dos grãos de soja por um processo ou pelo outro apresentou, após dois anos de estocagem, boas características organolépticas. Os mesmos autores ainda observaram que, embora a lipoxidase tenha sido inativada ao se aplicar os dois processos em sequência, após dois anos de estocagem apareceu o sabor de ranço na farinha proveniente destes grãos.

Através de cromatografia gasosa, WILKENS *et alii* (154) verificaram que ocorre diminuição na formação de compostos voláteis quando a soja é desintegrada em água quente a 80; 90 e 100°C, durante 10 minutos. Isto se deve, segundo os autores, à inativação térmica da lipoxidase, antes que os compostos voláteis indesejáveis apareçam.

Moagem em pH ácido tem sido considerado um processo eficiente para inativação da lipoxidase, particularmente quando combinado a tratamento térmico. De acordo com KON *et alii* (77), os grãos de soja devem ser desintegrados em pH 3,85 ou abaixo, obtendo-se



uma pasta, a qual é cozida por uma hora e, em seguida, neutralizada com NaOH. O leite resultante é livre do sabor desagradável da soja, e, por análise cromatográfica, não são encontrados pentanal e hexanal. Segundo os mesmos autores, ácido clorídrico (conc.), ácido fosfórico (conc.), ácido láctico (85%) e ácido cítrico (2,7 M) podem ser usados para acidificar o meio, embora os dois últimos interferiram no sabor, devido à necessidade do uso de grande quantidade para se atingir o pH desejado.

BAKER & MUSTAKAS (10) constataram que nos grãos de soja (6% de umidade) decorticados, submetidos a cozimento por imersão em água durante 15 minutos, ocorria uma diminuição da atividade da lipoxidase a 66°C, e que a inativação total era obtida quando a temperatura atingia 82°C. Foi também observado pelos autores que a adição de NaOH (1%) ou HCl (1%) à água de cozimento reduzia a atividade enzimática para quase a metade, quando o período de aquecimento era de 15 minutos a 49°C. No entanto, à medida que a temperatura aumentava, o efeito do ácido diminuiu, enquanto que o da base permaneceu inalterável. Segundo os mesmos autores, para se inativar a lipoxidase,  $H_2SO_4$  e  $H_3PO_4$  mostram-se ligeiramente mais efetivos do que HCl, enquanto que  $NH_4OH$ ,  $NaHCO_3$  e NaOH apresentam praticamente o mesmo efeito.

Segundo ELDRIDGE, WARNER & WOLF (38), a soja, quando macerada (24 horas) ou desintegrada em solução etanólica 40 a 60% (v/v), a 25°C, dá origem a produtos com bom sabor, pois a atividade da lipoxidase é extensivamente reduzida até inativação completa. Os voláteis desagradáveis que por ventura estejam presentes, são retirados durante o processo da remoção de etanol ( $\approx 30^\circ C$ ).

Ao macerar os grãos de soja inteiros em solução etanólica (15 a 45%) a uma temperatura de 40 a 60°C por um período de 2 a 6

horas, BORHAN & SNYDER (18) conseguiram destruir a atividade da lipoxidase. Os autores consideraram que a combinação entre temperatura, tempo e concentração do etanol deve ser adequada para se obter uma inativação eficiente. À medida que a temperatura aumenta, a concentração do etanol necessária para a inativação diminui.

Utilizando diversas soluções etanólicas (15% etanol; 15% etanol + 0,1M  $\text{NaHCO}_3$ ; 15% etanol + 0,1M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; 15% etanol + 0,1M NaOH) para a maceração de soja a  $60^\circ\text{C}$  por vários tempos, ASHRAF & SNYDER (7) verificaram que um tempo de 5 horas de maceração do grão de soja permite que se obtenha um leite livre da atividade da lipoxidase. A presença de NaOH favorece a inativação enzimática, porém dá mais sabor estranho de "tinta" ao leite obtido do que a presença de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NaHCO}_3$ ; isso se deve possivelmente, segundo os autores, à perda da integridade estrutural da soja, provocada por NaOH durante a maceração ( $\text{pH}=13,1$ ).

KANANI *et alii* (72) verificaram que a vida de prateleira da farinha de soja integral poderia ser melhorada utilizando-se um tratamento prévio do grão com radiação de infra-vermelho, por um minuto ( $124^\circ\text{C}$ ), seguido de manutenção num recipiente isotérmico por 15 minutos. A farinha integral proveniente desses grãos não apresentou atividade da lipoxidase.

As cinéticas da inativação da lipoxidase, usando-se energias ionizante e térmica, foram estudadas por FARKAS & GOLDBLITH (39). Foi observado que a lipoxidase, quando irradiada em tampão fosfato a  $\text{pH } 7,0$ , é sensível à energia-ionizante. Os autores também demonstraram que o aquecimento antes da irradiação produz inativação proporcional à soma dos dois tratamentos isolados, ao passo que a ordem reversa não mostra o mesmo efeito.

SUBERBIE, MENDIZA'BAL & MENDIZA'BAL (140) constataram que

há possibilidade de se melhorar o sabor e estabilidade da farinha de soja integral pelo processo de germinação. Segundo os autores, mediante o calor interno produzido durante a germinação, a atividade da lipoxidase é diminuída (45% da atividade residual após 72 horas de germinação).

## 2.2. Leite de soja

De acordo com LO *et alii* (86), o uso da expressão "leite de soja" na descrição do extrato de soja é desaconselhado, uma vez que confunde aqueles que não estão familiarizados com o produto, induzindo-os a uma comparação com o leite de vaca, cujo sabor e textura lhes são mais familiares. Entretanto, devido à semelhança dos dois produtos em aparência leitosa, conforme BOURNE (19), a expressão "leite de soja" ainda é um nome preferido pela maioria.

O mesmo autor preconizou a adoção do leite de soja como um alimento que poderia se constituir em uma fonte importante de proteínas e calorias para pessoas com problemas de má nutrição em países em desenvolvimento, onde a disponibilidade de leite de vaca é insuficiente para atender às necessidades da população.

### 2.2.1. Efeito do processamento no sabor e/ou no valor nutricional

O leite elaborado por método tradicional, citado por PIPER & MORSE (108), sofre restrições de aceitação por parte dos consumidores do Ocidente, em razão do seu sabor ser desagradável para a grande maioria. Numerosas modificações deste simples processo tradicional foram feitas, com finalidade de melhorar as características

organolépticas do produto.

De acordo com BOURNE (19) e MORETTI (97), quando a soja é desintegrada com água, em temperaturas entre 80 e 100°C, quase toda a formação de sabor estranho é evitada e o leite se torna suave.

SNYDER (136) observou que para grãos macerados durante toda a noite, um branqueamento de 2 minutos a 100°C elimina o sabor típico da soja crua, coincidindo com a inativação da lipoxidase. Já para os grãos não macerados, necessitam-se 3 minutos na mesma temperatura.

PUPPO *et alii* (113) constataram que quando a desintegração da soja é precedida por um aquecimento a 70°C em soluções a 0,04 e 0,08% de  $\text{NaHCO}_3$  durante 30 e 12 minutos, respectivamente, ocorre melhor aceitação do leite quanto ao sabor.

O sabor estranho de "tinta" pode ser completamente eliminado do leite de soja desde que a maceração da soja seja feita, durante toda a noite, em solução de  $\text{NaHCO}_3$  a 0,5%, seguida de um branqueamento na mesma solução por 30 minutos, NELSON, STEINBERG & WEI (101).

Entretanto, KAPOOR *et alii* (73) demonstraram que o uso de  $\text{NaHCO}_3$  na maceração de soja não é recomendável, pois, segundo os autores, a soja, quando macerada durante toda a noite em solução de  $\text{NaHCO}_3$  a 0,03% e fervida por 60 minutos, dará um leite com menor aceitação quanto à aparência e consistência, embora seja melhorado o sabor.

Usando várias substâncias químicas na maceração da soja, KHALEQUE, BANNATYNE & WALLACE (75) investigaram o efeito dessas substâncias no sabor característico da soja crua dos leites resultantes. Durante esse estudo, os autores verificaram que  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  e  $\text{NaOH}$  apresentavam efeito significativo na redução do sabor desagradável do leite de soja, sendo que a maceração feita com solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

0,4M por 18-24 horas foi o melhor tratamento.

Com a finalidade de avaliar o efeito do pH no melhoramento do sabor do leite de soja, BOURNE, ESCUETA & BANZON (21) utilizaram NaOH,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NaHCO}_3$  para ajustar o pH do leite de soja obtido pelo processo de desintegração com água fervente. Os autores verificaram que houve maior aceitação do leite de soja quando o pH foi ajustado para 7,0-7,5 com NaOH, mas, quando o pH foi elevado para 8,0, a aceitação diminuiu acentuadamente. Por outro lado, o leite de soja cujo pH foi ajustado com  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NaHCO}_3$  apresentou aceitação decrescente com o aumento do pH, sendo menos aceito o leite cujo pH foi ajustado com  $\text{NaHCO}_3$ . Segundo os autores, a concentração dos íons de sódio foi provavelmente mais importante do que o pH, no melhoramento de sabor do leite de soja.

A eficiência do íon cúprico como agente inibidor da formação de sabor estranho durante a elaboração do leite de soja foi investigada por HÜHN & PINHEIRO (61). Os autores observaram que a substituição da etapa de maceração do processo tradicional pelo tratamento envolvendo adição de íons cúpricos (12 ppm) e de  $\text{NaHCO}_3$ , seguido de aquecimento a  $80^\circ\text{C}$  durante 15 minutos, apresentava uma série de vantagens. Conforme os autores, além de melhorar significativamente o sabor do leite, tornando-o mais suave ao paladar, o tratamento proposto reduz o tempo prolongado de maceração do processo tradicional para apenas 15 minutos.

Além da melhoria de sabor, é importante que as técnicas empregadas para a obtenção do leite de soja visem também à melhoria do valor nutricional.

De acordo com vários autores (20, 93, 134, 145, 152), a composição e o rendimento do leite dependem da variedade da soja, do tempo e condições de armazenamento do grão, do teor inicial da

umidade, e dos procedimentos de extração, incluindo a fineza da massa moída, a proporção soja: água utilizada e a temperatura de extração.

A variedade de soja utilizada para extração do leite tem grande influência no teor de proteína do produto resultante. Utilizando técnicas de extração semelhantes, TURATTI *et alii* (145), BOURNE, CLEMENTE & BANZON (20) e MAN, STANLEY & RASPER (93) obtiveram leites de soja a partir de diferentes cultivares produzidos no Brasil, Filipinas e Canadá, respectivamente. Com relação ao teor de proteína do leite, os resultados obtidos pelos três autores foram coerentes com um valor médio de 2,7%.

Tempo e temperatura são fatores importantes que afetam a absorção de água pelo grão de soja durante a maceração. Os grãos absorvem rapidamente a água durante as duas primeiras horas, mas essa velocidade diminui até que os grãos se tornem saturados. Também a velocidade da absorção de água aumenta à medida que a temperatura aumenta (65, 151, 152).

Segundo LO *et alii* (86), grãos macerados a 1°C por 24 horas e 72 horas perdem 5 e 10% de sólidos solúveis, respectivamente, sendo que a velocidade da perda diminui com o tempo de maceração. WANG *et alii* (151) afirmaram que, dentre os sólidos perdidos, 7-16% são proteínas.

LO *et alii* (86) sugeriram ainda que a maceração deve ser contínua, em tempo suficiente que permita facilitar a desintegração do grão de soja durante o preparo de leite.

Por outro lado, WILKENS & HACKLER (152) verificaram que o tempo e a temperatura de maceração influenciavam na composição do leite produzido, uma vez que o teor de carboidratos foi diminuído e o de lipídios foi aumentado com o aumento de tempo e temperatura

da maceração, embora o teor de proteínas não tenha sido afetado.

KHALEQUE *et alii* (75) constataram que o leite preparado com grãos de soja macerados em solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,4M apresentava composição semelhante àquela obtida para grãos macerados em água. Já o leite preparado com grãos macerados em solução de NaOH 0,2M apresentou menores teores de proteína, gordura, cinza e carboidrato em relação aos outros. Quanto ao conteúdo de proteínas recuperadas no leite, o leite obtido de grãos macerados em solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  mostrou-se ligeiramente superior aos demais.

A proporção soja: água utilizada também influi notavelmente no teor de proteína do leite obtido. BOURNE *et alii* (20) citaram diversas proporções soja: água empregadas a priori por outros autores, as quais variavam entre 1:15 e 1:6, sendo 1:10 a mais usada. Dependendo da proporção soja: água utilizada, o teor de proteína do leite pode variar entre 2,4 e 4,2%.

Ao desintegrar soja (não macerada) com a água, a 60°C, WILKENS & HACKLER (152) obtiveram o rendimento máximo de sólidos totais. Foi também verificado pelos autores que a percentagem de recuperação da proteína no leite começava a diminuir ligeiramente a partir de 70°C.

KON *et alii* (77) demonstraram que ocorre um aumento notável nas percentagens de proteína e gordura extraídas, quando se utiliza moagem da soja em pH ácido.

JOHNSON & SNYDER (65) compararam três métodos de processamento do leite de soja, a saber: (a) aquecimento do grão intacto após a maceração, mas antes da desintegração; (b) aquecimento da soja macerada a 80°C, durante a desintegração e (c) desintegração da soja macerada sem aquecimento prévio ou durante a desintegração. Os autores verificaram que o processo (a) resultou num leite com baixo

teor de sólidos e baixa recuperação de proteína.

Tradicionalmente, o leite de soja é fervido (antes da retirada de resíduo) por aproximadamente 60 minutos em pH 6,7, a 99°C, com a finalidade de se obter 92% de redução na atividade do inibidor de tripsina. Entretanto, apenas 61% de sólidos e 73% de proteínas da soja são recuperados. Para melhorar o rendimento da recuperação desses componentes nas condições que inativam o inibidor de tripsina, JOHNSON *et alii* (66) utilizaram um processo de infusão por vapor direto e contínuo (temperatura elevada por curto tempo) e obtiveram bons resultados. Depois de um processo a 154°C por 40 segundos, em pH 6,7, os autores conseguiram recuperar 86% de sólidos e 90% de proteínas como leite de soja com baixa atividade do inibidor de tripsina (8,5%).

Extrato aquoso da soja integral foi submetido à ultrafiltração por OMOSAIYE & CHERYAN (104). Após tratamento, foi observada uma redução de 79% na atividade do inibidor de tripsina do produto final, que foi atribuída pelos autores, principalmente, aos tratamentos térmicos recebidos pela soja integral durante o processo de extração. O produto final apresentou 60% de proteína, 34% de gordura, 2,8% de cinza (base seca) e traços de oligossacarídeos e ácido fítico.

WANG *et alii* (151) relataram que a maceração não é processo eficiente para se remover o inibidor de tripsina da soja integral.

Embora não tenha sido confirmado experimentalmente, SHURTLIFF (130) afirmou que um branqueamento ou maceração da soja em água quente, a 82°C por 45 a 60 minutos antes da trituração, seria suficiente para inativar 95% do inibidor de tripsina.

WALLACE, BANNATYNE & KHALEQUE (149) verificaram que a



velocidade de inativação do inibidor de tripsina no leite preparado com grãos de soja macerados em solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,4M) era mais rápida (40 minutos para inativação completa) do que no leite preparado com grãos macerados em água (76 minutos para inativação completa), quando os leites eram aquecidos a  $98^\circ\text{C}$ . Segundo os autores, essa diferença de velocidade de inativação estava associada à mudança de pH, uma vez que quando ambos os leites eram autoclavados a  $115^\circ\text{C}$ , não se encontrava a diferença no pH e na velocidade de inativação do inibidor de tripsina (17 minutos para 100% de inativação nos dois casos).

Neste mesmo estudo, os autores observaram que a digestibilidade por tripsina, de proteínas do leite de soja, aumentava com o aumento de tratamento térmico e coincidia com o decréscimo de atividade do inibidor de tripsina. Uma vez que o inibidor de tripsina é destruído, um aquecimento adicional resultará num decréscimo da digestibilidade. Por outro lado, a digestão por pepsina não mostrou diferença significativa entre os leites submetidos a diferentes pré-tratamentos, obtendo-se, entretanto, valor superior no leite não submetido a tratamento térmico.

Ao estudar o efeito de tratamento térmico no valor nutricional da proteína do leite de soja, HACKLER *et alii* (53) verificaram que o aquecimento a  $93^\circ\text{C}$  por 1/2; 1; 2; 4 e 6 horas, não causava efeitos prejudiciais no crescimento de ratos, no QEP e na lisina disponível. Contudo, um valor máximo da qualidade nutricional foi obtido com aquecimento a  $121^\circ\text{C}$ , por 5-10 minutos, sendo que após 32 minutos nesta temperatura foi observado um efetivo declínio no QEP e na lisina disponível. De acordo com os autores, o valor baixo de lisina disponível serve como indicador de leite de soja super-aquecido, ao passo que percentagens altas do inibidor

de tripsina residual são usadas para indicar sub-aquecimento de leite de soja.

DUTRA DE OLIVEIRA & SCATENA (37) constataram que o valor nutritivo do leite de soja é comparável ao do leite animal quando o nível de consumo do primeiro é elevado. A resposta ao crescimento de ratos é geralmente menor para o leite de soja a teores baixos de proteína na dieta, o que pode, segundo os mesmos autores, ser corrigido pela suplementação com metionina. Foi também verificado que a mistura dos leites de vaca e de soja em diferentes proporções não melhora, significativamente, o valor nutricional da proteína, embora tal mistura possa apresentar certas vantagens para a palatabilidade, viabilidade industrial ou aceitabilidade do consumidor.

HACKLER & STILLINGS (51) avaliaram o efeito do tempo e temperatura (15 a 240 minutos a 93°C e 5 a 120 minutos a 121°C) do processamento térmico nas variações encontradas em aminoácidos da proteína do leite de soja. Os autores constataram que o leite de soja aquecido a 93°C por até 4 horas não apresentava mudanças significativas na composição de aminoácidos, no índice de aminoácidos essenciais e no índice de exigência; entretanto, as avaliações *in vitro* da qualidade da proteína de alimentos contendo fatores antinutricionais não têm validade, até que sejam inativadas essas substâncias antinutricionais. Por outro lado, os autores verificaram que houve um decréscimo imediato de cistina e de triptofano após 60 minutos de aquecimento a 121°C, o que explicava a queda ligeira no índice de aminoácidos essenciais e no índice de exigência. A diminuição da cistina limitou, segundo os autores, a utilização da proteína do leite de soja aquecido a 121°C, e, conseqüentemente, resultou na queda do QEP.

Pré-tratamentos, tais como: maceração da soja em solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NaOH}$ , ou branqueamento ( $70^\circ\text{C}$ ) em solução de  $\text{NaHCO}_3$  antes da trituração, não afetam a composição de aminoácidos da proteína do leite de soja, KHALEQUE *et alii* (75) e PUPO *et alii* (113).

### 2.3. Microondas

As microondas têm sido usadas como uma fonte de energia para o processamento de alimentos.

KALAFAT & KROGER (71) descreveram o termo "microondas" como ondas eletromagnéticas de comprimento de onda curta que têm frequências da ordem de 300 a 3.000 MHz. Contudo, as frequências mais usadas para o aquecimento industrial são de 915 e 2450 MHz, sendo que a maior parte dos fornos de microondas utiliza 2450 MHz, TAPE (143) e MACLEOD (89).

#### 2.3.1. Mecanismo de aquecimento

As microondas são geradas por meio de tubos de potências de rádio-frequência, chamados Magnetrons, Klystrons ou Amplitrons (6, 32, 71, 89, 98, 143). Segundo MACLEOD (89), um aparelho típico de aquecimento de microondas consiste de: (a) uma fonte de microondas (usualmente um magnetron), (b) uma linha de transmissão para distribuir energia ao produto (usualmente um guia de ondas) e (c) uma cavidade ressonante na qual o produto é aquecido (às vezes é o próprio guia de ondas). Dessa forma, a energia é radiada do magnetron, e, no forno de microondas, a cavidade ressonante é o próprio forno que tem paredes metálicas delineadas para refletir a radiação para trás e para frente.

As radiações de microondas podem ser refletidas, transmitidas ou absorvidas, dependendo do tipo de material atingido e, principalmente, do seu coeficiente dielétrico, forma e teor de umidade, MACLEOD (89). Em geral, de acordo com vários autores (32, 64, 89, 126) os metais refletem as microondas sem produzir aquecimento e são usados como isolantes na construção de fornos. Os vidros, papéis e plásticos não absorvem as microondas e portanto podem ser usados como recipientes. Já os alimentos absorvem a energia de microondas em vários níveis, convertendo-a em calor.

O efeito do aquecimento com microondas é devido, primeiramente, à interação de ondas com moléculas polarizadas ou íons livres. Os alimentos contêm água (molécula com dipolo) e outras moléculas polares e são, portanto, bons absorventes das radiações de microondas. Quando o alimento é submetido à energia de microondas, as moléculas dipolares, como a água, sofrem uma rápida rotação (milhões de vezes por segundo), alinhando-se com o campo eletromagnético alternante. Essas oscilações moleculares criam fricções intra e intermoleculares que resultam na produção de calor. Por isso, no aquecimento com microondas, o calor é gerado dentro do alimento e o aquecimento ocorre uniforme e rapidamente por todo material (6, 64, 71, 89, 96, 98, 126, 143).

MACLEOD (89) constatou que a distribuição uniforme nos alimentos, de moléculas polares que mostram movimentos intra e intermoleculares consideráveis no campo eletromagnético alternante, causa um efeito de aquecimento drástico quase instantâneo por todo material.

Os fatores que influenciam o aquecimento por microondas foram relatados por diversos autores (32, 64, 71, 89, 98, 143), e incluem: (a) tamanho, forma, uniformidade, composição, temperatura e

umidade do produto; (b) frequência e atenuação de microondas (o poder de penetração aumenta com a diminuição da frequência); (c) características operacionais do equipamento (tubo magnetron, modo da propagação de ondas na cavidade de microondas, etc.)

