

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Roberto Machado de Moraes**, aprovada pela Comissão Julgadora em 24 de junho de 2002.

Campinas, 24 de junho de 2002


Prof. Dr. Roberto Herminio Moretti
Presidente da Banca

MONTAGEM E AVALIAÇÃO DE UM
EQUIPAMENTO PARA DESODORIZAÇÃO DE
“LEITE DE SOJA” POR ARRASTE DE VAPOR
SUPERAQUECIDO

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do Título de
Doutor em Tecnologia de Alimentos.

ROBERTO MACHADO DE MORAES - QUÍMICO
ORIENTADOR: Prof. Dr. ROBERTO HERMÍNIO MORETTI

CAMPINAS-SP, 2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

UNIDADE BE
Nº CHAMADA T/UNICAMP
M791m
V _____ EX _____
TOMBO BCI 50289
PROC 16-837/02
C _____ DX _____
PREÇO R\$ 11,00
DATA 13/08/02
Nº CPD _____

CM00171917-1

BIB ID 250736

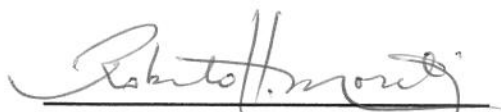
FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

M791m Moraes, Roberto Machado de
Montagem e avaliação de um equipamento para
desodorização de "leite de soja" por arraste de vapor
superaquecido / Roberto Machado de Moraes. –
Campinas, SP: [s.n.], 2002.

Orientador: Roberto Hermínio Moretti
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Desodorização. 2.Leite. I.Moretti, Roberto Hermínio.
II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Roberto H. Moretti

(Orientador)



Profa. Dra. Adriana Z. Mercadante

(Membro)

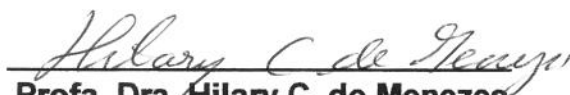
Prof. Dr. Daniel Barrera Arellano

(Membro)



Profa. Dra. Flavia Maria Netto

(Membro)

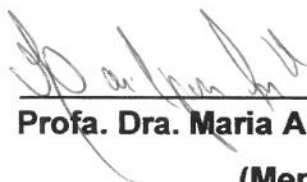


Profa. Dra. Hilary C. de Menezes

(Membro)

Prof. Dr. Jaime Amaya Farfan

(Membro)



Profa. Dra. Maria Aparecida P. da Silva

(Membro)

AGRADECIMENTOS

**“MEUS AGRADECIMENTOS E MINHAS HOMENAGENS A TODOS QUE NÃO
ABANDONARAM O BARCO.**

**AOS DESERTORES AINDA RESTA A CHANCE DE CHEGAREM À PRAIA
COMO GARRAFAS VAZIAS, ISTO É, SEM NENHUMA MENSAGEM DENTRO.”**

ÍNDICE

RESUMO	vii
SUMMARY	viii
1 - INTRODUÇÃO	1
1.1 - A Soja	1
1.2 - A Soja no Brasil	2
1.3 - Composição Química da Soja	4
1.4 - Lipoxidases da Soja	15
2 - OBJETIVOS	25
3 - MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 - Material e Equipamentos.....	25
3.1.1 - Soja	25
3.1.2 - Construção do desodorizador em escala de laboratório	26
3.1.3 - Outros equipamentos	28
3.2 - Métodos	29
3.2.1 - Composição centesimal do grão de soja e das amostras de leite	29
3.2.2 - Obtenção de leite de soja.....	29
3.2.3 - Avaliação do desodorizador	30
3.2.4 - Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)	30
3.2.4.1 - Recrutamento e pré-seleção de provadores...31	
3.2.4.2 - Treinamento da equipe sensorial	34
3.2.4.3 - Seleção final da equipe de provadores	36
3.2.4.4 - Condições para os testes e preparação das amostras	36

3.2.4.5 - Avaliação final das amostras de leite de soja	37
3.2.5 - Cromatografia gasosa	40
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 - Composição centesimal da soja e dos leites de soja	41
4.2 - Efeito da desodorização em seis padrões de compostos voláteis	45
5 - CONCLUSÃO	62
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