Em contraste com os métodos convencionais, no aquecimento por microondas a produção de calor é contínua e, portanto, há um aumento contínuo e rápido da temperatura quando o alimento está exposto a esta radiação, SALE (123). O mesmo autor afirmou que, se o produto é úmido, o calor é utilizado para evaporar a água e a temperatura permanece em 100°C. Assim que a água livre é evaporada, a temperatura do produto, que está praticamente seco, pode subir rapidamente, ocorrendo o risco de queima do mesmo.

#### 2.3.2. Aplicação na inativação enzimática

Embora o aquecimento por microondas apresente algumas características que o tornam superior aos aquecimentos convencionais, poucos trabalhos têm sido feitos para se verificar a possibilidade da sua aplicação na inativação enzimática.

COPSON (31) estudou a possibilidade de inativar, através de microondas, a metilesterase de pectina no concentrado de suco de laranja. O processo envolveu a absorção de microondas pelo concentrado, acompanhada pelo aumento correspondente na temperatura. Dessa forma, o produto foi aquecido rapidamente e a enzima foi inativada.

COLLINS & McCARTY (29) constataram que a energia de microondas oferece mais vantagens do que o branqueamento em água fervente para a inativação de polifenoloxidase e peroxidase em batatinhas inteiras. Segundo os autores, para tubérculos com 4,54 cm de

diâmetro, são necessários 13 minutos de aquecimento em água fervente para se inativar a peroxidase, enquanto que com microondas, apenas 4,7 minutos são suficientes. Polifenoloxidase, sendo mais termolábil do que a peroxidase, é destruída pela água fervente em 6 a 7,5 minutos e por microondas em 3 a 3,5 minutos.

HUXSOLL, DIETRICH & MORGAN Jr. (62) verificaram que a inativação completa de peroxidase no milho em espiga, exige, aproximadamente, 20 minutos no branqueamento a vapor ou em água, enquanto que no branqueamento por microondas o tempo necessário é de apenas 6 minutos. Foi constatado também pelos autores que, empregando-se o branqueamento em água por 4 minutos seguido de 2 minutos de tratamento por microondas, inativa-se a enzima em toda a espiga, permanecendo ligeira atividade apenas no sabugo. Contudo, DIETRICH *et alii* (36) informaram que o aquecimento por microondas durante 6 minutos causa no milho em espiga uma desidratação considerável. As amostras tratadas com microondas durante 4 minutos ou submetidas a branqueamento a vapor durante 12 minutos, quando estocadas às temperaturas de -29; -32 e -7°C apresentaram boa retenção de sabor original. Os autores verificaram também que o branqueamento em água seguido de microondas inativa a peroxidase sem ocorrer desidratação apreciável, mas, não oferece nenhuma vantagem com relação ao sabor, quando comparado com branqueamento a vapor ou por microondas.

MAHESHWARI, STANLEY & VAN DE VOORT (92) preconicionaram a umidade na semente da colza decorticada para diferentes níveis (7; 10 e 13%) e submeteram os grãos a microondas a vários intervalos de tempo (1; 1,5; 2 e 2,5 minutos), após o que foi medida a atividade residual de mirosinase (glicohidrolase de tioglicosídeo). Os autores verificaram que a amostra com 7% de umidade aqueceu

lentamente e exigiu pelo menos 2,5 minutos de tratamento, enquanto que as amostras com 10 a 13% de umidade aqueceram mais rapidamente, necessitando apenas 1,5 minutos ou menos, para a inativação completa da enzima.

POUR-EL *et alii* (110) expuseram grãos de soja inteiros (7-8% de umidade) aos aquecimentos dielétricos e com microondas nas frequências de 42 e 2450 MHz, respectivamente. Os autores verificaram que a atividade da lipoxidase foi marcadamente aumentada no período inicial do tratamento, seguindo-se uma diminuição rápida de atividade até inativação completa. O mecanismo responsável pelo aumento da atividade da lipoxidase não foi esclarecido pelos autores.

### 2.3.3. Influência sobre nutrientes e sobre sabor

LORENZ (87) fez uma revisão de literatura sobre efeito da energia de microondas nos componentes dos alimentos e chegou às seguintes conclusões: (a) umidade: os alimentos aquecidos no forno de microondas perdem, geralmente, mais umidade do que aqueles preparados pelos métodos convencionais; (b) proteína: à mesma temperatura, aquecimento com microondas mostra uma retenção superior de propriedades originais (ex.: solubilidade) da proteína; (c) lipídios: apenas poucas diferenças na gordura total e na composição de ácidos graxos; (d) carboidratos: não há efeito significativo nos carboidratos; (e) vitaminas: existe pouca concordância sobre a retenção de vitaminas, em decorrência da dificuldade da padronização do processo de cozimento que permita uma comparação adequada com os métodos convencionais; (f) pigmentos: as perdas de pigmento são minimizadas, garantindo aceitabilidade do produto e (g) enzima: o efeito da temperatura por um dado tempo, como resultado do tratamento

por microondas, é considerado responsável pela perda de atividade enzimática em alimentos. O tempo para a inativação enzimática é mais curto em microondas do que nos métodos convencionais.

Em relação à qualidade da proteína, WING & ALEXANDER (155) verificaram que para se obter boa qualidade nutricional, o período ótimo de aquecimento do grão de soja (48% de umidade) por microondas está entre 2 e 3 minutos. O processamento da soja integral por microondas resulta em grãos de alto valor nutricional (QEP=2,11), que são favoravelmente comparados a grãos autoclavados a 120°C por 40 minutos (QEP = 1,99).

Através do estudo de crescimento de ratos e QEP, SANCHEZ *et alii* (124) determinaram a qualidade da proteína da soja (integral com 7,5% de umidade) submetida a microondas. Segundo os autores, a composição centesimal da soja permanece a mesma após seu tratamento com microondas, com QEP igual a  $2,4 \pm 0,06$  e com uma média de ganho de peso semanal de rato igual a  $21,2 \pm 1,1$ . A soja submetida a microondas por mais tempo (temperatura atingida = 137°C) mostra um QEP igual a 2,37, que é estatisticamente próximo ao QEP da caseína (2,50). Quanto ao inibidor de tripsina, os mesmos autores afirmaram que à medida que a temperatura atingida por grãos submetidos a microondas aumenta, a destruição do inibidor é aumentada (80% de destruição a 138°C e 100% a 153°C). Foi também relatado pelos autores que a lipoxidase é efetivamente destruída antes que o sabor típico da soja crua apareça.

Por outro lado, KALAFAT & KROGER (71) constataram que muitos estudos têm mostrado poucas diferenças nutricionais significativas entre alimentos aquecidos por microondas e aqueles aquecidos por métodos convencionais.

Existem poucas evidências conclusivas sobre as diferenças



reais do sabor de alimentos cozidos convencionalmente e por microondas (11, 87, 90). MACLEOD (90) relatou que algumas diferenças de sabor podem ocorrer, mas não é certo se essas diferenças são puramente devidas a diferentes fontes de energia. Talvez a rapidez no aquecimento por microondas resulte num padrão diferente da formação dos voláteis responsáveis pelo sabor, alterando, dessa forma, o sabor global do alimento. O mesmo autor afirmou ainda que as diferenças encontradas na velocidade de inativação enzimática possibilitam diferenças no sabor do produto, uma vez que muitos compostos responsáveis pelo sabor são produzidos enzimaticamente.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Material

A matéria prima utilizada para os estudos foi a soja (*Glycine max* (L.) Merrill), variedade Santa Rosa, safra de 1983, fornecida pelo Instituto Agronômico de Campinas. Os grãos de soja estavam livres de impurezas e em condições boas para a utilização.

Para os ensaios biológicos, foram utilizados ingredientes comerciais ou quimicamente puros, de diversas procedências, a saber: caseína comercial (Indústria e Comércio de Laticínios Tacrigy Ltda.), amido puro de milho (Maizena), óleo refinado de milho (Mazola), sacarose (Açúcar Refinado União), vitaminas (Merck).

Os animais utilizados nos ensaios biológicos foram fêmeas albinas recém-desmamadas, da linhagem Wistar, com 21 a 25 dias de idade (40-55g), provenientes do Biotério da Escola Paulista de Medicina, São Paulo.

Para os testes sensoriais, foram utilizados: açúcar refinado (União), sal refinado (Cisne) e nescau (Nestlé).

Os reagentes empregados nas análises químicas foram todos de grau analítico e de diversas procedências (Merck, Sigma, Ecibra, etc.). Para as análises bioquímicas, as enzimas foram tripsina de pâncreas bovino (Sigma), pepsina (Riedel) e pancreatina de pâncreas de porco (BDH-Biochemicals), e os substratos foram ácido linoléico (Sigma) e caseína (Riedel).

Na execução das análises físicas, químicas, bioquímicas e nos ensaios biológicos, além da vidraria, aparelhos e utensílios indispensáveis de laboratório, utilizaram-se os seguintes equipa -

mentos e aparelhos específicos:

- Classificador de tamanho, equipado com um conjunto de 8 peneiras retangulares, de orifícios circulares cujas medidas foram de 18/64" a 11/64", sem marca;
- Moinho de facas com circulação de água fria IKA-Universalmühle M20;
- Balança analítica Sauter 414;
- Balança semi-analítica Sartorius 1205MP;
- Balança semi-analítica Mettler P1210;
- Estufa com circulação forçada de ar Memmert UL-40;
- Estufa Fanem Retilínea;
- Extrator Goldfish;
- Extrator Soxhlet com chapa aquecedora Gerhardt;
- Digestor Ética e destilador de proteína;
- Mufla Forlabo;
- Agitador magnético com banho de água para controle de temperatura IKA-Heizbad HBR-250;
- Banho de água contendo agitador mecânico, com controle de temperatura Ética;
- Forno de microondas com frequência de 2450 MHz Sanyo 9003B;
- Liofilizador Virtis 10-146 MR-BA;
- Liofilizador Stokes;
- Centrifugador Fanem 204-NR;
- Centrífuga de cesto de uso doméstico Walita HL 3234;
- pH metro Corning 125/2;
- Espectrofotômetro UV/VIS Perkin Elmer, Lambda 3;
- Espectrofotômetro Bausch & Lomb Spectronic 20;
- Liquidificador Walita com oito velocidades;
- Banho-maria com controle de temperatura Fabbe 169;

- Potenciômetro Kaye Digistrip III com termopar tipo T (cobre-constantan) nº 36;
- Circulador de água fria com compressor Savant RWC-50A;
- Rotaevaporador Rotavapor-RE Büchi;
- Bomba de vácuo Marvac 2RRI;
- Analisador automático de aminoácidos Beckman 119-CL;
- Gaiolas de tela.

### 3.2. Métodos

Todas análises que se seguem, com exceção da classificação do grão de soja e análise de aminoácidos totais, foram feitas em triplicata ou quadruplicata.

#### 3.2.1. Classificação do grão de soja por tamanho

Os grãos de soja (300 g de cada vez) foram peneirados num conjunto de oito peneiras retangulares vibratórias, durante três minutos, conforme o método usado por JORGE (67). A amplitude de oscilação das peneiras foi de 1,5 cm, produzida por um excêntrico acionado por um motor a 360 r.p.m., aproximadamente.

Posteriormente, as quantidades retidas em cada peneira foram pesadas e calculada a peneira média, conforme a seguinte fórmula:

$$P_m = \frac{\sum_{i=11}^{18} i P_i}{\sum_{i=11}^{18} P_i}$$

onde Pm → peneira média

Pi → peso do grão retido na peneira i

i → Nº da peneira

### 3.2.2. Composição centesimal do grão de soja

#### 3.2.2.1. Umidade

A umidade foi determinada segundo o método descrito na AACC 44-31 ( 3 ).

#### 3.2.2.2. Extrato etéreo

Determinou-se segundo o método descrito na AACC 30-25 ( 3 ), utilizando-se o aparelho de extração de Goldfish. Na extração usou-se como solvente éter de petróleo (p.e. 30-60°C), por seis horas.

#### 3.2.2.3. Proteína bruta

Determinou-se o conteúdo de nitrogênio total pelo método de micro-Kjeldahl, descrito na AACC 46-12 ( 3 ), e o conteúdo de proteína bruta foi calculado, multiplicando-se o teor de nitrogênio total pelo fator 6,25.

#### 3.2.2.4. Fibra crua

Determinou-se segundo o método de VAN DE KAMER & VAN GINKEL (147).

### 3.2.2.5. Cinza

A determinação de cinza foi feita segundo o método descrito na AACC 08-16 ( 3 ).

### 3.2.3. Maceração de soja

Os grãos de soja foram macerados em água, na proporção soja:água de 1:4, à temperatura constante de 28°C, por 15; 30; 45 e 60 minutos. Após a maceração, determinou-se a umidade de cada amostra, conforme método citado no item 3.2.2.1.

### 3.2.4. Tratamento do grão de soja com microondas

Os grãos de soja com diferentes umidades foram colocados em placa de Petri de 15 cm de diâmetro por 2 cm de altura e submetidos à radiação de microondas de 2450 MHz durante os seguintes intervalos de tempo: 30; 60; 90; 120; 150; 180; 210 e 240 segundos. A fim de se ter um aquecimento mais uniforme dos grãos de soja, cada exposição foi interrompida após meio tempo, durante 4-5 segundos, e a placa de Petri foi girada 180° no seu eixo vertical.

Ao término da exposição a microondas, os grãos sofreram diferentes tratamentos, conforme a finalidade pretendida.

Para a determinação da temperatura atingida pelos grãos, imediatamente após a exposição, foram colocados termopares em 3 pontos diferentes da placa e as temperaturas foram lidas através do potenciômetro Kaye Digistrip III. A temperatura atingida por cada amostra (em duplicata) foi considerada como a média de 6 valores máximos registrados pelo potenciômetro, imediatamente após a reti-

rada do forno de microondas.

Os grãos destinados à determinação de umidade foram retirados da placa e colocados em latas previamente taradas. A medida da umidade foi feita segundo o método citado no item 3.2.2.1.

Para a determinação da atividade residual da lipoxidase e do índice de solubilidade de nitrogênio, os grãos, imediatamente após tratamento com microondas, foram mergulhados em nitrogênio líquido e levados a congelador. Tal procedimento visou a um abaixamento rápido de temperatura, de forma a evitar a continuação do efeito do aquecimento produzido pelas microondas. A mesma imersão em nitrogênio líquido foi feita com os grãos não tratados.

Os grãos de soja, tanto os tratados como os não tratados, foram liofilizados, moídos, desengordurados e novamente moídos, até se atingir granulometria de 100 mesh. Uma vez preparadas as farinhas, as mesmas foram submetidas à extração com água, obtendo-se o extrato aquoso. Com esse extrato, foram feitas as análises de atividade da lipoxidase e de índice de solubilidade de nitrogênio.

#### 3.2.4.1. Atividade residual da lipoxidase

Segundo BORHAN & SNYDER (18), o extrato aquoso contém lipoxidase e pode ser usado como fonte de enzima. Portanto, a atividade da lipoxidase foi determinada no extrato aquoso, usando-se ácido linolêico como substrato (em solução etanólica, diluído, na hora de uso, com tampão borato a pH 9,0), segundo o método de SURREY (141). A atividade residual da lipoxidase das amostras tratadas foi calculada, considerando-se como 100% a atividade enzimática no grão de soja não submetido a microondas.

#### 3.2.4.2. Índice de solubilidade de nitrogênio (ISN)

Usando-se o mesmo extrato aquoso utilizado para determinação da atividade da lipoxidase, determinou-se a percentagem de nitrogênio solúvel conforme o método descrito na AACC 46-23 ( 3 ). O índice de solubilidade de nitrogênio (ISN), foi calculado pela relação:

$$\% \text{ ISN} = \frac{\% \text{ Nitrogênio solúvel na água}}{\% \text{ Nitrogênio total}} \times 100$$

#### 3.2.5. Elaboração do leite de soja

Dentre as amostras tratadas, foram escolhidas cinco amostras que apresentavam atividade residual da lipoxidase inferior a 5% e cujo índice de solubilidade de nitrogênio era adequado para a elaboração de leite.

As amostras escolhidas foram processadas, em escala de laboratório, para obtenção do leite, conforme fluxograma apresentado na FIGURA 1. A soja não submetida a microondas foi também processada para obtenção de leite, usando-se o mesmo procedimento.

A proporção soja:água utilizada no preparo do leite foi igual a 1:9, conforme sugerido por Da Costa & Arkcoll, citado por BOURNE, CLEMENTE & BANZON (20 ).

#### 3.2.6. Rendimento do leite extraído

Foram pesados e medidos os leites preparados e também pesados os resíduos correspondentes.

Considerando-se o aumento de peso dos grãos macerados como



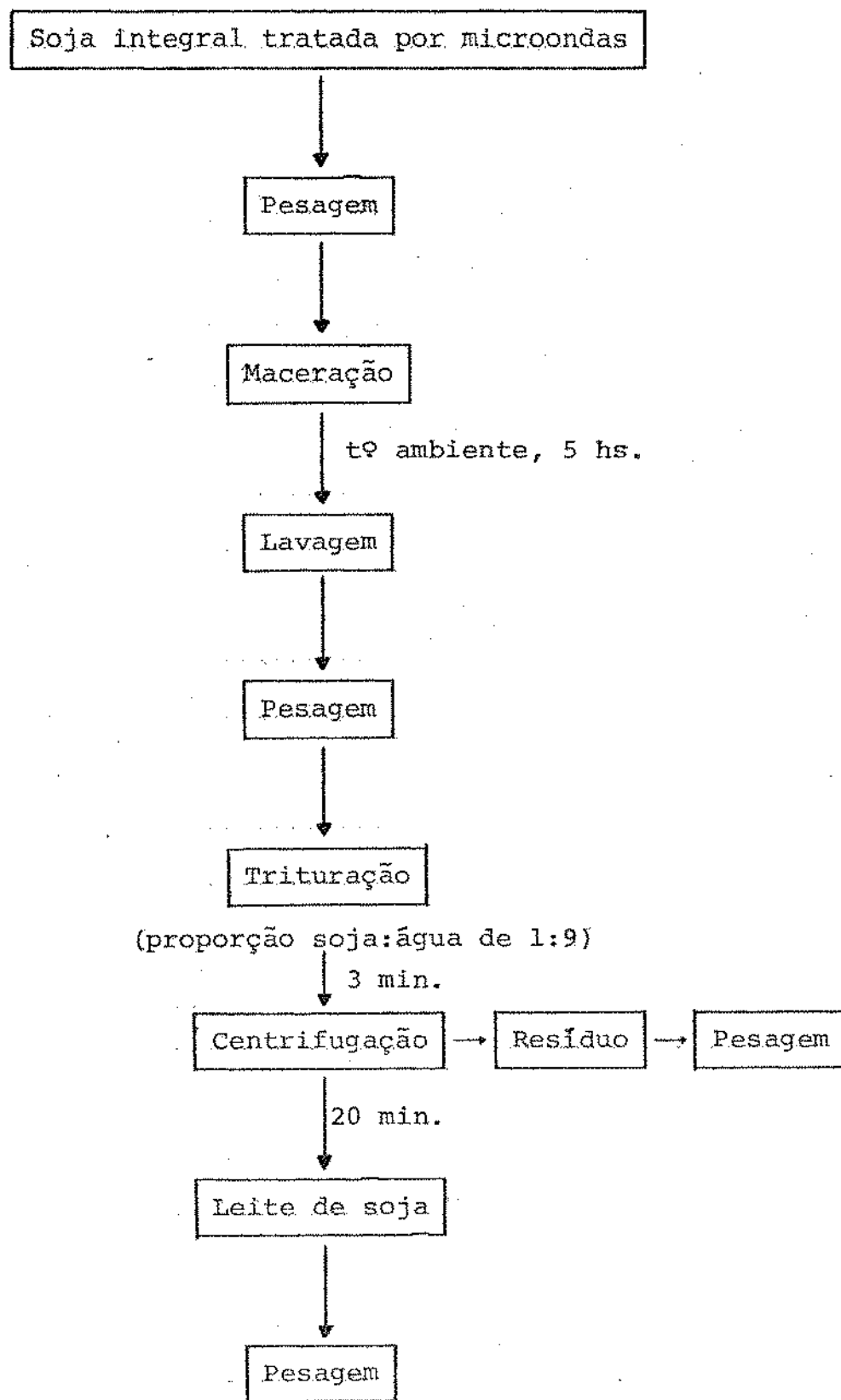


FIGURA 1 - Fluxograma para produção de leite de soja em escala de laboratório, utilizando grãos tratados por microondas.

água absorvida, foi calculada a relação entre o peso da água absorvida e o peso inicial da soja.

### 3.2.7. Determinações químicas do leite de soja

Os leites obtidos a partir de grãos submetidos ou não a microondas foram analisados quanto aos teores de proteína, matéria graxa, cinza, sólidos totais e aminoácidos totais.

#### 3.2.7.1. Proteína bruta

A proteína bruta foi determinada pelo método micro-Kjeldahl, conforme descrito no item 3.2.2.3.

#### 3.2.7.2. Matéria graxa

Determinou-se segundo o método de BLIGH & DYER ( 13 ).

#### 3.2.7.3. Cinza

Amostras de 10 ml de leite foram colocadas em cadinhos de porcelana e evaporadas lentamente em estufa ( $\sim 50^{\circ}\text{C}$ ), sendo a seguir carbonizadas em chapa quente. Em seguida, foi feita a determinação de cinza de acordo ao método descrito no item 3.2.2.5.

#### 3.2.7.4. Sólidos totais

A determinação de sólidos totais foi feita segundo o método descrito na AOAC, procedimento 15.014 ( 8 ).

### 3.2.7.5. Aminoácidos totais

Foram determinados pelo método de troca iônica de SPACKMAN, STEIN & MOORE (138), usando-se um analisador automático de aminoácidos Beckman modelo 119-C1.

As amostras foram preparadas seguindo-se, basicamente, as recomendações descritas no manual do aparelho (Beckman Instruments 1966), a saber: uma quantidade conhecida de proteína (25 a 30 mg) foi hidrolisada em HCl 6N a 110°C durante 22 horas, em tubos pyrex (12 x 15 mm) providos de rolhas de teflon, hermeticamente fechados e na ausência de oxigênio. O hidrolisado foi filtrado em filtro de vidro G-4 e o volume completado para 100 ml. Tomou-se 20 ml dessa solução e, em evaporador rotativo com banho a 45°C e circulação de água refrigerada a 0°C, evaporou-se o HCl, lavando-se o resíduo 2 vezes com 10 ml de água destilada. O hidrolisado final foi dissolvido em 5 ml de tampão citrato de sódio a pH 2,2, sendo que 100 µl dessa solução foram utilizados na cromatografia. Uma vez corrido o aminograma, calcularam-se quantitativamente os aminoácidos das amostras, com exceção do triptofano, que é destruído na hidrólise ácida.

### 3.2.7.6. Escore de aminoácido (EAA) ou escore químico

Com base nos valores de aminoácidos obtidos no item 3.2.7.5., calculou-se o escore químico, tomando como referência o padrão da FAO/WHO, conforme o método descrito pela FAO/WHO (42).

$$\text{EAA} = \frac{\text{mg de aminoácido por g de proteína teste}}{\text{mg de aminoácido por g de proteína do padrão da FAO/WHO}} \times 100$$

O aminoácido limitante é o aminoácido essencial que mostra a menor percentagem de escore de aminoácido.

#### 3.2.7.7. Rendimento de extração de proteína e matéria graxa

Pelos valores de proteína e matéria graxa no leite e no grão e pela quantidade de leite obtida (em peso), calculou-se o rendimento de extração para esses dois componentes, através da fórmula recomendada por TURATTI *et alii* (145):

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Peso do leite} \times \% \text{ do componente no leite}}{\text{Peso do componente em 100 g de soja}}$$

#### 3.2.8. Análises bioquímicas do leite de soja

##### 3.2.8.1. Atividade do inibidor de tripsina

Foi determinada, basicamente, segundo o método original de Kunitz, 1947, conforme descrito por KAKADE, SIMONS & LIENER (69), que consiste na digestão da caseína pela enzima tripsina, determinando-se sua atividade pela introdução do inibidor. Usaram-se, na mistura de reação, de 0,24 a 0,32 mg de proteínas do leite contendo o inibidor, o que resultou na melhor atividade nas condições do método.

Levando-se em conta a definição de unidade de tripsina (UT) como sendo o aumento de 0,01 unidade de absorbância a 280 nm nas condições do teste, calcularam-se as unidades de tripsina inibida (UTI) pela diferença entre as unidades de tripsina totais (UT) da atividade máxima e as da amostra contendo o inibidor.

#### 3.2.8.2. Digestibilidade da proteína *in vitro*

Usaram-se, basicamente, os reagentes e o procedimento descritos por AKESON & STAHMANN (1), que são baseados na hidrólise enzimática das proteínas em pH ácido com pepsina, seguida de hidrólise em condições alcalinas com pancreatina. Foram introduzidas algumas modificações no método, tais como: (a) proporção proteína: pepsina igual a 10:1; (b) proporção proteína: pancreatina igual a 7,5:1; (c) precipitação da proteína não digerida com ácido tricloroacético.

#### 3.2.8.3. Disponibilidade aparente de metionina

Após a hidrólise enzimática da proteína, determinou-se a metionina no extrato não precipitável com ácido tricloroacético, segundo o método de McCarthy & Sullivan adaptado por PIENIAZËK, GRABAREK & RAKOWSKA (106). Este método é baseado na reação com nitroprussiato de sódio em meio ácido, dando coloração que pode ser lida em 520 nm, avaliando-se o teor de metionina através de uma curva padrão.

#### 3.2.9. Quociente da eficiência protéica (QEP) do leite de soja

Para estudo do quociente da eficiência protéica (QEP), utilizaram-se fêmeas albinas recém-desmamadas. Em todos os ensaios, a caseína foi usada como proteína-padrão na base de 10% da dieta.

### 3.2.9.1. Preparo das dietas

Antes do preparo das dietas, todos os leites foram liofilizados. A composição centesimal das dietas está especificada na AOAC, procedimento 43.183 ( 9 ). As proporções usadas estão apresentadas no Quadro 4, sendo que nos QUADROS 5 e 6 são mostrados os valores da composição das misturas salina e vitamínica usadas nas dietas.

QUADRO 4 - Composição centesimal das dietas utilizadas nos ensaios biológicos.

Componentes	%
Proteínas (provenientes de cada leite de soja)	10
Gordura (óleo refinado de milho)	8
Sais minerais (Quadro 8)	4
Vitaminas (Quadro 9)	2
Fibra	1
Carboidrato*	para 100

\* Composto de 25% sacarose (açúcar refinado comercial) e 75% amido (amido puro de milho).

QUADRO 5 - Composição centesimal da mistura salina usada nas dietas para os ensaios biológicos.

Componentes	%
Molibdato de amônio $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,003
Carbonato de cálcio $\text{CaCO}_3$	29,290
Fosfato de cálcio $\text{CaHPO}_4$	0,430
Sulfato cúprico $\text{CuSO}_4$	0,156
Citrato férrico $\text{Fe}^{+3} + (\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O})_n$	0,620
Sulfato de magnésio $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	9,980
Sulfato de manganês $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,121
Iodeto de potássio $\text{KI}$	0,0005
Fosfato de potássio $\text{K}_2\text{HPO}_4$	34,310
Cloreto de sódio $\text{NaCl}$	25,060
Selenito de sódio $\text{Na}_2\text{SeO}_3$	0,002
Cloreto de zinco $\text{ZnCl}_2$	0,020

Fonte: ROGERS & HARPER (121).

QUADRO 6 - Composição (mg/kg) da mistura vitamínica utilizada nas dietas para os ensaios biológicos.

Componentes	mg
Vitamina A concentrado (200.000 unidades/g)	4.500
Vitamina D concentrado (400.000 unidades/g)	250
$\alpha$ -Tocoferol	5.000
Ácido ascórbico	45.000
Inositol	5.000
Cloreto de colina	75.000
Menadiona	2.250
Ácido p-aminobenzóico	5.000
Niacina	4.500
Riboflavina	1.000
Cloridrato de piridoxina	1.000
Cloridrato de tiamina	1.000
Pantotenato de cálcio	3.000
Biotina	20
Ácido fólico	90
Vitamina B <sub>12</sub>	1,35
Sacarose	para 1.000.000

Fonte: NBC (103).



Após o preparo das dietas, foram determinados os teores reais de proteína bruta nas mesmas, usando-se o método micro-Kjeldahl, conforme descrito no item 3.2.2.3.

#### 3.2.9.2. QEP

Utilizou-se, basicamente, o método descrito na AOAC, procedimentos 43.183-43.187 (9), com algumas modificações. Na realização dos ensaios, foram usadas fêmeas albinas, da linhagem Wistar (seis ratas por amostra), com idade de 21 a 25 dias e peso de 40-55g. As ratas foram mantidas em gaiolas individuais com água e dieta *ad libitum* pelo período de 28 dias. Findo esse período, foram calculados os valores de QEP, dividindo-se os ganhos de peso em gramas pela proteína consumida, também em gramas, tendo-se a caseína como padrão. A proteína consumida foi calculada utilizando-se os valores reais de proteína encontrados nas diferentes dietas (média =  $10,59 \pm 0,30$ , coeficiente de variação = 2,87%). Os ensaios tiveram início após 5 dias de adaptação nas dietas experimentais, tendo-se pesado inicialmente as ratas e a dieta a elas administrada. A partir dessa pesagem, estabelecida como início, foram feitas pesagens regulares a cada 4 dias, pelo período de 4 semanas (início, 4º, 8º, 12º, 16º, 20º, 24º e 28º dias). As pesagens foram feitas a fim de se obter o peso de cada rata e da respectiva ração consumida. Calcularam-se também, em função do mesmo teste: (a) ganho de peso por rata e por dia e (b) eficiência alimentar, representada pelo quociente entre a dieta ingerida e o ganho de peso, conforme DUTRA DE OLIVEIRA & SCATENA (37).

### 3.2.10. Avaliação sensorial do leite de soja

Para verificar a melhoria e aceitação do sabor do leite de soja preparado com grãos submetidos a microondas, foi escolhida apenas uma amostra de soja submetida a microondas, com atividade residual da lipoxidase inferior a 5% e com o melhor valor de QEP, comparada com as outras amostras tratadas.

#### 3.2.10.1. Teste piloto de preferência com adultos

Foram elaborados 2 tipos de leite de soja: um a partir de grãos com tratamento por microondas previamente escolhido e outro a partir de grãos não tratados (controle), segundo fluxograma descrito na FIGURA 1. Logo a seguir, foram medidos os volumes dos leites e estes fervidos em panela aberta durante 10 minutos. Após este tempo, fez-se nova medição do volume dos leites e completou-se com água até o volume inicial. Os leites foram mantidos sob refrigeração a 10°C durante 14 horas.

Usando-se esses leites, foi determinada a preferência pela amostra, aplicando-se o método de comparação pareado-direcional, o qual foi usado por KON *et alii* (77). Foi usado um teste piloto de consumidor com a participação de 100 pessoas adultas de ambos os sexos, incluindo alunos e funcionários da Faculdade, com idade entre 18 e 48 anos.

#### 3.2.10.2. Teste piloto de aceitação com escolares

O leite de soja selecionado para o teste piloto de preferência foi também utilizado no teste piloto de aceitação com

escolares. Neste teste, o leite foi fervido conforme descrito em 3.2.10.1. e em seguida formulado.

Alguns ensaios preliminares foram feitos para se obter a formulação do leite de soja a ser avaliado, e a fórmula final empregada foi a seguinte:

- leite de soja 100 ml (previamente escolhido)
- açúcar 8 g
- sal 0,2 g
- nescau 5 g

O leite de soja formulado foi mantido sob refrigeração a 10°C durante 14 horas e então oferecido a escolares do 1º grau de Barão Geraldo. Participaram do teste 120 crianças de ambos os sexos, na faixa etária de 7 a 14 anos. Avaliou-se o leite de soja usando-se o método de Escala da Porção Consumida (EPC), conforme HEAD, GIESBRECHT & JOHNSON (56). Por meio da EPC mediu-se a porção consumida através da quantidade rejeitada por criança. A porção consumida foi classificada como: bebeu nada, bebeu quase nada, bebeu metade, bebeu quase tudo e bebeu tudo.

### 3.2.11. Análise estatística

Foram realizadas análises de variância para delineamentos com dois critérios de variação na determinação de temperatura final, perda de umidade, atividade residual da lipoxidase e índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja tratado com microondas, verificando-se o efeito da interação entre tempo de tratamento com microondas e teor de umidade inicial do grão de soja. Foram também feitas análises de variância, segundo o delineamento com um critério de variação nas determinações de rendimento do leite

extraído da soja e de proteína e matéria graxa, bem como nas análises químicas e bioquímicas do leite de soja, com posterior análise das diferenças entre médias pelo teste de Tukey. No parâmetro do ensaio biológico, foram feitas análises de variância e ajuste das equações de regressão linear para o crescimento de ratas. Foi também estudada a correlação entre as seguintes variáveis: umidade inicial do grão de soja x atividade residual do inibidor de tripsina (ARIT), ARIT x digestibilidade da proteína *in vitro*, ARIT x QEP, digestibilidade da proteína *in vitro* x QEP e escore de aminoácidos sulfurados x QEP. Todas análises estatísticas foram realizadas segundo os métodos descritos em PIMENTEL GOMES (107) e COCHRAN & COX (27).

Aos resultados do teste piloto de preferência foi aplicada a estatística de  $\chi^2$  (qui-quadrado) e tabela preconizada por ROESSLER *et alii* (120).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Classificação do grão de soja por tamanho

O QUADRO 7 mostra a classificação, por tamanho e peneira média, de grãos de soja da variedade Santa Rosa, safra de 1983.

QUADRO 7 - Classificação de grãos de soja por tamanho e peneira média.

Peneira	Peso médio (g)	Retenção (%)
18 (=18/64")	1,70	0,53
17	14,50	4,55
16	75,10	23,61
15	131,50	41,36
14	68,90	21,67
13	21,30	6,69
12	4,20	1,31
11	0,90	0,28

Peneira média = 15/64".

Os dados apresentados no QUADRO 7 mostram que 86,64% dos grãos de soja ficaram retidos nas peneiras 14, 15 e 16, correspondendo a um valor de peneira média de 15/64". Este valor concorda com aquele obtido por JORGE (67) para a mesma variedade de soja.

A uniformidade no tamanho do grão de soja foi considerada

um fator importante no tratamento dos grãos com microondas, uma vez que proporciona um aquecimento mais uniforme do produto.

#### 4.2. Composição centesimal do grão de soja

A composição centesimal, em base seca, dos grãos de soja utilizados neste estudo está apresentada no QUADRO 8.

QUADRO 8 - Composição centesimal da soja em grão (% base seca).

Componentes	Teor (%)
Proteína (N x 6,25)	38,88
Lípídeo (em éter de petróleo)	22,70
Cinza	4,85
Fibra Crua	5,78
Carboidrato*	27,79

\* Calculado por diferença:  $100 - (\text{proteína} + \text{lípídeo} + \text{cinza} + \text{fibra crua})$ .

Os resultados apresentados no QUADRO 8 são semelhantes àqueles encontrados por COSTA, MIYA & FUJITA (33) e TURATTI *et alii* (145), na determinação da composição química do grão de soja da variedade Santa Rosa de safras de 1973 e 1978, respectivamente.

#### 4.3. Tratamento do grão de soja por microondas

##### 4.3.1. Obtenção de grãos de soja com diferentes umidades

Considerando que no aquecimento por microondas o calor é gerado dentro do alimento em consequência de fricções causadas pelas oscilações moleculares da água presente (6, 64, 71, 89, 96, 98, 126, 143), procurou-se, inicialmente, avaliar a influência da umidade do grão na temperatura atingida após diferentes tempos de exposição a microondas.

Grãos de soja (peneira média = 15/64") com diferentes umidades foram obtidos através de maceração em água (proporção soja: água de 1:4), a 28°C, por diferentes intervalos de tempo, conforme apresentado no QUADRO 9.

QUADRO 9 - Umidade do grão de soja após diferentes tempos de maceração a 28°C.

Tempo de maceração (minutos)	Umidade do grão (b.s.) (%)
0	8,70 e
15	26,94 d
30	38,75 c
45	47,00 b
60	56,81 a

As médias seguidas de letra diferente diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os dados obtidos indicam que a absorção de água pelo grão de soja foi mais acentuada nos primeiros 15 minutos de maceração.

#### 4.3.2. Elevação da temperatura e perda de umidade do grão de soja durante aquecimento por microondas

O QUADRO 10 e a FIGURA 2 evidenciam a temperatura atingida pelos grãos de soja com diferentes umidades iniciais após vários tempos de tratamento com microondas de 2450 MHz.

Pelos resultados apresentados no QUADRO 10 e na FIGURA 2, observa-se que apenas os grãos com 8,70% de umidade inicial mostraram um aumento contínuo de temperatura com o aumento de tempo de exposição a microondas até 240 segundos.

Para grãos com 26,94; 38,75; 47,00 e 56,81% de umidade inicial, um aumento de temperatura com o tempo de exposição a microondas foi observado até que os grãos atingissem temperaturas ao redor de 100°C, quando então a temperatura permaneceu constante por cerca de 30 segundos, subindo novamente logo a seguir. Este resultado está de acordo com SALE (123), que constatou que, se o produto é úmido, como é o caso dos grãos com 26,94; 38,75; 47,00 e 56,81% de umidade inicial, o calor produzido por microondas é utilizado para evaporar a água e a temperatura do produto permanece ao redor de 100°C. Assim que a água livre é evaporada, a temperatura do produto sobe rapidamente.

Analisando-se ainda a FIGURA 2, pode-se verificar que para tempos de exposição de até 120 segundos, a velocidade de aquecimento foi crescente com o aumento do teor de umidade inicial do grão de 8,70 até 47,00%. Entretanto, acima de 47,00% de umidade, não houve aumento apreciável na velocidade de aquecimento nos primeiros



QUADRO 10 - Efeito da unidade inicial na temperatura atingida pelo grão de soja após vários tempos de tratamento com microondas de 2450 Mhz.

Unidade inicial		Temperatura (°C) após vários tempos (segundos)							
(%)		30	60	90	120	150	180	210	240
8,70		38,16 dH	50,61 dG	63,63 eF	77,68 eE	90,74 cD	103,61 aC	115,60 aB	122,32 aA
26,94		45,59 cG	62,76 cF	79,17 dE	94,56 dD	101,92 aC	102,69 aBC	103,97 bB	108,05 bA
38,75		49,45 bG	79,87 bF	88,33 cE	96,81 cD	99,92 bC	100,37 cC	102,66 cB	106,16 cA
47,00		52,27 aG	81,82 aF	89,93 bE	98,56 bD	101,53 aC	101,66 bCC	103,08 bCB	107,10 bCA
56,81		51,43 aF	82,14 aE	94,79 aD	101,18 aC	101,78 aC	101,87 bCB	103,02 bCB	106,97 cA

As médias seguidas de letra diferente, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

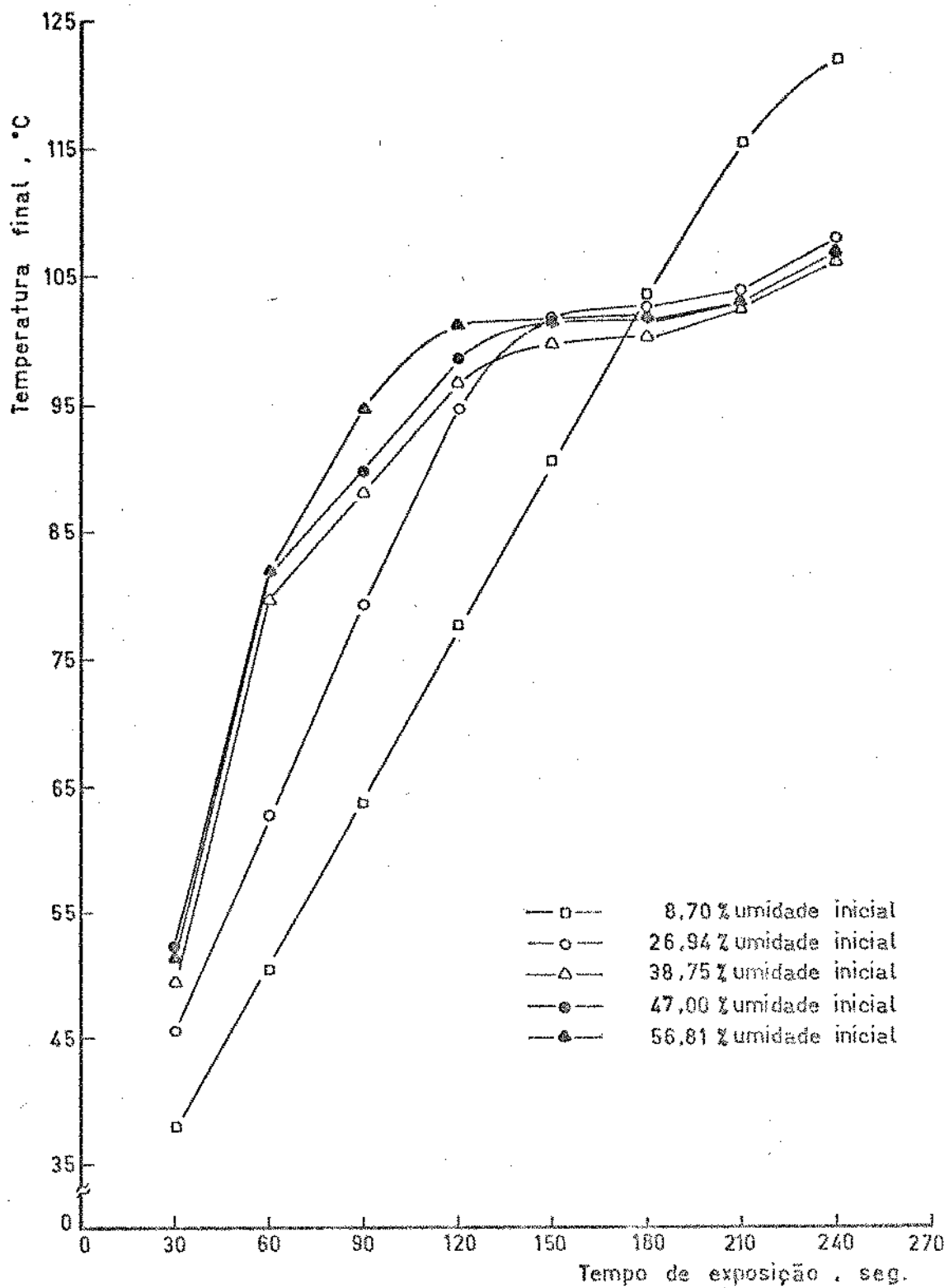


FIGURA 2 - Temperatura atingida por grãos de soja em função do tempo de exposição a microondas de 2450 MHz.

60 segundos. Tal fato sugere que nem todas moléculas de água são envolvidas para a produção de calor, havendo uma unidade máxima acima da qual novos incrementos de umidade não resultam em maior velocidade de aquecimento.

Por outro lado, em tempos superiores a 180 segundos a velocidade de aquecimento diminuiu para os grãos com maiores teores de umidade, sendo que, no final do tratamento, a temperatura atingida pelos grãos de soja com 8,70% de umidade foi bastante superior àquelas observadas para os demais grãos. Considerando que maior teor de umidade inicial do grão significa que há maior teor de água livre no produto, é compreensível que se tenha exigido um tempo mais longo para a evaporação da água livre nos produtos úmidos, o que resultou em temperaturas mais baixas no final da exposição.

O aumento linear de temperatura em função do tempo de exposição a microondas verificado nos grãos de soja com 8,70% de umidade inicial foi também observado por COLLINS & McCARTY (29), em batatinhas com 4 cm de diâmetro, submetidas a microondas por 4,4 minutos.

No QUADRO 11 estão apresentados os teores da umidade perdida por grãos de soja com diferentes umidades iniciais, após vários tempos de tratamento com microondas.

Os dados obtidos no QUADRO 11 mostram que houve perda de umidade crescente com o aumento do tempo de exposição, particularmente em grãos cujo teor de umidade inicial era mais elevado.