RESUMO

O presente trabalho utilizou uma só variedade de soja de uma mesma safra, para a produção do extrato hidrossolúvel de soja ("leite de soja"). Este extrato tem uso muito difundido no Oriente, sendo uma importante fonte nutricional. Entretanto, na nossa cultura há uma barreira quanto a seu uso, devido ao sabor desagradável oriundo de compostos existentes nos grãos e de outros formados durante o processamento, quer pela ação do calor, quer pela ação de enzimas presentes no grão. O valor nutritivo do produto associado a seu baixo custo motivou e continua motivando a aplicação de recursos para o desenvolvimento de tecnologias que possam melhorar, substancialmente, o leite de soja. Três técnicas diferentes para o preparo do leite de soja foram empregadas, nas quais cada metade dos três lotes produzidos foi posteriormente desodorizada. O processo utilizando um equipamento desodorizador por vapor d'água superaquecido, à pressão atmosférica, permitiu o arraste de diversos compostos formados durante o processamento do leite, notadamente, os responsáveis pelo sabor de feijão cru. A análise dos principais componentes das amostras de leite de soja permitiu estabelecer o processo mais eficiente na obtenção de sólidos totais e as perdas ocorridas durante a desodorização para cada processo utilizado na preparação do leite. A cromatografia em fase gasosa com a adição de seis padrões de compostos existentes no leite de soja permitiu avaliar a porcentagem de remoção dos mesmos nas amostras analisadas. A análise sensorial descritiva-quantitativa permitiu estabelecer a eficiência do processo de desodorização na melhoria da qualidade do leite de soja.

SUMMARY

This study used a single variety of soybeans from the same harvest for the production of soymilk. This product is widely used in the Far East, where it is an important nutritional source, but in our culture, it faces considerable resistance amongst consumers, due to the unpleasant flavor of soymilk, which results from a number of compounds existing in the beans or which are formed during the preparation process by the action of heat or enzymes present in the beans. The nutritive value of the product, associated with its low cost, has motivated the application of resources to the development of new technologies to substantially improve the soymilk. Three different processes for the production of soymilk were employed and half of each of the three samples were deodorized. The deodorization process used superheated steam at atmospheric pressure allowing for the stripping off of many compounds formed during the process, especially those responsible for the beany flavor of the end product. The chemical analysis of the main components in the soybean milk samples allowed for the establishment of the most efficient process with respect to the extraction of total solids as well as the losses occurring during each of the processes employed for the production of soymilk. Gas chromatography, with the addition of six standards of compounds present in soymilk, made it possible to determine what percentage of each compound was removed in the samples analyzed. The quantitative sensorial analysis allowed for the establishment of the efficiency of the deodorization process in improving the quality of the resulting soymilk.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 – A Soja

A soja vem sendo cultivada na China desde 2800 A.C. Um grande número de informações detalhadas a respeito de variedades, tratos culturais, técnicas de cultivo e armazenamento é encontrado em antigos textos que chegaram até nossos dias. A utilização da soja, isolada ou combinada com outros cereais, também está muito bem documentada. A origem da soja está no entorno do que hoje é a moderna China, embora alguns especialistas digam que sua procedência seja do leste ou do sudeste da Ásia.

Graças à sua fácil produção, aliada à sua fácil estocagem por largo tempo de armazenamento e a um excepcional teor de proteína, a soja tem sido altamente considerada como uma importante fonte nutricional. Em consequência disso seu uso como alimento na dieta humana se espalhou, praticamente, por toda a Ásia, tendo uma enorme aceitação entre os povos daquele continente.