De acordo com MAHESHWARI, STANLEY & VAN DE VOORT (92), a perda de umidade do grão de soja durante o tratamento com microondas pode ser tomada como o índice de velocidade de aquecimento por microondas. Outros autores (110) preferem utilizar a energia absorvida como o indicador de efeito de aquecimento, considerando que a

QUADRO 11 - Efeito da umidade inicial na perda de umidade do grão de soja após vários tempos de tratamento com microondas de 2450 MHz.

Umidade inicial		Perda de umidade (% b.s.) após vários tempos (segundos)							
(%)		30	60	90	120	150	180	210	240
8,70		0 dG	0 cG	0,30 dF	0,50 dE	0,67 dD	0,96 eC	1,17 eB	1,53 eA
26,94		0 dG	1,58 bF	3,98 cE	5,24 cD	8,10 cC	8,40 dC	14,01 dB	15,02 dA
38,75		1,88 bG	5,56 aF	9,31 bE	12,91 bD	13,43 bD	17,33 cC	18,58 cB	20,47 cA
47,00		3,78 aH	5,61 aG	9,54 bF	13,08 bE	14,13 bD	18,26 bC	21,61 bB	23,19 bA
56,81		1,14 cH	5,11 aG	11,14 aF	14,29 aE	16,54 aD	20,85 aC	29,48 aB	32,94 aA

As médias seguidas de letra diferente, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

absorção de energia pelo grão de soja durante aquecimento por microondas resulta principalmente na elevação de temperatura da soja e na vaporização da água da soja. Os mesmos autores afirmaram ainda que a perda da umidade da soja durante a exposição a microondas é substancial, embora algumas moléculas de água evaporada se condensem e sejam reabsorvidas pela soja quando esfriada.

HUXSOLL, DIETRICH & MORGAN Jr. (62) constataram que durante o aquecimento por microondas, parte do calor gerado é convertido em calor latente de vaporização, o qual resulta na perda de umidade do produto.

No presente estudo, tanto a perda de umidade do grão como a elevação da temperatura foram consideradas como indicadores do efeito de aquecimento por microondas.

A relação entre a perda de umidade e a temperatura final atingida pelos grãos de soja com diferentes umidades iniciais, está ilustrada na FIGURA 3.

Os dados apresentados confirmam que a temperatura do produto úmido permanece ao redor de 100°C durante a evaporação da água livre, sendo que apenas para os grãos com 8,70% de umidade inicial uma relação linear entre aumento da temperatura e perda de umidade foi observada durante todo o tempo de tratamento por microondas.

#### 4.3.3. Atividade residual da lipoxidase e índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja submetido a microondas

De acordo com vários autores (19, 102, 136, 154), o rompimento do grão de soja libera a enzima lipoxidase e também ácidos graxos insaturados, o que resulta na produção de compostos

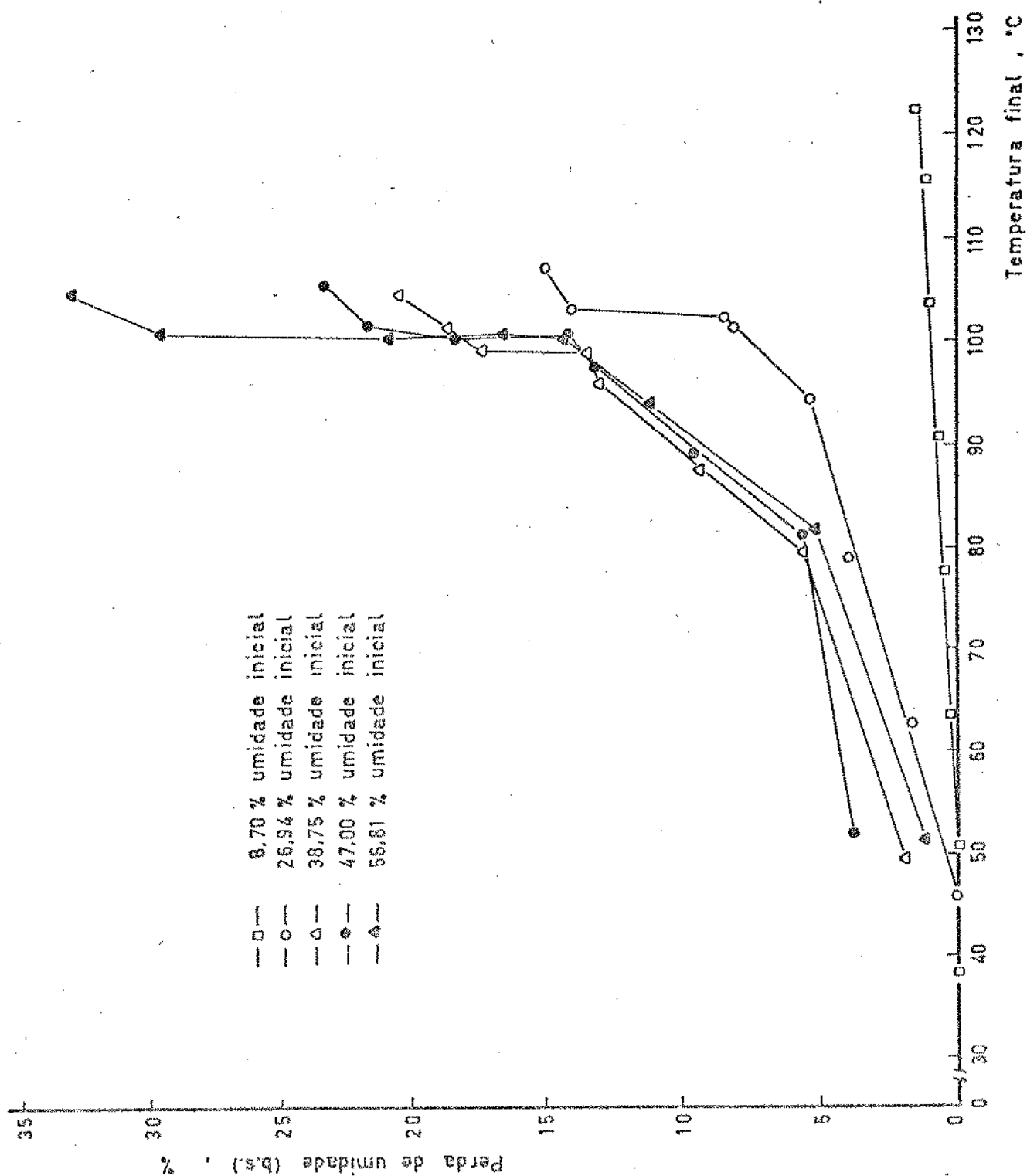


FIGURA 3 - Relação entre a perda de umidade e temperatura final de grãos de soja expostos a microondas de 2450 MHz.

responsáveis pelo sabor desagradável. Neste sentido, há necessidade de se inativar a lipoxidase do grão de soja antes que ocorra a formação de compostos indesejáveis em produtos da soja.

O QUADRO 12 e a FIGURA 4 mostram o efeito da umidade inicial do grão de soja e do tempo de tratamento com microondas na inativação da lipoxidase.

Pelos resultados apresentados no QUADRO 12 e na FIGURA 4, observa-se que a atividade residual da lipoxidase do grão de soja aumentou durante os primeiros 30 segundos de exposição a microondas, principalmente nos grãos com menores umidades iniciais. Após 30 segundos de exposição, ocorreu uma diminuição rápida de atividade da lipoxidase com o tempo de tratamento, até inativação completa.

O aumento da atividade da lipoxidase da soja no período inicial do tratamento por microondas foi também encontrado por POUR-EL *et alii* (110). Os mesmos autores não conseguiram explicar este aumento, porém acreditam que tal comportamento seja uma manifestação de acréscimo de extratibilidade da enzima e não um aumento real da sua atividade.

Pelos dados apresentados no QUADRO 12 e na FIGURA 4, verifica-se que o aumento da umidade inicial do grão de soja resultou num incremento da velocidade de inativação, principalmente no período inicial do tratamento. Para os grãos com umidade igual ou superior a 26,94% foram necessários 210 segundos de exposição a microondas para a inativação completa da lipoxidase, enquanto que, para o grão com 8,70% de umidade inicial, a atividade residual da lipoxidase após 240 segundos de tratamento por microondas foi igual a 2,28%.

A FIGURA 5 mostra a relação entre a atividade residual da lipoxidase e a temperatura atingida pelos grãos de soja.

QUADRO 12 - Efeito da umidade inicial do grão de soja e do tempo de tratamento com microondas de 2450 MHz na atividade residual da lipoxidase.

Umidade inicial		Atividade residual da lipoxidase (%) * após vários tempos (segundos)							
(%)		30	60	90	120	150	180	210	240
8,70		110,53 cA	100,17 bB	79,93 bC	68,40 bD	55,52 aE	35,95 aF	18,52 aG	2,28 aH
26,94		114,19 bA	108,24 aB	99,62 aC	85,97 aD	10,80 cE	4,47 bF	0 bG	0 bG
38,75		127,32 aA	100,24 bB	56,91 cC	32,76 cD	28,46 bE	1,83 cF	0 bG	0 bG
47,00		101,65 dA	65,60 dB	54,56 cC	9,60 dD	6,97 dE	1,33 dF	0 bG	0 bG
56,81		103,25 dA	90,81 cB	51,13 dC	5,76 eD	4,65 eE	1,16 dF	0 bG	0 bG

As médias seguidas de letra diferente, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\* Valores relativos ao grão de soja não tratado com 100% de atividade da lipoxidase.



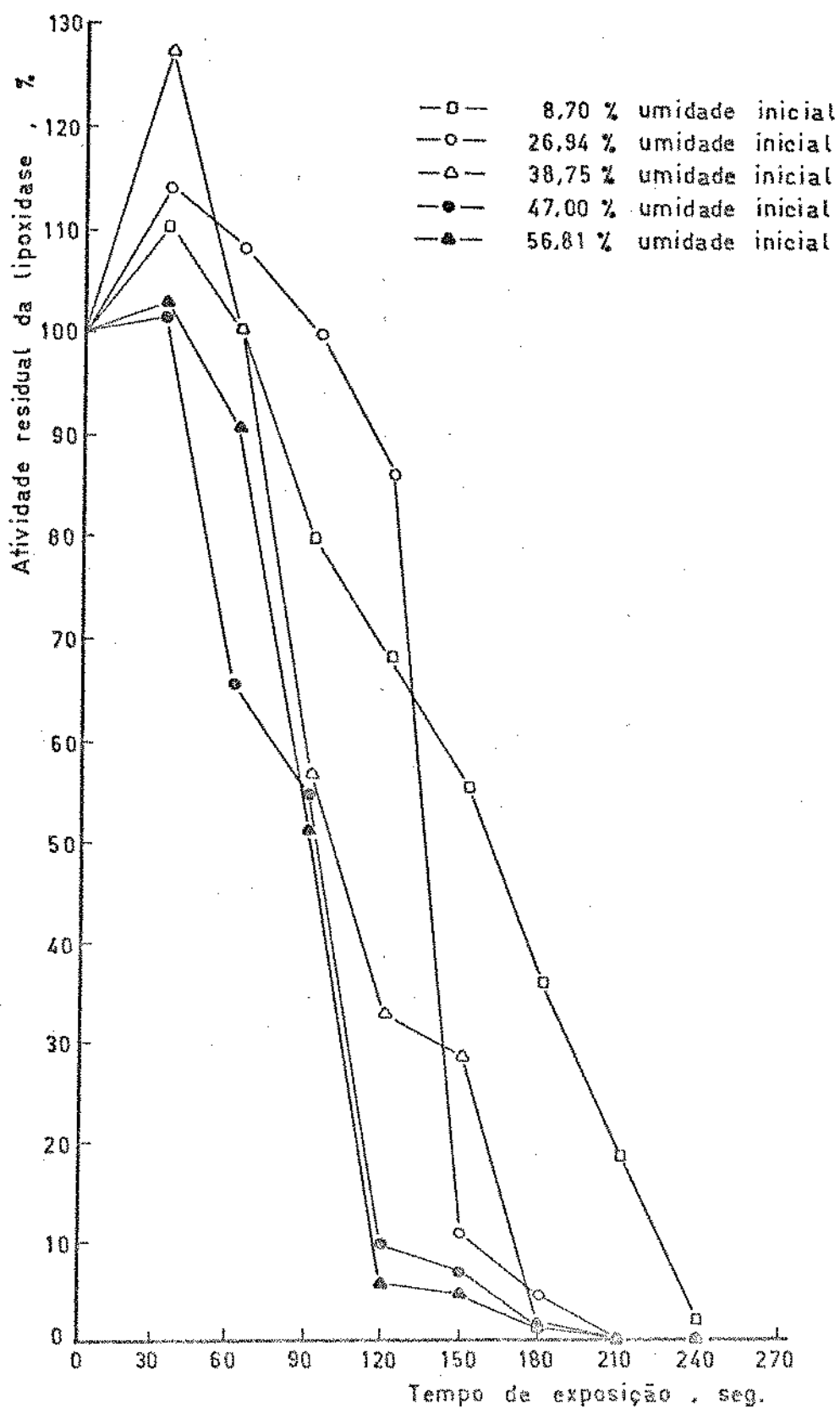


FIGURA 4 - Atividade residual da lipoxidase do grão de soja em função do tempo de exposição a microondas de 2450 MHz.

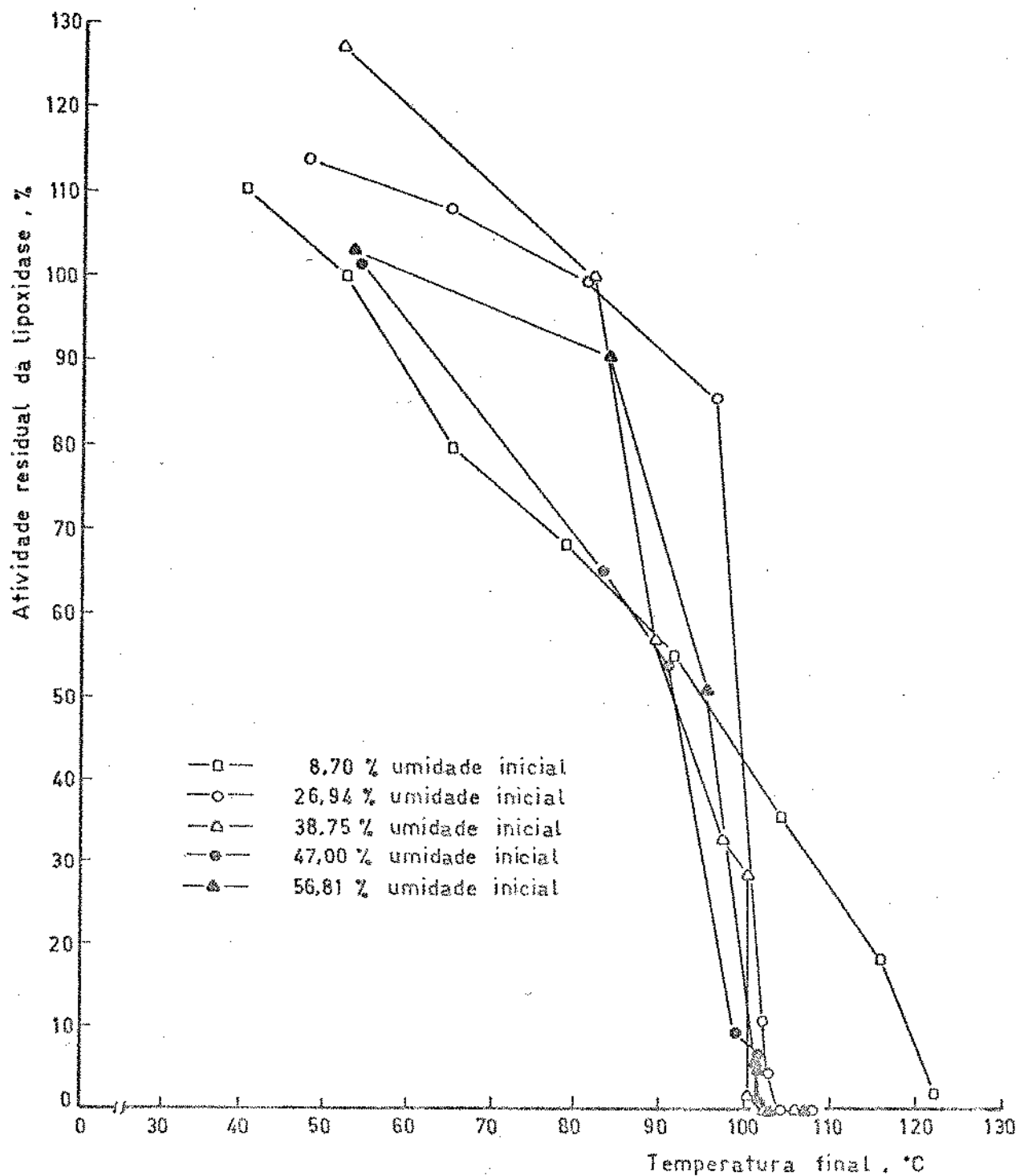


FIGURA 5 - Atividade residual da lipoxidase em função da temperatura final atingida por grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

Através da FIGURA 5, pode ser observado que o aumento contínuo da temperatura do grão de soja no aquecimento por microondas resultou numa inativação crescente da lipoxidase, sendo que, com exceção dos grãos com 8,70% de umidade inicial, uma inativação completa da lipoxidase foi observado nas temperaturas de 103,97; 102,66; 103,08 e 103,02°C para os grãos com 26,94; 38,75; 47,00 e 56,81% de umidade inicial, respectivamente. Para o grão de soja com 8,70% de umidade inicial, uma atividade residual da lipoxidase de 2,28% foi obtida à temperatura de 122,32°C. Dessa forma, fica evidente que no aquecimento por microondas a inativação da lipoxidase na soja depende não somente da temperatura, mas também do teor de umidade inicial do grão. O aumento da umidade inicial do grão acelerou a velocidade da inativação da lipoxidase, o que, segundo MUDGETT (98) pode ser explicado pelo aumento da velocidade da absorção de energia de microondas em umidades maiores, melhorando a distribuição da mesma dentro do alimento.

De forma semelhante ao presente trabalho, a temperatura e o tempo de aquecimento, bem como o teor de umidade do grão de soja, foram 3 parâmetros importantes considerados por vários autores (100, 119, 154) em estudos de inativação da lipoxidase por aquecimentos convencionais. Entretanto, nenhuma informação foi dada a respeito de solubilidade da proteína do grão de soja após a inativação total da lipoxidase.

Os efeitos da umidade inicial e do tempo de exposição a microondas no índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja, são mostrados no QUADRO 13 e na FIGURA 6.

Os resultados encontrados mostram que durante o tratamento com microondas a produção contínua de calor provocou a desnaturação de proteínas, com uma conseqüente diminuição no índice de

QUADRO 13 - Efeito da unidade inicial e do tempo de exposição a microondas de 2450 MHz no índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja.

Unidade inicial	Índice de solubilidade de nitrogênio (%) * após vários tempos (segundos)							
	(%)	30	60	90	120	150	180	210 240
8,70		95,54 aA	91,40 aB	90,20 aC	88,54 aD	86,56 aE	82,62 aF	80,21 aG 56,10 aH
26,94		94,23 bA	88,26 bB	80,59 bC	75,41 bD	62,53 bE	56,24 bF	49,42 bG 41,98 bH
38,75		91,27 cA	88,12 bB	74,43 cC	71,27 cD	62,08 bE	46,75 cF	44,93 cG 39,48 cH
47,00		91,06 cA	86,51 cB	74,49 cC	60,05 dD	57,41 cE	43,79 dF	41,81 dG 29,05 dH
56,81		84,44 dA	80,37 dB	74,13 cC	59,16 eD	56,26 dE	43,64 dF	39,22 eG 24,89 eH

As médias seguidas de letra diferente, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\* O grão de soja não tratado apresentou 97,27% de índice de solubilidade de nitrogênio.

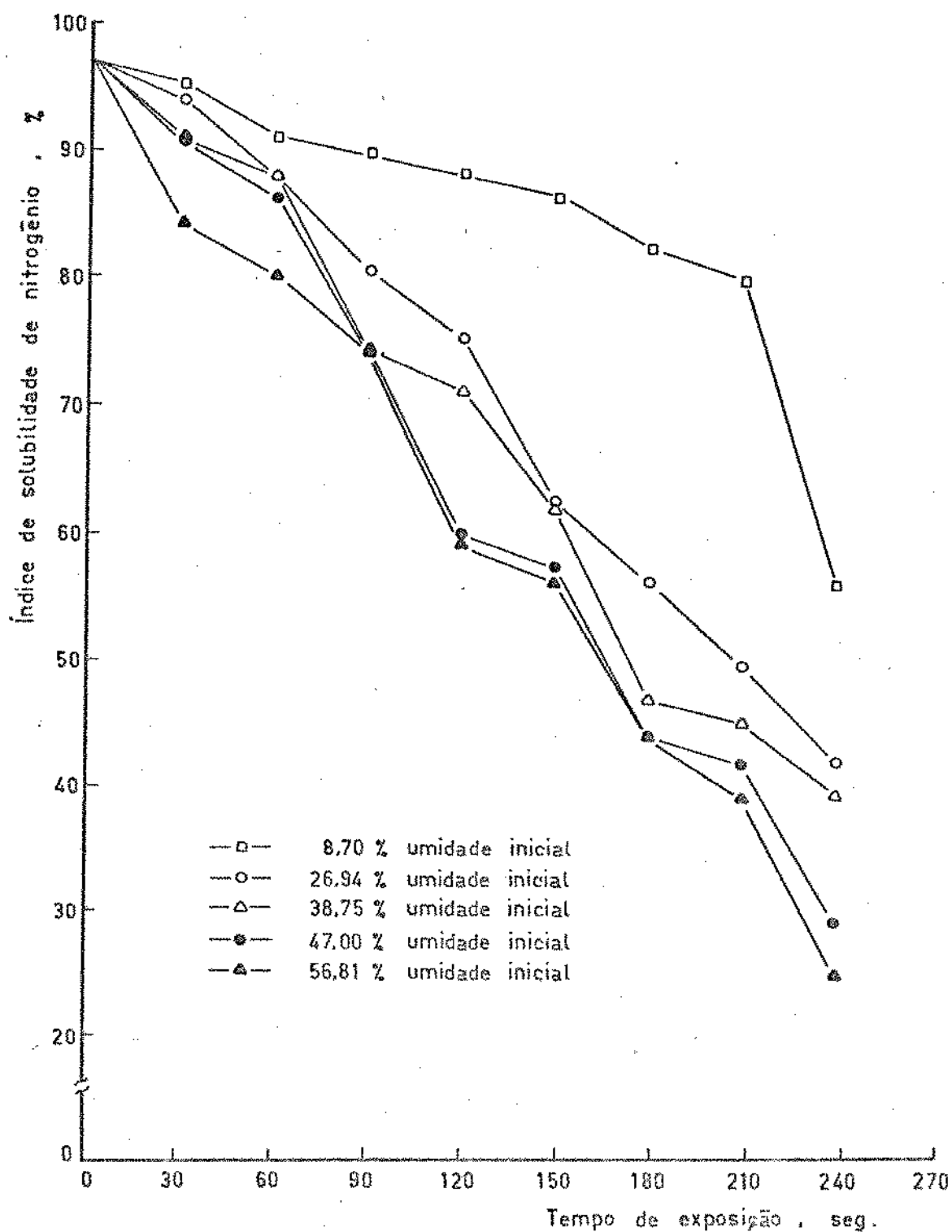


FIGURA 6 - Índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja em função do tempo de exposição a microondas de 2450 MHz.

solubilidade de nitrogênio do grão de soja.

Os dados apresentados no QUADRO 13 e na FIGURA 6 indicam também que o decréscimo do índice de solubilidade de nitrogênio foi maior para os grãos com maior teor de umidade inicial. Este fato pode ser explicado pela maior absorção de energia pelo produto úmido durante exposição a microondas, e, conseqüentemente, um aquecimento mais intenso.

A FIGURA 7 ilustra o índice de solubilidade de nitrogênio em função da temperatura final atingida pelos grãos de soja com diferentes umidades iniciais.

Através da FIGURA 7 verifica-se que com exceção dos grãos de soja com 8,70% de umidade inicial, o maior decréscimo no índice de solubilidade de nitrogênio ocorreu durante o período em que a temperatura do grão permaneceu constante, ao redor de 100°C. Para os grãos com 8,70% de umidade, o decréscimo maior foi observado em temperaturas maiores, acima de 115,60°C.

A relação entre o índice de solubilidade de nitrogênio e a atividade residual da lipoxidase do grão de soja tratado com microondas está mostrada na FIGURA 8.

Através da FIGURA 8, verifica-se que o índice de solubilidade de nitrogênio do grão de soja diminuiu simultaneamente com o decréscimo da atividade da lipoxidase, sendo que, após a inativação completa da lipoxidase, os índices de solubilidade de nitrogênio foram de 49,42; 44,93; 41,81 e 39,22% para os grãos com 26,94; 38,75; 47,00 e 56,81% de umidade inicial, respectivamente. O grão de soja com 8,70% de umidade inicial apresentou 56,10% de índice de solubilidade de nitrogênio para uma atividade residual da lipoxidase de 2,28%.

Em tratamentos convencionais, usando calor úmido; vapor

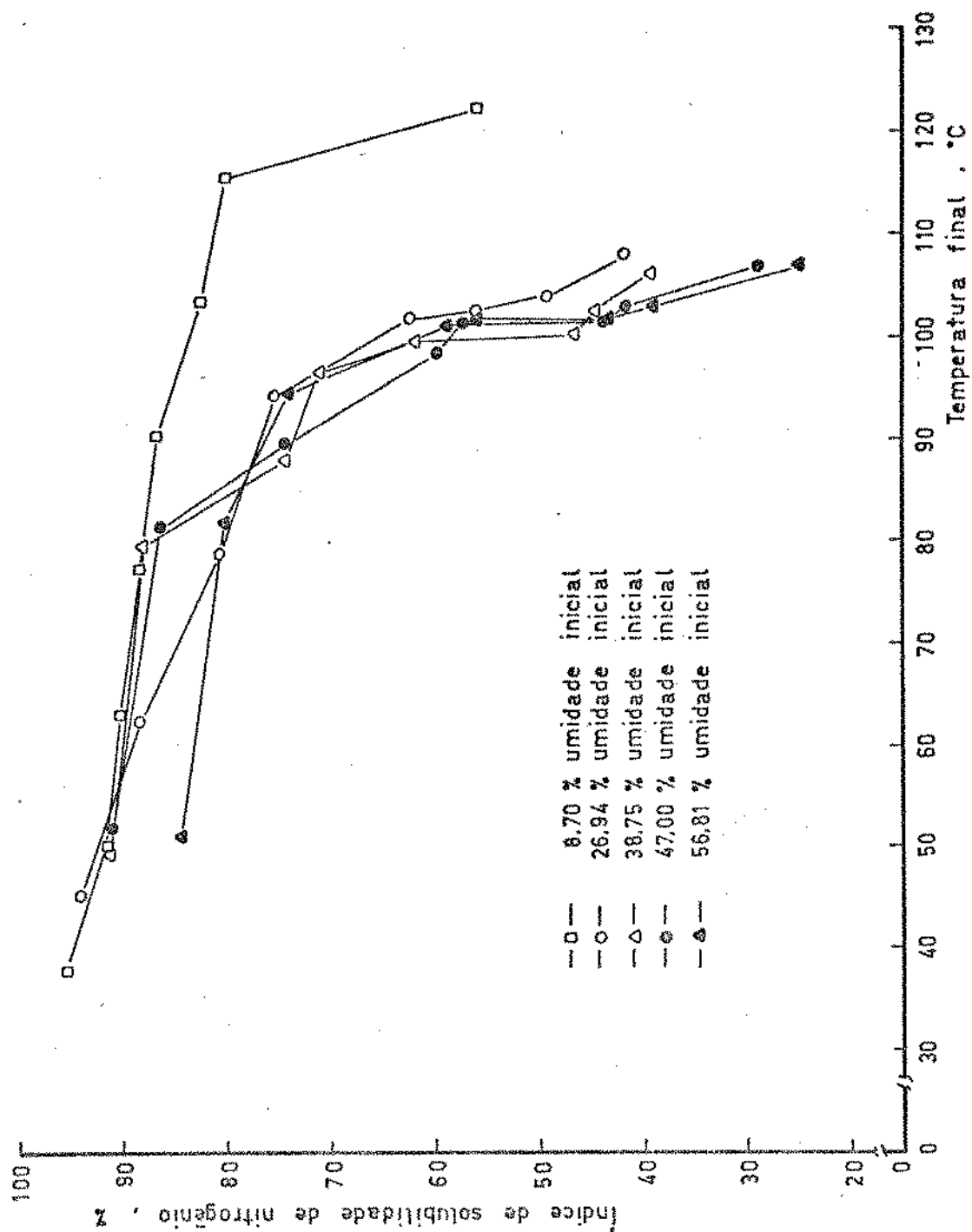


FIGURA 7 - Índice de solubilidade de nitrogênio em função da temperatura final atingida por grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

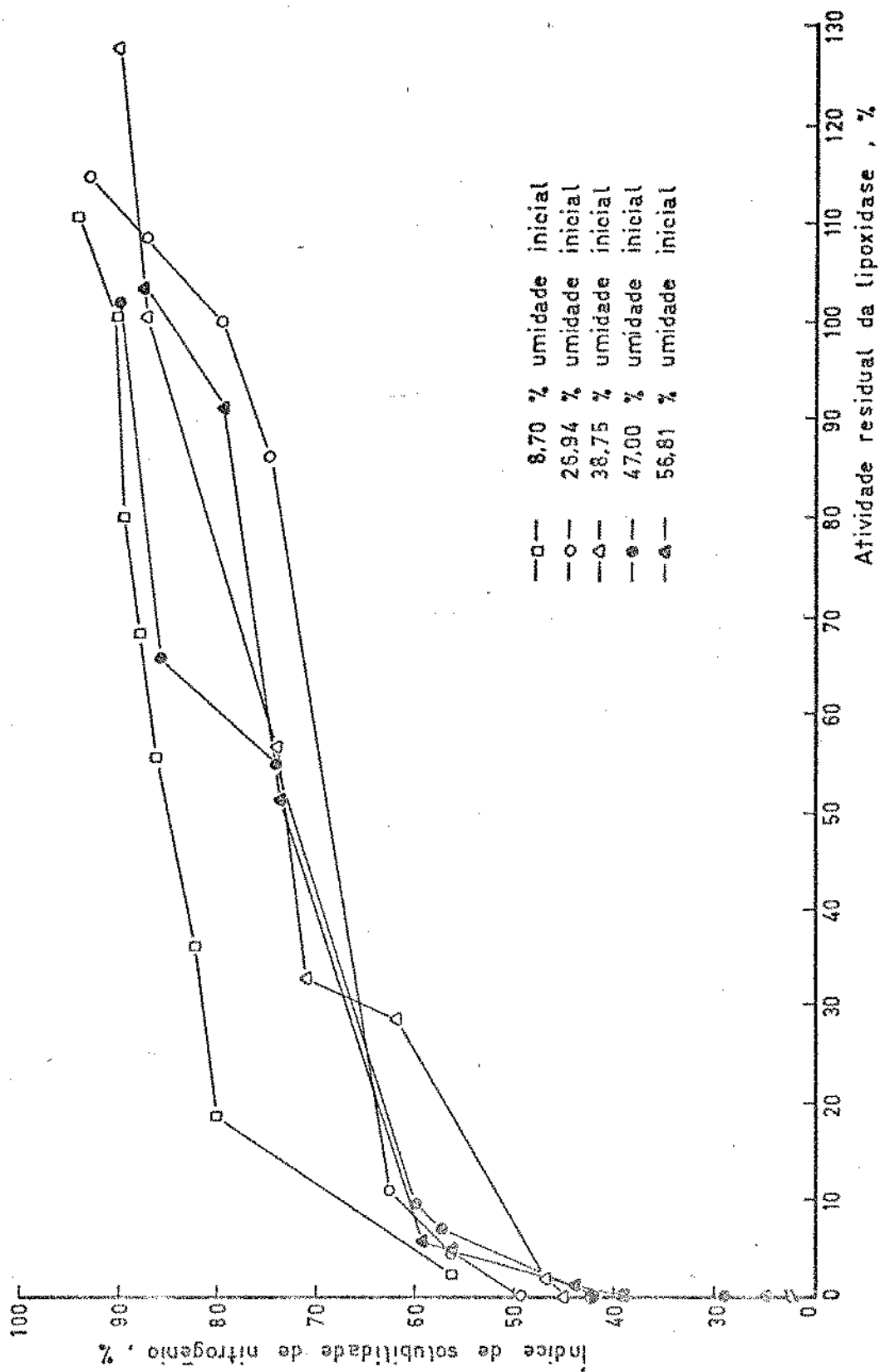


FIGURA 8 - Índice de solubilidade de nitrogênio em relação à atividade residual da lipoxídase de grãos de soja expostos a microondas de 2450 MHz por diferentes tempos.



direto; e calor seco + calor úmido, MUSTAKAS *et alii* (100) obtiveram 96; 99,2 e 96% de inativação da lipoxidase, correspondendo a 31; 28 e 14% de índice de solubilidade de nitrogênio, respectivamente.

Em face aos resultados apresentados, confirma-se que, no aquecimento por microondas, o tempo para a inativação enzimática é mais curto e a retenção de solubilidade da proteína é maior, quando comparado com métodos convencionais (10, 87, 100).

#### 4.4. Leite de soja proveniente de grãos de soja submetidos a microondas

##### 4.4.1. Obtenção e composição química

Considerando o sabor do leite de soja como fator importante para a sua aceitabilidade (7, 21, 61, 73, 75, 77, 101, 113, 154), e a solubilidade da proteína do grão como propriedade fundamental para a elaboração do leite de soja (20, 101, 134, 152), a seleção das condições ótimas de exposição dos grãos a microondas para posterior obtenção do leite foi feita levando-se em conta a atividade residual da lipoxidase e o índice de solubilidade de nitrogênio após tratamento.

Os tratamentos escolhidos foram aqueles que proporcionaram uma inativação da lipoxidase dos grãos de soja superior a 95% (QUADRO 12) e índices de solubilidade de nitrogênio superiores a 40% (QUADRO 13).

O QUADRO 14 ilustra as condições escolhidas, como também identifica os leites resultantes após processamento dos grãos conforme a FIGURA 1.

QUADRO 14 - Umidade do grão de soja utilizado para obtenção de leite, antes e após tratamento com microondas.

Umidade inicial do grão (b.s.) (%)	Tempo de exposição à radiação de microon- das (segundos)	Umidade residual do grão (b.s.)* (%)	Leite de soja
8,70**	0	9,52 e	I
8,70	240	7,76 f	II
26,94	180	17,01 d	III
38,75	180	22,11 c	IV
47,00	180	30,72 b	V
56,81	180	31,43 a	VI

\* As médias seguidas de letra diferente diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*\* Controle, não submetido a microondas.

Imediatamente após exposição a microondas, os grãos de soja foram congelados em nitrogênio líquido e mantidos no congelador até o momento da elaboração do leite. Tratamento semelhante foi dado aos grãos não submetidos a microondas, o que, acredita-se, tenha contribuído para o aumento da sua umidade residual de 8,70 para 9,52% (QUADRO 14).

O rendimento e a composição química dos vários leites obtidos estão apresentados nos QUADROS 15 e 16, respectivamente.

Analisando-se a absorção de água pelos grãos utilizados no preparo dos vários leites obtidos (QUADRO 15), verifica-se que os grãos de soja previamente tratados com microondas apresentaram

QUADRO 15 - Rendimento do leite\* extraído de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

Leite de soja	Peso seco do grão (g)	Absorção de água do grão** (g água/g soja)	Peso do leite obtido** (g)	Volume do leite obtido** (ml)	Peso do resíduo** (g)
I***	91,31	1,45 a	794,41 a	755,5 a	132,59 d
II	92,80	1,28 b	691,01 d	655,0 d	222,25 a
III	85,46	1,12 c	717,50 c	713,0 c	185,07 c
IV	81,89	1,03 d	723,53 b	721,5 b	202,43 b
V	76,50	0,92 e	723,36 b	724,5 b	203,95 b
VI	76,09	0,89 f	721,32 bc	724,0 b	204,48 b

\* Proporção soja:água de 1:9.

\*\* As médias seguidas de letra diferente diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*\*\* Controle, grãos não submetidos a microondas.

QUADRO 16 - Composição química do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

Leite de soja	Proteína (%)	Matéria graxa (%)	Cinza (%)	Carboidrato* (%)	Água** (%)	Sólidos totais (%)
I***	3,78 a	2,18 a	0,41 a	1,14 a	92,49 f	7,51 a
II	3,24 c	1,60 c	0,24 c	0,54 c	94,38 d	5,62 c
III	3,27 b	1,68 b	0,27 b	0,65 b	94,13 e	5,87 b
IV	2,63 d	1,35 d	0,22 d	0,56 c	95,24 c	4,76 d
V	2,35 e	1,20 e	0,22 d	0,45 d	95,78 b	4,22 e
VI	2,34 f	1,20 e	0,18 e	0,28 e	96,02 a	4,00 f

As médias seguidas de letra diferente diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\* Calculado por diferença (sólidos totais - proteína - matéria graxa - cinzal).

\*\* Calculado por diferença (100 - sólidos totais).

\*\*\* Controle, grãos não submetidos a microondas.

valores de absorção de água inferiores àquele obtido nos grãos não submetidos a microondas. Tal resultado sugere que a exposição dos grãos a microondas, antes da maceração, resulta em diferentes propriedades de absorção de água. Também diferentes teores de umidade inicial dos grãos de soja podem resultar em diferentes absorções de água.

Outros fatores que afetam a velocidade de absorção de água pelo grão de soja, segundo WANG *et alii* (151) são: variedade, tamanho e tempo de armazenamento da soja. Porém, no presente trabalho estes fatores foram idênticos em grãos submetidos ou não a microondas.

Em termos de rendimento do leite extraído, os grãos de soja não tratados apresentaram um valor maior do que os submetidos a microondas, e, dentre os grãos de soja tratados, com exceção dos grãos com 8,70 e 26,94% de umidade inicial submetidos a microondas durante 240 e 180 segundos, respectivamente, os demais grãos de soja forneceram praticamente o mesmo rendimento de extração do leite. Em contrapartida, o peso do resíduo, obtido durante a preparação do leite de soja, foi praticamente o inverso da quantidade de leite produzido (QUADRO 15).

Os resultados obtidos sugerem portanto que não existe uma correlação positiva entre a absorção de água pelo grão de soja e o peso (ou volume) do leite resultante.

Analisando-se o QUADRO 16, verifica-se que os leites de soja (proporção soja: água de 1:9) provenientes de grãos submetidos a microondas mostraram teores menores de sólidos totais (4,00 a 5,87%), proteína (2,34 a 3,27%) e matéria graxa (1,20 a 1,68%), quando comparados aos grãos não tratados. Mesmo assim, estes valores se encontram dentro da faixa obtida por MAN, STANLEY & RASPER (93) para

leites provenientes de 55 variedades de soja, e por BOURNE, CLEMENTE & Banzon (20), para leites provenientes de 30 variedades de soja, embora os mesmos autores tenham utilizado uma proporção soja: água de 1:10. Este fato sugere que a proporção soja: água de 1:9 seja adequada para a produção do leite de soja proveniente de grãos submetidos a microondas, uma vez que a composição química do mesmo corresponde à encontrada pelos autores referidos (20, 93).

Entre os leites de soja elaborados a partir de grãos expostos a microondas, o leite III, correspondente a grãos de soja com 26,94% de umidade inicial (180 segundos de exposição), apresentou os maiores teores de sólidos totais, proteína e matéria graxa, enquanto que o leite VI, correspondente a grãos de soja com 56,81% de umidade inicial (180 segundos de exposição), apresentou os menores teores de sólidos totais, proteína e matéria graxa.

De acordo com LO *et alii* (86) e WANG *et alii* (151), durante a maceração ocorre perda de sólidos do grão de soja e, segundo WILKENS & HACKLER (152), os sólidos encontrados na água de maceração são constituídos, em média, por cerca de 60% de carboidrato, 6% de lipídio e o restante por proteína bruta.

Considerando-se que no presente trabalho os grãos de soja foram macerados durante diferentes intervalos de tempo antes do aquecimento por microondas, pode-se supor que maiores perdas de sólidos ocorreram em grãos de soja com maiores teores de umidade inicial, particularmente, com relação a carboidrato. Tal suposição é, em parte, confirmada pelos teores de sólidos totais e carboidrato encontrados para os diferentes leites (QUADRO 16). Ainda, deve ser considerado que os grãos de soja, com ou sem maceração prévia, foram posteriormente aquecidos por microondas, e, é de conhecimento que o tratamento por microondas resulta no decréscimo da solubilidade

da proteína de soja, com uma conseqüente diminuição no teor de proteínas e de sólidos totais extraídos.

Através do QUADRO 16, observa-se ainda que, em relação ao teor de cinza, os leites de soja obtidos de grãos tratados com microondas apresentaram valores inferiores ao do grão não tratado, sendo que o leite VI, proveniente de grãos com 56,81% de umidade inicial submetidos a microondas por 180 segundos, apresentou o menor teor de cinza.

O QUADRO 17 mostra o rendimento da extração de proteína e de matéria graxa na elaboração dos diferentes leites.

QUADRO 17 - Rendimento da extração de proteína e matéria graxa de grãos de soja para elaboração de leite.

Leite de soja	Rendimento de extração	
	Proteína (%)	Matéria graxa (%)
I*	80,51 a	79,71 a
II	59,13 d	49,85 d
III	69,85 b	61,21 b
IV	59,65 c	52,44 c
V	57,22 e	50,08 d
VI	57,00 e	50,23 d

As médias seguidas de letra diferente diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\* Controle, grãos não submetidos a microondas.

Verifica-se, pelo QUADRO 17, que 80,51% de proteína e 79,71% de matéria graxa dos grãos de soja não tratados foram recuperados no leite resultante. Estes valores foram superiores aos encontrados por TURATTI *et alii* (145), que obtiveram 51,46% de proteína e 67,30% de matéria graxa no leite obtido de soja da mesma variedade Santa Rosa, utilizando uma proporção soja:água de 1:10 e temperatura de 100°C, enquanto que, no presente trabalho foram usadas proporção soja:água de 1:9 e temperatura ambiente.

Além dos fatores mencionados acima, vários outros foram considerados por MAN *et alii* (93) e BOURNE *et alii* (20) como responsáveis por variações de teores de proteína e matéria graxa recuperados no leite de soja, dentre estes: variedade, a fineza da massa moída, secagem do resíduo e outras variáveis do processamento.

Observando os dados do QUADRO 17 e, com base no fato de ter sido seguido um procedimento padrão para a elaboração do leite de soja, pode-se considerar que o tratamento do grão de soja por microondas reduziu os rendimentos de extração de proteína e de matéria graxa. Com relação aos diferentes tratamentos do grão por microondas, os mais baixos rendimentos na extração de proteína foram apresentados pelos grãos com 47,00 e 56,81% de umidade inicial, submetidos a microondas por 180 segundos. Quanto ao conteúdo de matéria graxa recuperado no leite, tanto os grãos com 47,00 e 56,81% de umidade inicial, submetidos a microondas por 180 segundos, como os grãos com 8,70% de umidade inicial, expostos a microondas por 240 segundos, apresentaram os valores mínimos de recuperação, e estes não diferem estatisticamente entre si.



#### 4.4.2. Aspectos nutricionais

O QUADRO 18 mostra a composição em aminoácidos dos leites de soja obtidos neste estudo.

Analisando-se a composição dos aminoácidos presentes em todos os leites de soja estudados, verifica-se que os aminoácidos não essenciais, como ácido aspártico e ácido glutâmico, corresponderam a um maior percentual nas proteínas dos leites de soja obtidos.

Comparando-se com o padrão da FAO/WHO (QUADRO 5), todos os leites obtidos apresentaram deficiência em aminoácidos sulfurados (metionina + cistina) e em valina, sendo que baixos teores de treonina foram observados principalmente nos leites de soja provenientes de grãos submetidos a microondas. Estes resultados concordam, em parte, com aqueles relatados por SIKKA *et alii* (132), os quais constataram que os aminoácidos limitantes primários em 4 variedades de soja estudadas foram os sulfurados metionina e cistina, e os limitantes secundários a valina e treonina.

A deficiência em metionina e cistina na soja foi também citada por KAKADE *et alii* (70) e LAM-SÁNCHEZ (82). No caso de leite de soja, segundo DUTRA DE OLIVEIRA (37), o principal aminoácido deficiente é a metionina.

Embora TURATTI *et alii* (145) tenham demonstrado que, entre 10 cultivares de soja estudados, Santa Rosa é a mais limitante em treonina, no presente trabalho, o leite extraído do grão de soja não submetido a microondas apresentou um teor de treonina relativamente alto (3,64g/16g N) e, mesmo para leites de soja provenientes de grãos tratados por microondas, os teores de treonina corresponderam a pelo menos 70% do valor de referência da FAO/WHO.

Verifica-se também, através do QUADRO 18, que diferentes

QUADRO 18 - Composição em aminoácidos (g/16g N) do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

Leite de soja						
Aminoácido	I*	II	III	IV	V	VI
Ac. Aspártico	11,29	9,24	8,26	7,64	7,00	7,52
Treonina	3,64	3,41	2,80	2,85	2,99	2,92
Serina	5,69	4,40	3,73	4,80	4,12	3,98
Ac. Glutâmico	20,03	17,59	16,68	16,46	13,58	14,21
Prolina	4,14	4,51	4,03	3,58	3,39	3,46
Glicina	4,16	3,43	3,56	2,93	3,40	3,29
Alanina	3,71	3,45	2,56	3,10	3,01	3,04
1/2 Cistina	1,06	1,68	1,18	1,35	1,43	1,39
Valina	3,45	3,84	3,11	3,25	3,50	3,41
Metionina	0,64	0,98	0,75	0,86	0,92	0,89
Isoleucina	4,16	3,62	3,59	4,33	3,74	3,69
Leucina	7,59	7,23	6,42	6,86	6,81	6,54
Tirosina	2,53	3,15	2,56	2,20	2,65	2,88
Fenilalanina	3,92	3,57	3,16	2,88	3,24	3,40
Histidina	2,49	1,80	1,73	2,06	1,65	1,83
Lisina	5,31	5,45	4,96	4,87	4,11	4,06
Amônia	2,10	1,39	1,37	1,22	1,18	1,17
Arginina	5,45	5,47	5,52	5,84	4,28	4,02

\* Controle, grãos não submetidos a microondas.

tratamentos dos grãos de soja com microondas provocaram modificações na composição de aminoácidos dos leites resultantes, o que era esperado, em vista à desnaturação protéica ocorrida.

De acordo com WOLF (156), diferentes frações de proteínas de soja apresentam composição diferente em aminoácidos, conforme exemplos a seguir: o inibidor de tripsina de Bowman-Birk é usualmente rico em cistina mas desprovido de glicina e triptofano; a globulina 11S apresenta 5 a 6 vezes mais triptofano, metionina e 1/2 cistina do que a 7S. Visto que diferentes tratamentos de grãos de soja com microondas resultaram numa perda de solubilidade de proteínas em diferentes intensidades (QUADRO 13 e FIGURA 6), é provável que as frações de proteínas não desnaturadas não sejam as mesmas após os vários tratamentos, justificando as variações encontradas nos teores de aminoácidos dos leites de soja resultantes.

Os escores de aminoácidos essenciais dos leites de soja estudados encontram-se no QUADRO 19.

Através do QUADRO 19, verifica-se que os leites de soja provenientes de grãos tratados por microondas apresentaram escores de aminoácidos sulfurados (metionina + cistina) maiores do que o leite preparado a partir de grãos de soja não tratados, sendo que o escore máximo (76%) foi verificado no leite de soja II, obtido a partir dos grãos com 8,70% de umidade inicial, submetidos a microondas durante 240 segundos.

Comparando-se com o leite obtido de grãos de soja não tratados, observa-se que houve uma redução de escore de valina nos leites de soja III e IV, provenientes dos grãos com 26,94 e 38,75% de umidade inicial, respectivamente, submetidos a microondas durante 180 segundos. A exposição a microondas durante 180 segundos para os grãos com 47,00 e 56,81% de umidade inicial não causou, entretanto,

QUADRO 19 - Escore de aminoácidos essenciais (%L do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

Aminoácido	Leite de soja					
	I*	II	III	IV	V	VI
Isoleucina	104	91	90	108	94	92
Leucina	108	103	92	98	97	93
Lisina	97	99	90	89	75	74
Metionina + Cistina	49	76	55	63	67	65
Fenilalanina + Tirosina	108	112	95	85	98	105
Treonina	93	85	70	71	75	73
Triptofano	-	-	-	-	-	-
Valina	69	77	62	65	70	68

\*Controle, grãos não submetidos a microondas.

diferenças apreciáveis em escores de valina nos leites V e VI resultantes. Observa-se ainda que o escore de valina se sobressaiu nas proteínas do leite de soja II, preparado com grãos de 8,70% de umidade inicial, expostos a microondas por 240 segundos.

Com exceção do leite II obtido de grãos de soja com 8,70% de umidade inicial, expostos a microondas durante 240 segundos, o tratamento do grão de soja com microondas causou uma redução do escore de lisina nos leites resultantes, sendo que o valor mínimo foi verificado no leite de soja VI, obtido a partir dos grãos com 56,81% de umidade inicial, submetidos a microondas durante 180 segundos. Esses resultados sugerem que a perda de lisina total, durante o aquecimento por microondas, é menor em grãos de soja com baixa umidade, mas ocorre com facilidade em grãos com alta umidade.

De maneira geral, pode-se considerar que o tratamento do grão de soja com microondas cause uma redução de escores de leucina, fenilalanina + tirosina, isoleucina e lisina da proteína extraída no leite. Entretanto, acredita-se que esta redução não cause a deficiência desses aminoácidos, visto que os mesmos estão presentes em abundância nas proteínas da soja.

No QUADRO 20, estão apresentados os valores encontrados na determinação de atividade do inibidor de tripsina nos vários leites de soja. Os resultados são expressos em termos de unidades de tripsina inibidas (UTI) por ml do leite obtido (proporção soja: água de 1:9), e também como UTI por mg de proteína extraída.

Pelos dados do QUADRO 20, observa-se que o leite extraído do grão de soja não tratado apresentou o nível mais elevado do inibidor de tripsina, correspondente a 155,39 UTI/mg proteína. Após o tratamento dos grãos de soja com microondas, foi verificada uma diminuição do nível do inibidor de tripsina no leite resultante,

QUADRO 20 - Atividade do inibidor de tripsina do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

Leite de soja	UTI <sup>*</sup> /ml Leite	UTI <sup>*</sup> /mg Proteína	% Atividade residual
I <sup>**</sup>	5873,75 a	155,39 a	100 a
II	4013,75 c	123,88 c	68,33 c
III	4188,50 b	128,09 b	71,31 b
IV	2684,50 d	102,07 d	45,70 d
V	2372,00 e	100,94 d	40,38 e
VI	5,25 f	0,22 e	0,09 f

As médias seguidas de letra diferente diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\* Unidades de tripsina inibidas.

\*\* Controle, grãos não submetidos a microondas.

sendo que o leite VI, proveniente dos grãos de soja com 56,81% de umidade inicial, submetidos a microondas durante 180 segundos, mostrou um nível do inibidor de tripsina significativamente inferior (0,22 UTI/mg proteína) aos demais leites.

PRADO, ANTUNES & SGARBIERI (111) afirmaram que a atividade do inibidor de tripsina é maior no extrato aquoso da soja e, conforme as pesquisas feitas por diversos autores (2, 4, 17, 28, 116, 124, 137), esta atividade é diminuída tanto pelo aquecimento convencional, como pelos aquecimentos dielétrico e por microondas.

Considerando-se como 100% a atividade do inibidor de tripsina no leite de soja obtido do grão não tratado, verifica-se ainda que, para um mesmo tempo de exposição dos grãos a microondas (leites III, IV, V e VI), a atividade residual do inibidor de tripsina no leite resultante diminuiu em função do aumento de teor de umidade inicial do grão (coeficiente de correlação = -0,9633, significativo ao nível de 5% de probabilidade).

Embora a temperatura final do grão de soja com 8,70% de umidade inicial, após 240 segundos de exposição a microondas tenha atingido 122,32°C, a atividade do inibidor de tripsina do leite II obtido a partir deste grão permaneceu em 68,33%. Por outro lado, a temperatura atingida pelo grão de soja com 56,81% de umidade inicial, após 180 segundos de tratamento com microondas, foi de 101,87°C, mas o leite VI produzido a partir deste grão apresentou apenas 0,09% de atividade residual do inibidor de tripsina. Com base nos dados apresentados, pode-se considerar que no aquecimento por microondas, a inativação do inibidor de tripsina de soja é acelerada pelo aumento da umidade inicial do grão.

Também ALBRECHT, MUSTAKAS & MCGHEE (2) concluíram que tanto pelo método de vapor atmosférico como pela imersão em água

fervente, a inativação do inibidor de tripsina de soja é crescente com o aumento do teor de umidade inicial do grão. NELSON, STEINBERG & WEI (101), por sua vez, indicaram que a destruição do inibidor de tripsina da soja que ocorre no branqueamento, é mais fácil em grãos macerados do que em grãos secos.

O QUADRO 21 mostra a digestibilidade da proteína *in vitro* apresentada pelos vários leites de soja.

QUADRO 21 - Digestibilidade da proteína *in vitro*\* do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

Leite de soja	Digestibilidade da proteína <i>in vitro</i> (%)
I**	68,12 d
II	77,46 c
III	81,13 ab
IV	82,00 a
V	80,23 b
VI	77,76 c

As médias seguidas de letra diferente diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*A caseína com 87,41% de pureza apresentou 90,47% de digestibilidade *in vitro*.

\*\*Controle, grãos não submetidos a microondas.



Através do QUADRO 21, nota-se que o leite extraído do grão de soja não tratado apresentou 68,12% de digestibilidade da proteína *in vitro*, o que concorda com o valor de 68% determinado por AKESON & STAHMANN (1) para grãos de soja. Após o tratamento com microondas, um aumento da digestibilidade da proteína *in vitro* foi verificado em todos os leites resultantes.

De acordo com SIMON & MELNICK (133), a farinha de soja crua apresenta digestibilidade *in vitro* relativamente alta, o que é devido à presença de enzimas proteolíticas naturalmente existentes na soja, as quais exercem efeito sinérgico junto à pancreatina adicionada durante a determinação da digestibilidade da proteína *in vitro*.

GUPTA, WAHIE & DEODHAR (49) e SIKKA *et alii* (132) acreditam que a melhoria encontrada na digestão enzimática da proteína da soja autoclavada *in vitro*, quando comparada com a crua, seja devido à destruição do inibidor de tripsina durante a autoclavagem. Embora suposição semelhante possa ser feita no presente trabalho, não foi observada uma relação direta entre um aumento na digestibilidade da proteína *in vitro* e uma redução na atividade do inibidor de tripsina do grão de soja após o aquecimento por microondas (coeficiente de correlação = -0,5318, não significativo).

Analisando-se os QUADROS 20 e 21, verifica-se que o leite de soja IV preparado a partir de grãos com 38,75% de umidade inicial, submetidos a microondas durante 180 segundos, apresentou um valor de digestibilidade da proteína *in vitro* (82,00%) superior aos demais leites, embora permanecesse nele 45,70% de atividade residual do inibidor de tripsina; já o leite VI que teve uma inativação quase que total do inibidor de tripsina (0,09% de atividade), mostrou um valor inferior (77,76%) de digestibilidade da proteína.

Vários autores (91, 118, 133) constataram que o tratamento térmico pode melhorar a digestibilidade da proteína de soja *in vitro*, uma vez que o aquecimento pode provocar a abertura da estrutura da proteína através da desnaturação, e/ou pode destruir todos ou parte dos inibidores de tripsina.

Por outro lado, foi afirmado por RHEE & RHEE (118) que o tratamento térmico excessivo pode causar um decréscimo na digestibilidade da proteína *in vitro*, através de ligações cruzadas. Esta observação explica, possivelmente, a diminuição de digestibilidade encontrada nos leites V e VI, provenientes dos grãos com 47,00 e 56,81% de umidade inicial, respectivamente, submetidos a microondas por 180 segundos, quando comparados com os leites III e IV, obtidos dos grãos com 26,94 e 38,75% de umidade inicial, respectivamente, após o mesmo tempo de tratamento com microondas, tendo em conta que o aumento do teor de umidade inicial aumenta a intensidade do aquecimento por microondas, conforme já discutido anteriormente (QUADRO 13 e FIGURA 6).

Todos os leites de soja em estudo mostraram valores de digestibilidade protéica *in vitro* menores do que o da caseína (90,47%). Resultado semelhante foi encontrado por WALLACE, BANNATYNE & KHALEQUE (149), os quais compararam leite de soja processado a 98°C com a caseína. Os mesmos autores afirmaram ainda que a caseína é menos susceptível ao ataque pela pepsina e ligeiramente mais susceptível ao ataque pela tripsina do que as proteínas do leite de soja.

Segundo MAGA, LORENZ & ONAYEMI (91), a menor susceptibilidade das proteínas do leite de soja à digestão enzimática *in vitro* se deve ao fato das proteínas da soja apresentarem estruturas mais organizada do que a da caseína, o que as torna mais resistentes ao ataque enzimático.

A disponibilidade aparente de metionina determinada nos vários leites de soja estudados é apresentada no QUADRO 22.

QUADRO 22 - Disponibilidade aparente de metionina\* do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

Leite de soja	Metionina potencialmente disponível (g/16g N)
I**	0,54 e
II	1,01 a
III	0,77 d
IV	0,83 cd
V	0,95 ab
VI	0,89 bc

As médias seguidas de letra diferente diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\* A caseína com 87,41% de pureza apresentou 2,26% de metionina potencialmente disponível.

\*\* Controle, grãos não submetidos a microondas.

Analisando-se os dados apresentados, observa-se que o teor de metionina potencialmente disponível do leite extraído do grão de soja não tratado (0,54g/16g N) foi menor do que o encontrado (0,64g/16g N) na determinação por hidrólise ácida (QUADRO 18), enquanto que, para leites provenientes de grãos submetidos a microondas, o teor de metionina potencialmente disponível é próximo daquele

obtido na determinação pela hidrólise ácida. Estes resultados sugerem a possibilidade da presença de metionina não disponível na soja crua, a qual se torna disponível após o tratamento por microondas. Desde que a metionina presente em grãos de soja tratados por microondas seja potencialmente disponível, ela é quantificada tanto pela hidrólise ácida como pela digestão enzimática, justificando os valores semelhantes encontrados em ambas determinações.

Os leites de soja provenientes de grãos tratados por microondas apresentaram uma disponibilidade aparente maior de metionina, quando comparados com o leite obtido de grãos não tratados, sendo que o leite II proveniente dos grãos com 8,70% de umidade inicial, submetidos a microondas durante 240 segundos, mostrou um valor máximo de metionina potencialmente disponível (1,01g/16g N).

Todos os leites de soja em estudo tiveram menores teores de metionina potencialmente disponível do que a caseína, confirmando, dessa forma, a baixa disponibilidade aparente de metionina em todos os leites de soja estudados.

No QUADRO 23, estão os valores de QEP (quociente da eficiência protéica), bem como de QEP leite de soja/QEP caseína, e eficiência alimentar dos vários leites de soja preparados. Em todos os casos, utilizou-se dieta de caseína como controle.

Na FIGURA 9, são mostradas as curvas de crescimento médio das ratas utilizadas nos ensaios biológicos (QEP) correspondentes ao QUADRO 23.

Através do QUADRO 23 e da FIGURA 9, verifica-se que o leite de soja proveniente de grãos não tratados apresentou um valor de QEP negativo (-0,26), indicando a perda de peso de ratas em consequência de ingestão da dieta contendo este leite. Por outro lado, nenhuma inibição foi observada no crescimento de ratas

QUADRO 23 - Quociente da eficiência protéica (QEP\*) e eficiência alimentar (EA\*) do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

Leite de soja	QEP encontrado	QEP corrigido caseína= 2,50	QEP leite de soja/QEP caseína (%)	EA
I**	-0,21 d	-0,26 e	-10,24 d	-
II	0,88 a	1,05 a	42,20 a	10,69 c
III	0,38 c	0,46 d	18,28 c	19,50 a
IV	0,45 c	0,54 cd	21,53 c	18,45 a
V	0,71 b	0,85 b	33,97 b	14,06 b
VI	0,55 bc	0,66 bc	26,32 bc	17,52 a

As médias seguidas de letra diferente diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\* A caseína com 81,59% de pureza apresentou PER= 2,09 e EA= 4,49.

\*\* Controle, grãos não submetidos a microondas.

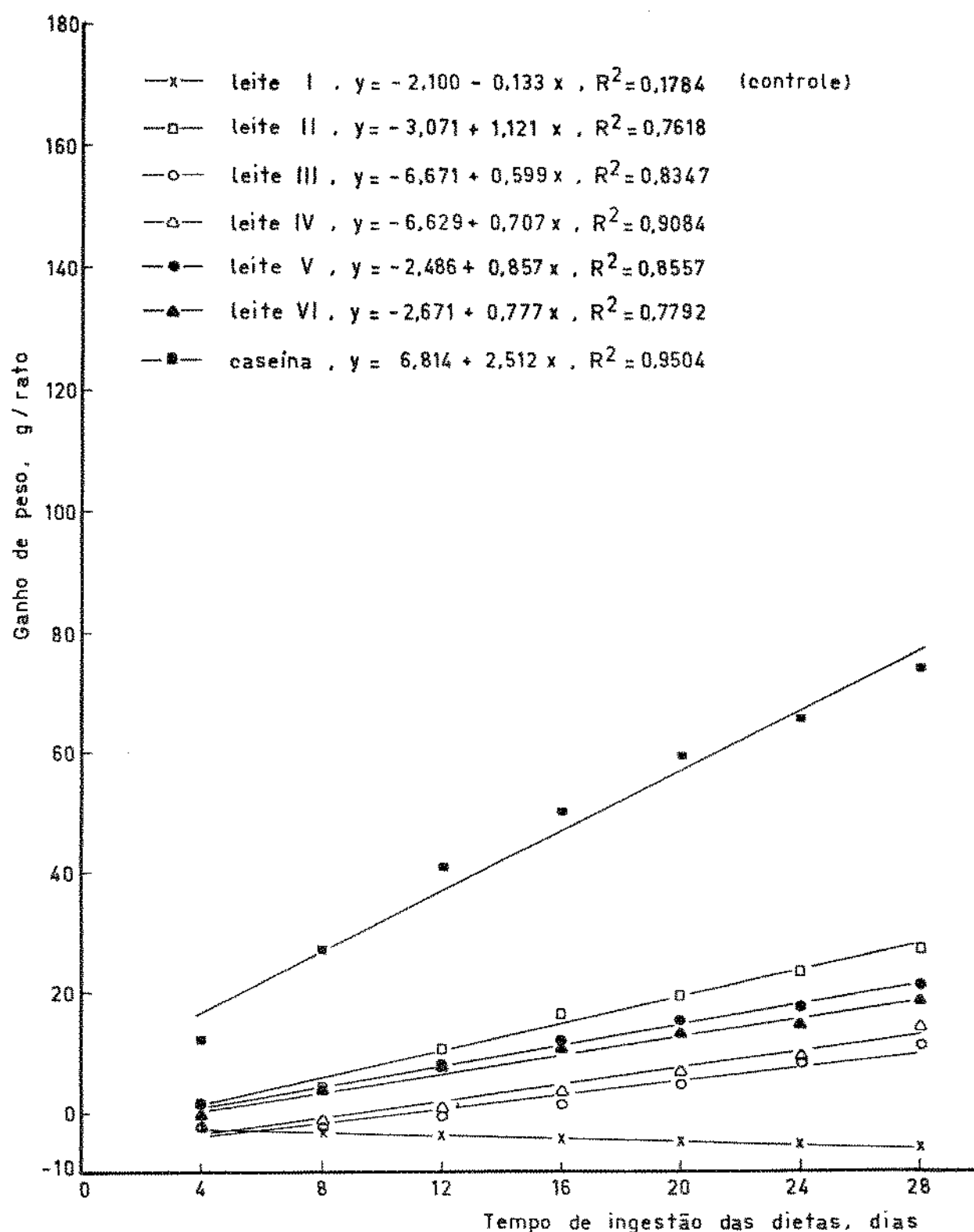


FIGURA 9 - Crescimento médio das ratas utilizadas nos ensaios biológicos de QEP do leite de soja obtido a partir de grãos de soja submetidos a microondas de 2450 MHz.

alimentadas com dieta contendo leites de soja elaborados a partir de grãos submetidos a microondas, que apresentaram valores positivos de QEP, apesar de inferiores ao da caseína (QEP= 2,50). O maior valor de QEP (1,05) foi apresentado pelo leite II proveniente dos grãos com 8,70% de umidade inicial, submetidos a microondas durante 240 segundos, correspondendo a 42,20% do QEP da caseína.

Os valores de QEP obtidos no presente trabalho foram inferiores aos determinados por HACKLER *et alii* (53) na avaliação de leite de soja cru e processado, utilizando ratos. Os valores de QEP encontrados pelos autores variaram entre  $1,37 \pm 0,06$  e  $2,24 \pm 0,05$  para leites processados a 93 ou 121°C por diferentes intervalos de tempo, correspondendo a 57,08 e 93,33% do QEP da caseína padrão utilizada, respectivamente. O QEP do leite cru por sua vez, foi igual a  $0,37 \pm 0,06$ , correspondendo a 15,42% do QEP da caseína, o que indica a importância do tratamento térmico para o aumento do QEP no leite de soja. No presente estudo, como se pretendia avaliar apenas o efeito de microondas nas propriedades nutricionais do leite, as determinações de QEP foram feitas em leites não submetidos ao tratamento térmico, que normalmente precede o seu consumo. Acredita-se, entretanto, que após a fervura dos leites obtidos neste estudo, os valores de QEP também sejam aumentados, como foi observado por HACKLER *et alii* (53). O fato de terem sido utilizadas ratas e não ratos no presente trabalho, também deve ser considerado, uma vez que isto poderia resultar em variações de crescimento.

As explicações dadas para a inibição do crescimento de ratos que se alimentam de dieta contendo leite de soja cru são bastante discutíveis.

Vários autores (24, 88, 115) consideram que o inibidor de tripsina seja o único responsável pela inibição ou redução de

crescimento de ratos, visto que o inibidor de tripsina estimula hipersecreção de enzimas pancreáticas, causando hipertrofia do pâncreas e a perda endógena de aminoácidos essenciais, especialmente os sulfurados.

Entretanto, KAKADE, HOFFA & LIENER (68) afirmaram que, além dos inibidores de tripsina, a própria natureza da proteína de soja, que é resistente ao ataque enzimático, deve ser também considerada. De acordo com RACKIS, MCGHEE & BOOTH (117), a redução de 40 a 50% de atividade do inibidor de tripsina é exigida para se obter um aumento relativamente grande no crescimento de ratos e nos valores de QEP da dieta contendo farinha de soja. Também SIMON & MELNICK (133) constataram que o valor nutritivo da proteína de produtos de soja pode ser acentuadamente aumentado sem reduzir apreciavelmente a atividade do inibidor de tripsina.

Analisando-se os QUADROS 20 e 23 e a FIGURA 9, pode ser verificado que não houve uma correlação positiva entre inativação do inibidor de tripsina e aumento de QEP nos leites preparados a partir de grãos submetidos a microondas. O leite de soja VI que apresentou praticamente 0% de atividade residual do inibidor de tripsina mostrou um valor de QEP igual a 0,66, enquanto que o valor máximo de QEP (1,05) foi encontrado no leite de soja II com 68,33% de atividade residual do inibidor de tripsina. Por outro lado, comparando-se leites de soja III, IV e V, provenientes de grãos com 26,94; 38,75 e 47,00% de umidade inicial, respectivamente, submetidos a microondas por 180 segundos, observa-se que o QEP aumentou com a redução da atividade do inibidor de tripsina. Com base nos resultados apresentados, sugere-se que o inibidor de tripsina não seja o principal responsável pela inibição de crescimento de ratas (coeficiente de correlação = -0,5425, não significativo).



Conforme KAKADE *et alii* (68), o baixo crescimento de ratos se deve, em parte, ao fato de que as proteínas de soja não são rapidamente hidrolisadas pela digestão enzimática *in vitro*.

Comparando-se os resultados apresentados nos QUADROS 21 e 23 e na FIGURA 9, observa-se ainda que o aumento da digestibilidade da proteína *in vitro* devido ao tratamento por microondas resultou num aumento no crescimento de ratas e nos valores de QEP, embora dentre os leites de soja provenientes de grãos tratados, o máximo crescimento de ratas tenha sido verificado no leite II com 77,46% de digestibilidade da proteína *in vitro*, valor que não é maior do que o de outros leites elaborados com grãos submetidos a microondas. Tal ocorrência leva à suposição de que o aumento de crescimento de ratas não depende exclusivamente do aumento de digestibilidade da proteína *in vitro*, embora um aumento na digestibilidade da proteína *in vitro* favoreça o aumento no crescimento de ratas (coeficiente de correlação = 0,7022, não significativo).

RHEE & RHEE (118) afirmaram que o perfil de aminoácidos é importante na avaliação da qualidade nutricional da proteína. No entanto, HACKLER & STILLINGS (51) consideraram que o perfil de aminoácidos (índice de aminoácidos essenciais e índice de exigência) só se correlaciona positivamente com o QEP quando os fatores anti-nutricionais são destruídos.

PRADO, ANTUNES & SCARBIERI (111) por sua vez, constataram que a qualidade protéica da soja é afetada não só pelo teor de metionina determinado por métodos químicos, mas também pela sua disponibilidade.

Os resultados apresentados nos QUADROS 18, 19, 22 e 23, indicam que o tratamento por microondas em grãos de soja provocou um aumento do teor e da disponibilidade aparente de metionina, bem

como do teor de cistina e do valor de QEP (coeficiente de correlação = 0,9368, significativo ao nível de 5% de probabilidade), embora tenha ocorrido certa perda de lisina total. Desde que os aminoácidos sulfurados são considerados por vários autores (37, 70, 82, 129, 132, 158) como aminoácidos limitantes primários, acredita-se ainda que o aumento na quantidade de aminoácidos sulfurados totais presentes em leites de soja provenientes de grãos submetidos a microondas tenha favorecido o crescimento de ratas (FIGURA 9).

Quanto à perda de lisina, uma vez que o teor de lisina total presente no leite de soja obtido de grãos não tratados é relativamente alto (5,31g/16g N) comparado com o padrão da FAO/WHO (QUADRO 2), a perda de lisina em função do tratamento por microondas não deve prejudicar a qualidade da proteína dos leites de soja.

Além dos fatores já considerados, acredita-se que uma possível interação de ácido fítico com proteínas, vitaminas e minerais durante o processamento do leite de soja, como sugerido por RACKIS (115) no preparo do isolado de soja, contribua também para os valores baixos de QEP encontrados no presente trabalho. A existência de um ou mais fatores tóxicos, como sugerido por KAKADE *et alii* (70) e ANTUNES & SGARBIERI (4) na soja crua, também deve ser levada em consideração.

Quanto à eficiência alimentar dos leites de soja estudados, o leite de soja II, obtido de grãos com 8,70% de umidade inicial, expostos a microondas por 240 segundos, mostrou-se superior aos demais leites.

Com base nos resultados apresentados em relação aos aspectos nutricionais dos leites de soja preparados a partir de grãos submetidos a microondas, pode-se concluir que o leite de soja II proveniente de grãos com 8,70% de umidade inicial, expostos a

microondas por 240 segundos é nutricionalmente superior aos demais leites estudados. Acredita-se que este leite, após fervura tradicional, possa ser utilizado como fonte protéica alternativa.

4.5. Avaliação sensorial do leite de soja

Como já considerado (7, 75, 77, 101, 113, 154), a ação da lipoxidase da soja resulta na formação de compostos de sabores desagradáveis, responsáveis, entre outros, pela baixa aceitabilidade do leite de soja em nossa alimentação. Desta forma, a fim de se avaliar a melhoria de sabor no leite de soja obtido a partir de grãos cuja lipoxidase foi quase totalmente inativada, procedeu-se a avaliação sensorial do leite II que apresentou o melhor valor nutricional, aliado a baixa atividade de lipoxidase (2,28%).

O QUADRO 24 mostra os resultados obtidos do teste piloto de preferência do leite de soja previamente escolhido.

QUADRO 24 - Teste piloto de preferência de sabor para leite de soja, usando 100 adultos.

Comparação	Julgamentos totais	Preferência pelo leite de soja		Probabilidade
		I	II	
I* vs. II**	100	7	93	0,1%

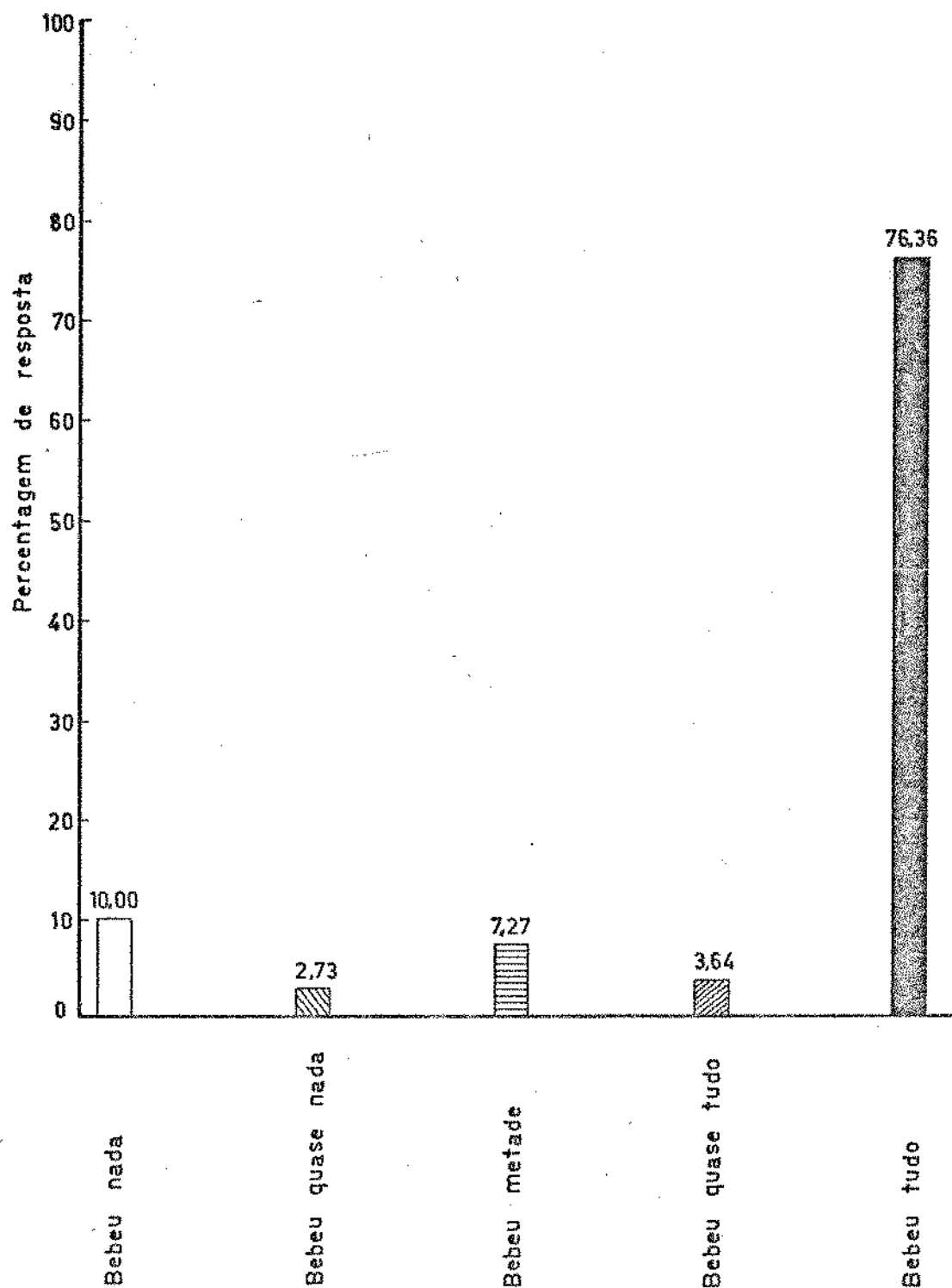
\* Controle, leite obtido de grãos não submetidos a microondas.  
\*\* Leite obtido de grãos de soja com 8,70% de umidade inicial, submetidos a microondas de 2450 MHz por 240 segundos.

Através dos dados apresentados no QUADRO 24, verifica-se que o sabor do leite de soja preparado de grãos com 8,70% de umidade inicial, tratados com microondas por 240 segundos, foi preferido ao sabor do leite obtido de grãos de soja não tratados ao nível de significância de 0,1%. Este resultado confirma que a inativação da lipoxidase resulta na obtenção de leite de soja com sabor suave.

Uma vez confirmado o melhor sabor do leite de soja após inativação da lipoxidase por microondas, o mesmo leite foi formulado com 8% de açúcar, 0,2% de sal e 5% de nescau, a fim de se verificar a sua aceitação. O teste de aceitação foi feito com escolares de 1º grau, a fim de se avaliar a possibilidade da inclusão do leite de soja como fonte proteica alternativa.

A FIGURA 10 ilustra os resultados da aceitação do leite de soja previamente formulado.

Observa-se, na FIGURA 10, que 76,36% de escolares de 1º grau aceitaram integralmente o leite de soja oferecido, enquanto que apenas 10,00% da amostragem rejeitaram o mesmo leite. Estes resultados indicam que o leite de soja elaborado a partir de grãos com 8,70% de umidade inicial submetidos a microondas por 240 segundos, após a devida formulação, é satisfatoriamente aceito por escolares de 1º grau.



Teste piloto de aceitação de escolares de 1º grau

FIGURA 10 - Aceitação do leite de soja obtido a partir de grãos de soja com 8,70% de umidade inicial (b.s.) submetidos a microondas de 2450 MHz por 240 segundos.

## 5. CONCLUSÕES

Diante das condições experimentais utilizadas na realização deste trabalho e de acordo com os resultados obtidos, chegou-se às seguintes conclusões:

- O aumento da temperatura e a perda de água por grãos de soja são importantes na determinação da intensidade do aquecimento por microondas, sendo ambos dependentes do tempo de aquecimento e do teor de umidade inicial da soja.
- O aquecimento por microondas é um processo de aquecimento adequado para se inativar a lipoxidase do grão de soja sem que haja grande diminuição na solubilidade de sua proteína.
- A lipoxidase do grão de soja é inativada por tratamento com radiação de microondas em velocidade crescente com o aumento do tempo de exposição e com o teor de umidade inicial do grão.
- Durante o aquecimento do grão de soja com radiação de microondas ocorre diminuição no índice de solubilidade de nitrogênio, sendo que o aumento de umidade inicial do grão favorece este decréscimo.
- Empregando-se radiação de microondas de 2450 MHz, os

tempos de aquecimento necessários para se inativar quase a totalidade da lipoxidase da soja (~ 150 g) mantendo uma solubilidade da proteína adequada para posterior elaboração de leite são: 240 segundos para grãos com 8,70% de umidade e 180 segundos para grãos com umidades de 26,94%; 38,75; 47,00 e 56,81%.

- O crescimento de ratas alimentadas com dieta cuja fonte protéica é o leite de soja é mais influenciado pelo balanço de aminoácidos globais e pela disponibilidade aparente de metionina do leite do que pela atividade do inibidor de tripsina e pela digestibilidade da proteína *in vitro*.
- Grãos de soja com 8,70% de umidade inicial tratados com radiação de microondas durante 240 segundos, são recomendados para a elaboração de leite com sabor suave.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKESON, W.R. & STAHMANN, M.A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. The Journal of Nutrition, Bethesda, 83(3):257-61, July 1964.
2. ALBRECHT, W.J.; MUSTAKAS, G.C. & MCGHEE, J.E. Rate studies on atmospheric steaming and immersion cooking of soybeans. Cereal Chemistry, Saint Paul, 43(4):400-7, July 1966.
3. AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 7.ed. Saint Paul, AACC, 1969. v.1 and 2.
4. ANTUNES, P.L. & SGARBIERI, V.C. Processing effects on the nutritive value of soybean seeds and products. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Caracas, 27(1):33-47, mar. 1977.
5. AOSHIMA, H.; KAJIWARA, T. & HATANAKA, A. Decomposition of lipid hydroperoxide by soybean lipoxygenase-1 under aerobic conditions studies by high performance liquid chromatography and the spin trapping method. Agricultural and Biological Chemistry, Tokyo, 45(10):2245-51, Oct. 1981.
6. AREF, M.M. Microwave processing comes of age. Canadian Food Industries, Gardenvale, 39(10):34-7, Oct. 1968.
7. ASHRAF, H.R.L. & SNYDER, H.E. Influence of ethanolic soaking of soybean on flavor and lipoxygenase activity of soymilk. Journal of Food Science, Chicago, 46(4):1201-4, July/Aug. 1981.



8. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 9.ed. Washington, AOAC, 1960. p. 188.
9. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12.ed. Washington, AOAC, 1975. p. 857.
10. BAKER, E.C. & MUSTAKAS, G.C. Heat inactivation of trypsin inhibitor, lipoxxygenase and urease in soybeans; effect of acid and base additives. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 50(5):137-41, May 1973.
11. BALDWIN, R.E.; KORSCHGEN, B.M. & KRAUSE, G.F. Comparison of sensitivity of microwave and conventional methods for meat cookery. Journal of Food Science, Chicago, 44(2):624-5, Mar./Apr. 1979.
12. BELTER, P.A. & SMITH, A.K. Protein desnaturation in soybean meal during processing. The Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 29(5):170-4, May 1952.
13. BLIGH, E.G. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, Ottawa, 37(8):911-7, Aug. 1959.
14. BOOKWALTER, G.N.; MUSTAKAS, G.C.; KWOLEK, W.F.; MCGHEE, J.E. & ALBRECHT, W.J. Full-fat soy flour extrusion cooked; properties and food uses. Journal of Food Science, Chicago, 36(1):5-9, Jan./Feb. 1971.
15. \_\_\_\_\_; WARNER, K.; ANDERSON, R.A.; MUSTAKAS, G.C. & GRIFFIN Jr., E.L. Fortification of dry soybean-based foods with DL-methionine. Journal of Food Science, Chicago, 40(2):266-70, Mar./Apr. 1975.

16. BORCHERS, R. Counteraction of the growth depression of raw soybean oil meal by amino acid supplements in weanling rats. The Journal of Nutrition, Bethesda, 75(2):330-4, Oct. 1961.
17. \_\_\_\_\_; MANAGE, L.D.; NELSON, S.O. & STETSON, L.E. Rapid improvement in nutritional quality of soybeans by dielectric heating. Journal of Food Science, Chicago, 37(2):333-4, Mar./Apr. 1972.
18. BORHAN, M. & SNYDER, H.E. Lipxygenase destruction in whole soybeans by combinations of heating and soaking in ethanol. Journal of Food Science, Chicago, 44(2):586-90, Mar./Apr. 1979.
19. BOURNE, M.C. Recent advances in soybean milk processing technology. PAG Bulletin, New York, (10):14-21, 1970.
20. \_\_\_\_\_; CLEMENTE, M.G. & BANZON, J. Survey of suitability of thirty cultivars of soybeans for soymilk manufacture. Journal of Food Science, Chicago, 41(5):1204-8, Sept./Oct. 1976.
21. \_\_\_\_\_; ESCUETA, E.E. & BANZON, J. Effect of sodium alkalis and salts on pH and flavor of soymilk. Journal of food Science, Chicago, 41(1):62-6, Jan./Feb. 1976.
22. BROWN, B.D.; WEI, L.S.; STEINBERG, M.P. & VILLOTA, R. Minimizing protein insolubilization during thermal inactivation of lipxygenase in soybean cotyledons. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 59(2):88-92, Feb. 1982.
23. CHAPMAN Jr., G.W.; ROBERTSON, J.A. & BURDICK, D. Chemical composition and lipxygenase activity in soybeans as affected by genotype and environment. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 53(2):54-6, Feb. 1976.

24. CHERNICK, S.S.; LEPKOVSKY, S. & CHAIKOFF, I.L. Dietary factor regulating the enzyme content of the pancreas; changes induced in size and proteolytic activity of the chick pancreas by the ingestion of raw soy-bean meal. American Journal of Physiology, Washington, 155(1):33-41, Oct. 1948.
25. CHRISTOPHER, J.; PISTORIUS, E. & AXELROD, B. Isolation of an isozyme of soybean lipoxygenase. Biochimica et Biophysica Acta, Amsterdam, 198(1):12-9, 1970.
26. \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. Isolation of a third isoenzyme of soybean lipoxygenase. Biochimica et Biophysica Acta, Amsterdam, 284(1):54-62, Sept. 1972.
27. COCHRAN, W.G. & COX, G.M. Experimental designs. 2.ed. New York, John Wiley, 1957. 611p.
28. COLLINS, J.L. & BEATY, B.F. Heat inactivation of trypsin inhibitor in fresh green soybean and physiological responses of rats fed the beans. Journal of Food Science, Chicago, 45(3):542-6, May/June 1980.
29. \_\_\_\_\_ & McCARTY, I.E. Comparison of microwave energy with boiling water for blanching whole potatoes. Food Technology, Chicago, 23(3):337-40, Mar. 1969.
30. COPPOCK, J. Soy proteins in foods; retrospect and prospect. Journal of the American Oil Chemists' Society. Chicago, 51(1):59A-66A, Jan. 1974.
31. COPSON, D.A. Microwave irradiation of orange juice concentrate for enzyme inactivation. Food Technology, Chicago, 8(9):397-9, Sept. 1954.
32. \_\_\_\_\_. Theory of microwave heating. In: \_\_\_\_\_, ed. Microwave heating in freeze-drying, electronic ovens, and others applications. Westport, AVI, 1962. Chap. 1, p. 1-31.

33. COSTA, S.I. da; MIYA, E.E. & FUJITA, J.T. Composição química e qualidades organolépticas e nutricionais das principais variedades de soja cultivadas no estado de São Paulo. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 5:305-19, 1973/74.
34. \_\_\_\_\_; QUAST, D.Q.; MORETTI, V.A.; CANTO, W.L. & COBBE, R. V. O emprego da soja na alimentação humana. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, (46):1-24, jun. 1976.
35. DEL VALLE, F.R. Nutritional qualities of soya protein as affected by processing. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 58(3):419-29, Mar. 1981.
36. DIETRICH, W.C.; HUXSOLL, C.C.; WAGNER, J.R. & GUADAGNI, D.G. Comparison of microwave with steam or water blanching of corn-on-the-cob; 2. peroxidase inactivation and flavor retention. Food Technology, Chicago, 24(3):293-6, Mar. 1970.
37. DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. & SCATENA, L. Nutritional value of protein from a soybean milk powder. Journal of Food Science, Chicago, 32(5):592-4, Sept./Oct. 1967.
38. ELDRIDGE, A.C.; WARNER, K. & WOLF, W.J. Alcohol treatment of soybeans and soybean protein products. Cereal Chemistry, Saint Paul, 54(6):1229-37, Nov./Dec. 1977.
39. FARKAS, D.F. & GOLDBLITH, S.A. Studies on the Kinetics of lipoxidase inactivation using thermal and ionizing energy. Journal of Food Science, Chicago, 27(3):262-76, May/June 1962.
40. FERREIRA, E.; BORGES, J.M. & MENDES, A.C.C. Novo processo de elaboração do leite de soja. Revista Ceres, Viçosa, 21(117): 422-5. set. 1974.

41. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Amino-acid content of foods and biological data on proteins. Rome, FAO, 1970. p. 56-7.
42. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION. Energy and protein requirements; report of a joint FAO/WHO. Geneva, WHO, 1973. p. 62-4. (WHO technical report series, 522; FAO Nutrition Meetings report series, 52).
43. GARDNER, H.W. Decomposition of linoleic acid hydroperoxides; enzymic reactions compared with nonenzymic. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 23(2):129-36, Mar./Apr. 1975.
44. \_\_\_\_\_ & KLEIMAN, R. A soy extract catalyzes formation of 9-oxo-trans-12,13-epoxy-trans-10-octadecenoic acid from 13-hydroperoxy-cis-9,trans-11-octadecadienoic acid. Lipids, Champaign, 12(11):941-4, Nov. 1977.
45. \_\_\_\_\_; WEISLEDER, D. & KLEIMAN, R. Formation of trans-12, 13-epoxy-9-hydroperoxy-trans-10-octadecenoic acid from 13-L-hydroperoxy-cis-9,trans-11-octadecadienoic acid catalyzed by either a soybean extract or cysteine-FeCl<sub>3</sub>. Lipids, Champaign, 13(4):246-52, Apr. 1978.
46. GARSSSEN, G.J.; VLIEGENTHART, J.F.G. & BOLDINGH, J. An anaerobic reaction between lipoxygenase, linoleic acid and its hydroperoxides. Biochemical Journal, London, 122(3):327-32, Apr. 1971.
47. GOOSSENS, A.E. Protein foods; flavors and off-flavors. Food Engineering, New York, 46(10):59-60, Oct. 1974.

48. GROSCH, W. & LASKAWY, G. Differences in the amount and range of volatile carbonyl compounds formed by lipoxygenase isoenzymes from soybeans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 23(4):791-4, July/Aug. 1975.
49. GUPTA, A.K.; WAHIE, N. & DEODHAR, A.D. Protein quality and digestibility *in vitro* of vegetable and grain type soybeans. The Indian Journal of Nutrition and Dietetics, Coimbatore, 13(8):244-51, Aug. 1976.
50. HACKLER, L.R.; HAND, D.B.; STEINKRAUS, K.H. & VAN BUREN, J.P. A comparison of the nutritional value of protein from several soybean fractions. The Journal of Nutrition, Bethesda, 80(2):205-10, June 1963.
51. \_\_\_\_\_ & STILLINGS, B.R. Amino acid composition of heat-processed soymilk and its correlation with nutritive value. Cereal Chemistry, Saint Paul, 44(1):70-7, Jan. 1967.
52. \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_ & POLIMENI, R.J. Correlation of amino acid indexes with nutritional quality of several soybean fractions. Cereal Chemistry, Saint Paul, 44(6):638-44, Nov. 1967.
53. \_\_\_\_\_; VAN BUREN, J.P.; STEINKRAUS, K.H.; EL RAWI, I. & HAND, D.B. Effect of heat treatment on nutritive value of soymilk protein fed to weanling rats. Journal of Food Science, Chicago, 30(4):723-8, July/Aug. 1965.
54. HAM, W.E. & SANDSTEDT, R.M. A proteolytic inhibiting substance in the extract from unheated soy bean meal. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 154(2):506-6, July 1944.

55. HAMBERG, M. & SAMUELSSON, B. On the specificity on the oxygenation of unsaturated fatty acids catalyzed by soybean lipoxidase. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 242(22):5329-35, Nov. 1967.
56. HEAD, M.K.; GIESBRECHT, F.G. & JOHNSON, G.N. Food acceptability research; comparative utility of three types of data from school children. Journal of Food Science, Chicago, 42(1):246-51, Jan./Feb. 1977.
57. HOLMAN, R.T.; EGWIM, P.O. & CHRISTIE, W.W. Substrate specificity of soybean lipoxidase. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 244(5):1149-51, Mar. 1969.
58. HORAN, F.E. Soy protein products and their production. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 51(1):67A-73A, Jan. 1974.
59. HSU, H.W.; VAVAK, D.L.; SATTERLEE, L.D. & MILLER, G.A. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. Journal of Food Science, Chicago, 42(5):1269-73, Sept./Oct. 1977.
60. HUANG, A.S.; HSIEH, O.A.L. & CHANG, S.S. Characterization of the nonvolatile minor constituents responsible for the objectionable taste of defatted soybean flour. Journal of Food Science, Chicago, 47(1):19-23, Jan./Feb. 1982.
61. HÜHN, S. & PINHEIRO, A.J.R. Efeito do íon cúprico no sabor do "leite de soja". Revista Ceres, Viçosa, 27(150):145-53, 1980.
62. HUXSOLL, C.C.; DIETRICH, W.C. & MORGAN Jr., A.I. Comparison of microwave with steam or water blanching of corn-on-the-cob; 1. characteristics of equipment and heat penetration, Food Technology, Chicago, 24(3):290-3, Mar. 1970.

63. INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. Prognóstico, São Paulo, 13: 125-7, 1984/85.
64. JEPPSON, M.R. Consider microwaves. Food Engineering, New York, 36(11):49-52, Nov. 1964.
65. JOHNSON, K.W. & SNYDER, H.E. Soymilk; a comparison of processing methods on yields and composition. Journal of Food Science, Chicago, 43(2):349-53, Mar./Apr. 1978.
66. JOHNSON, L.A.; DEYOE, C.W. & HOOVER, W.J. Yield and quality of soymilk processed by steam-infusion cooking. Journal of Food Science, Chicago, 46(1):239-43 and 248, Jan./Feb. 1981.
67. JORGE, J.T. Determinação de algumas propriedades físicas e mecânicas da soja, variedade Santa Rosa. Campinas, UNICAMP, 1977. 173p. (tese de Mestrado).
68. KAKADE, M.L.; HOFFA, D.E. & LIENER, I.E. Contribution of trypsin inhibitors to the deleterious effects of unheated soybeans fed to rats. The Journal of Nutrition, Bethesda, 103(12):1772-8, Dec. 1973.
69. \_\_\_\_\_; SIMONS, N.R. & \_\_\_\_\_. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. Cereal Chemistry, Saint Paul, 46(5):518-26, Sept. 1969.
70. \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_ & LAMBERT, J.W. Biochemical and nutritional assessment of different varieties of soybeans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 20(1):87-90, Jan./Feb. 1972.



71. KALAFAT, S.R. & KROGER, M. Microwave heating of foods; use and safety considerations. CRC Critical Reviews in Food Technology, Palo alto, 4(2):141-51, Nov. 1973.
72. KANANI, M.K.; VAN ZUILICHEM, D.J.; ROOZEN, J.P. & PILNIK, W. A modified procedure for low temperature infrared radiation of soybeans; II. inactivation of lipoxygenase and Keeping quality of full-fat flour. Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie, Switzerland, 15(3):139-42, Juni. 1982.
73. KAPOOR, U.; DATTA, I.C.; QUADRI, M.A. & KUSHWAH, H.S. Note on the chemical analysis and acceptability of soymilk. Indian Journal of Agricultural Science, New Delhi, 47(9): 475-6, Sept. 1977.
74. KELLOR, R.L. Defatted soy flour and grits. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 51(1):77A-80A, Jan. 1974.
75. KHALEQUE, A.; BANNATYNE, W.R. & WALLACE, G.M. Studies on the processing and properties of soymilk; I.-effect of preprocessing conditions on the flavour and compositions of soymilks. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 21(11):579-83, Nov. 1970.
76. KOCH, R.B.; STERN, B. & FERRARI, C.G. Linoleic acid and tri-linolein as substrates for soybean lipoxidase(s). Archives of Biochemistry and Biophysics, New York, 78(1):165-79, Nov. 1958.
77. KON, S.; WAGNER, J.R.; GUADAGNI, D.G. & HORVAT, R.J. pH adjustment control of oxidative off-flavors during grinding of raw legume seeds. Journal of Food Science, Chicago, 35(4):343-5, July/Aug. 1970.

78. KROGDAHL, A. & HOLM, H. Inhibition of human and rat pancreatic proteinases by crude and purified soybean proteinase inhibitors. The Journal of Nutrition, Bethesda, 109(4):551-8, Apr. 1979.
79. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_. Soybean proteinase inhibitors and human proteolytic enzymes; selective inactivation of inhibitors by treatment with human gastric juice. The Journal of Nutrition, Bethesda, 111(12):2045-51, Dec. 1981.
80. KUNITZ, M. Crystallization of a trypsin inhibitor from soybean. Science, Washington, 101(2635):668-9, June 1945.
81. \_\_\_\_\_. Crystalline soybean trypsin inhibitor; II. general properties. The Journal of General Physiology, Baltimore, 30(4):291-310, Mar. 1947.
82. LAM-SÁNCHEZ, A. Production and nutritive value of soybeans. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Caracas, 28(2): 155-68, jun. 1978.
83. LIENER, I.E. Significance for humans of biologically active factors in soybeans and other food legumes. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 56(3):121-9, Mar. 1979.
84. \_\_\_\_\_ & KAKADE, M.L. Protease inhibitors. In: \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_, ed. Toxic constituents of plant foodstuffs. New York, Academic Press, 1969. Chap. 2, p. 7-68.
85. \_\_\_\_\_ & TOMLINSON, S. Heat inactivation of protease inhibitors in a soybean line lacking the Kunitz trypsin inhibitor. Journal of Food Science, Chicago, 46(5):1354-6, Sept./Oct. 1981.

86. LO, W.Y.L.; STEINKRAUS, K.H.; HAND, D.B.; HACKLER, L.R. & WILKENS, W.F. Soaking soybeans before extraction as it affects chemical composition and yield of soymilk. Food Technology, Chicago, 22(9):1188-90, Sept. 1968.
87. LORENZ, K. Microwave heating of foods; changes in nutrient and chemical composition. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Palo Alto, 7(4):339-70, June 1976.
88. LYMAN, R.L. & LEPKOVSKY, S. The effect of raw soybean meal and trypsin inhibitor diets on pancreatic enzyme secretion in the rat. The Journal of Nutrition, Bethesda, 62:269-84, 1957.
89. MACLEOD, G. Microwave heating of food and its effect on flavour; part 1. Food Processing Industry, London, 41(485):27-8, Mar. 1972.
90. \_\_\_\_\_. Microwave heating of food and its effect on flavour; part two. Food Processing Industry, London, 41(486):51-3, Apr. 1972.
91. MAGA, J.A.; LORENZ, K. & ONAYEMI, O. Digestive acceptability of proteins as measured by the initial rate of *in vitro* proteolysis. Journal of Food Science, Chicago, 38(1):173-4, Jan. 1973.
92. MAHESHWARI, P.N.; STANLEY, D.W. & VAN DE VOORT, F.R. Microwave treatment of dehulled rapeseed to inactivate myrosinase and its effect on oil and meal quality. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 57(7):194-9, July 1980.
93. MAN, J.M. de; STANLEY, D.M. & RASPER, V. Composition of Ontario soybeans and soymilk. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal, Ottawa, 8(1):1-8, Jan. 1975.

94. MARSHALL Jr., H.F.; WALLACE, G.W. & SATTERLEE, L.D. Prediction of protein digestibility by an *in vitro* procedure using human, porcine, and rat pancreatin preparations. Nutrition Reports International, Los Altos, 19(6):901-13, June 1979.
95. MATTICK, L.R. & HAND, D.B. Identification of a volatile component in soybeans that contributes to the raw bean flavor. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 17(1):15-7, Jan./Feb. 1969.
96. MINETT, P.J. & WITT, J.A. Radio frequency and microwaves. Food Processing Industry, London, 45(532):36,38 and 41, Mar. 1976.
97. MORETTI, R.H. Soy milk developments in Latin America. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 58(3):521-2, Mar. 1981.
98. MUDGETT, R.E. Electrical properties of foods in microwave processing. Food Technology, Chicago, 36(2):109-15, Feb. 1982.
99. MUSTAKAS, G.C.; ALBRECHT, W.J.; BOOKWALTER, G.N.; MCGHEE, J.E.; KWOLEK, W.F. & GRIFFIN Jr., E.L. Extruder-processing to improve nutritional quality, flavor, and Keeping quality of full-fat soy flour. Food Technology, Chicago, 24(11):1290-6, Nov. 1970.
100. \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_; MCGHEE, J.E.; BLACK, L.T.; BOOKWALTER, G.N. & \_\_\_\_\_. Lipoxidase deactivation to improve stability, odor and flavor of full-fat soy flours. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 46(11):623-6, Nov. 1969.

101. NELSON, A.I.; STEINBERG, M.P. & WEI, L.S. Illinois process for preparation of soymilk. Journal of Food Science, Chicago, 41(1):57-61, Jan./Feb. 1976.
102. \_\_\_\_\_; WEI, L.S. & STEINBERG, M.P. Food products from whole soybeans. Soybean Digest, Hudson, 31(3):32-4, Jan. 1971.
103. NUTRITIONAL BIOCHEMICALS CORPORATION. Diet catalog of ICN. Cleveland, 1977 and 1978. p. 24.
104. OMOSAIYE, O. & CHERYAN, M. Ultrafiltration of soybean water extracts; processing characteristics and yields. Journal of Food Science, Chicago, 44(4):1027-31, July/Aug. 1979.
105. OSBORNE, T.B. & MENDEL, L.B. The use of soy bean as food. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 32(3):369-87, 1917.
106. PIENIAZEK, D.; GRABAREK, Z. & RAKOWSKA, M. Quantitative determination of the content of available methionine and cysteine in food proteins. Nutrition and Metabolism, Basel, 18(1):16-22, Jan. 1975.
107. PIMENTEL GOMES, F. Curso de estatística experimental. 10.ed. São Paulo, Nobel, 1982. 430p.
108. PIPER, C.V. & MORSE, W.J. The soybean. New York, McGraw-Hill, 1923. 329p.
109. PISTORIUS, E.K. & AXELROD, B. Iron, an essential component of lipoxygenase. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 249(10):3183-6, May 1974.
110. POUR-EL, A.; NELSON, S.O.; PECK, E.E.; TJHIO, B. & STETSON, L. E. Biological properties of VHF-and microwave-heated soybeans. Journal of Food Science, Chicago, 46(3):800-5 and 895, May/June 1981.

111. PRADO, V.C. do; ANTUNES, P.L. & SGARBIERI, V.C. Antinutrient occurrence and some physicochemical properties of the protein fractions of five brazilian soybean varieties. Arquivos Latinoamericanos de Nutricion, Caracas, 30(4):551-63, dic. 1980.
112. PRINGLE, W. Full-fat soy flour. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 51(1):74A-76A, Jan. 1974.
113. PUPO, L.M.; CHAIB, M.A.; GARRUTI, R.S. & PEREIRA, L. Estudo sensorial do leite de soja. Revista Brasileira de Tecnologia, São Paulo, 6(1):111-6, mar. 1975.
114. RACKIS, J.J. Biologically active components. In: SMITH, A.K. & CIRCLE, S.J., ed. Soybeans; chemistry and technology. Westport, AVI, 1972, v.1, Chap. 6, p. 158-202.
115. \_\_\_\_\_. Biological and physiological factors in soybeans. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 51(1):161A-74A, Jan. 1974.
116. \_\_\_\_\_. Soybean trypsin inhibitor; their inactivation during meal processing. Food Technology, Chicago, 20(11):1482-4, Nov. 1966.
117. \_\_\_\_\_. McGHEE, J.E. & BOOTH, A.N. Biological threshold levels of soybean trypsin inhibitors by rat bioassay. Cereal Chemistry, Saint Paul, 52(1):85-92, Jan./Feb. 1975.
118. RHEE, K.S. & RHEE, K.C. Nutritional evaluation of the protein in oilseed products heated with sugars. Journal of Food Science, Chicago, 46(1):164-8, Jan./Feb. 1981.
119. RICE, R.D.; WEI, L.S.; STEINBERG, M.P. & NELSON, A.I. Effect of enzyme inactivation on the extracted soybean meal and oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 58(5):578-83, May 1981.

120. ROESSLER, E.B.; PANGBORN, R.M.; SIDEL, J.L. & STONE, H. Expanded statistical tables for estimating significance in paired-preference, paired-difference, duo-trio and triangle tests. Journal of Food Science, Chicago, 43(3):940-3, May/June 1978.
121. ROGERS, Q.R. & HARPER, A.E. Amino acid diets and maximal growth in the rat. The Journal of Nutrition, Bethesda, 87(3):267-73, Nov. 1965.
122. ROLIM, H.M.V.; MAFFIA, L.M.; COELHO, D.T. & VIEIRA, M. Avaliação nutricional de proteína de soja texturizada por extrusão. Revista Ceres, Viçosa, 26(145):275-90, 1979.
123. SALE, A.J.H. A review of microwaves for food processing. Journal of Food Technology, London, 11(4):319-29, Aug. 1976.
124. SANCHEZ, A.; REGISTER, U.D.; BLANKENSHIP, J.W. & HUNTER, C.C. Effect of microwave heating of soybeans on protein quality. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Caracas, 31(1):44-51, mar. 1981.
125. SAUNDERS, R.M.; CONNOR, M.A.; BOOTH, A.N.; BICKOFF, E.M. & KOHLER, G.O. Measurement of digestibility of alfalfa protein concentrates by *in vivo* and *in vitro* methods. The Journal of Nutrition, Bethesda, 103(4):530-5, Apr. 1973.
126. SCHIFFMANN, R.F. Microwave challenge today's heat processing. Food Engineering, New York, 47(11):72-6, Nov. 1975.
127. SCHINGOETHE, D.J. & AHRAR, M. Protein solubility, amino acid composition, and biological value of regular and heat-treated soybean and sunflower meals. Journal of Dairy Science, Champaign, 62(6):925-31, June 1979.

128. SGARBIERI, V.C.; GARRUTI, R.S.; MORAES, M.A.C. & HARTMAN, L. Nutritional and sensory evaluation of mixtures of soybean (*Glycine max* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), for direct use as human food. Journal of Food Science, Chicago, 43(1):208-10, Jan./Feb. 1978.
129. SHELEF, L.A. & MORTON, L.R. Soybean protein foods; use and acceptance in institutional feeding. Food Technology, Chicago, 30(4):44-50, Apr. 1976.
130. SHURTLEFF, W. Soymilk at Loma Linda. Soyfoods, Colrain, 1(4):24-6, Winter 1981.
131. SIDDIQI, A.M. & TAPPEL, A.L. Comparison of some lipoxidases and their mechanism of action. The Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 34(12):529-33, Nov. 1957.
132. SIKKA, K.C.; GUPTA, A.K.; SINGH, R. & GUPTA, D.P. Comparative nutritive value, amino acid content, chemical composition, and digestibility *in vitro* of vegetable- and grain-type soybean. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 26(2):312-6, Mar./Apr. 1978.
133. SIMON, M. & MELNICK, D. The *in vitro* digestibility of raw and heat-processed soy products varying in the nutritive value of the protein. Cereal Chemistry, Saint Paul, 27(2):114-26, Mar. 1950.
134. SMITH, A.K. & BECKEL, A.C. Soybean or vegetal milk. Chemical & Engineering News, Washington, 24(1):54-6, Jan. 1946.
135. SMITH, W.L. & LANDS, W.E.M. Oxygenation of unsaturated fatty acids by soybean lipooxygenase. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 247(4):1038-47, Feb. 1972.



136. SNYDER, H.E. A simple technique for inhibiting production of green, beany flavor in soybeans. Korean Journal Food Science & Technology, 5(1):33-5, 1973.
137. SOETRISNO, U.; HOLMES, Z.A. & MILLER, L.T. Effect of heating times of soybean on vitamin B-6 and folacin retention, trypsin inhibitor activity, and microstructure changes. Journal of Food Science, Chicago, 47(2):530-4 and 537, Mar./Apr. 1982.
138. SPACKMAN, D.C.; STEIN, W.H. & MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. Analytical Chemistry, Easton, 30(7):1190-206, July 1958.
139. STEVENS, F.C.; BROWN, D.M. & SMITH, E.L. Some properties of soybean lipoxygenase. Archives of Biochemistry and Biophysics, New York, 136(2):413-21, Feb. 1970.
140. SUBERBIE, F.; MENDIZA'BAL, D. & MENDIZA'BAL, C. Germination of soybeans and its modifying effects on the quality of full-fat soy flour. Journal of the American Oil Chemists' Society, Chicago, 58(3):192-4, Mar. 1981.
141. SURREY, K. Spectrophotometric method for determination of lipoxygenase activity. Plant Physiology, Lancaster, 39(1):65-70, Jan. 1964.
142. TANGO, J.S. Farinhas de soja integral. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, (29):21-45, mar. 1972.
143. TAPE, N.W. Application of microwave energy in food manufacture. Canadian Institute of Food Technology Journal, Ottawa, 3(2):39-43, Apr. 1970.
144. TOMBS, M.P. Protein bodies of the soybean. Plant Physiology, Lancaster, 42(6):797-813, June 1967.

145. TURATTI, J.M.; SALLES, A.M.; SANTOS, L.C. dos; MORI, E.E.M. & FIGUEIREDO, I.B. Estudos preliminares com cultivares de soja para produção de leite. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 16(3):289-305, jul./set. 1979.
146. TURNER, R.H. & LIENER, I.E. The effect of the selective removal of hemagglutinins on the nutritive value of soybeans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 23(3):484-7, May/june 1975.
147. VAN DE KAMER, J.H. & VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. Cereal Chemistry, Saint Paul, 29(4):239-51, July 1952.
148. VLIEGENTHART, J.F.G.; VELDINK, G.A. & BOLDINGH, J. Recent progress in the study on the mechanism of action of soybean lipooxygenase. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, 27(3):623-6, May/June 1979.
149. WALLACE, G.M.; BANNATYNE, W.R. & KHALEQUE, A. Studies on the processing and properties of soymilk; II. effect of processing conditions on the trypsin inhibitor activity and the digestibility *in vitro* of proteins in various soymilk preparations. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 22(10):526-31, Oct. 1971.
150. WALLACE, J.M. & WHEELER, E.L. Lipooxygenase inactivation in wheat protein concentrate by heat-moisture treatments. Cereal Chemistry, Saint Paul, 49(1):92-8, Jan./Feb. 1972.
151. WANG, H.L.; SWAIN, E.W.; HESSELTINE, C.W. & HEATH, H.D. Hydration of whole soybean affects solids losses and cooking quality. Journal of Food Science, Chicago, 44(5):1510-3, Sept./Oct. 1979.

162. YEN, J.T.; HYMOWITZ, T. & JENSEN, A.H. Utilization by rats of protein from a trypsin-inhibitor variant soybean. Journal of Animal Science, Champaign, 33(5):1012-7, Nov. 1971.