Os produtos à base de soja são tradicionalmente consumidos na forma de produtos fermentados e não-fermentados. Nas formas não-fermentadas estão incluídos o leite de soja (Duyu), o yuba, o queijo de soja (Dubu) e produtos protéicos em pó, feitos a partir de soja torrada. Nas formas fermentadas, estão incluídos a pasta de soja fermentada (Doenjang), o natto, o molho de soja (Ganjang) e o tempeh. Todos esses produtos têm um papel importante na dieta e na cultura dos povos asiáticos. Apesar das mudanças significativas das variedades de alimentos consumidos através dos anos na região, 10% da proteína consumida pela população japonesa são provenientes dos produtos básicos obtidos da soja. Uma pesada dependência dietária com relação ao arroz, que tem baixos teores de proteína, do aminoácido essencial lisina e de lipídios, disseminou o uso dos produtos de soja e de peixe como fontes alternativas de proteínas por toda a Ásia, notadamente no Japão, China, Coréia, Tailândia e Vietnã, aumentando, significativamente, o bem-estar nutricional daquelas populações.

A soja tem um conteúdo relativamente alto de lisina, mas baixo em relação à metionina. Quando juntamos a proteína do milho e a da soja, chegamos a uma proteína denominada “proteína complementar” ou “nutricionalmente completa”. O balanço em aminoácidos essenciais para a proteína da soja é comparável ao das fontes protéicas de natureza animal, quando baseado nas necessidades humanas. As mudanças ocorridas com relação à qualidade e à quantidade dos alimentos consumidos pelos japoneses e outros povos asiáticos são a evidência de uma ocidentalização da dieta daquelas populações. Uma correlação entre os fatos citados e o aumento de doenças cardíacas bem como de outros distúrbios tem tido amplamente divulgação. Ultimamente, tem-se dado muita importância às isoflavonas da soja devido às suas propriedades nutracêuticas.

1.2 – A Soja no Brasil

A soja chegou ao Brasil em fins do século XIX e as observações pioneiras a respeito dessa cultura quanto à sua adaptação, produtividade e resistência a pragas foram realizadas por DAFFERT [27], em 1892, no atual Instituto Agrônomo de Campinas.

Em 1914, essa leguminosa foi introduzida pela primeira vez no Rio Grande do Sul [93] e, a partir de 1935, sua cultura nesse estado tomou impulso, de sorte que, em 1955, 90% de sua produção se concentraram na chamada Zona das Missões, primeiramente no município de Santa Rosa.

A expansão da cultura foi beneficiada pela utilização do excedente proveniente da alimentação animal na extração de óleo para fins comestíveis e, também, como uma cultura de rotação com trigo e arroz.

Em outros estados, a soja começou a ser plantada mais tarde e somente a partir de 1969 a produção começou a ser significativa, principalmente nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais.

Paralelamente à introdução e à expansão da soja nos estados brasileiros retro citados, cumpre destacar os trabalhos de melhoramento desse tipo de cultura realizados no Instituto Agronômico de Campinas.

As pesquisas referentes ao assunto começaram em 1936, com variedades procedentes dos Estados Unidos e variedades fornecidas pela colônia japonesa estabelecida no Brasil.

Em 1947, foi lançada pelo Instituto Agronômico a variedade denominada Mogiana.

Para o prosseguimento dos trabalhos de melhoramento, mais variedades de procedência norte-americana foram introduzidas em 1951.

Em 1952 foi efetuado um novo programa de melhoramento, utilizando-se, então variedades já adaptadas ao nosso meio e variedades e linhagens norte-americanas. Como resultado desse trabalho, surgiram outras diversas variedades e, em 1958 [80], uma delas foi denominada L 326. Esta linhagem foi multiplicada comercialmente no Rio Grande do Sul, no município de Santa Rosa, passando a ser denominada variedade Santa Rosa [12].

Essa variedade perdeu terreno para as novas cultivares hoje plantadas, mas teve um papel de destaque quando o Brasil se tornou o segundo produtor mundial de soja, tendo sido, também, uma testemunha da importância do trabalho de melhoramento. Assim, na safra de 1973/74, no Rio Grande do Sul, das 4.780.837 sacas produzidas, 1.373.228 sacas foram de Santa Rosa, correspondendo a 30% da produção.

A título de ilustração, em 1975/76, foram produzidos 11 milhões de toneladas de soja no Brasil, sendo 33% da produção provenientes de variedades desenvolvidas no Instituto Agronômico de Campinas.

No Brasil, a EMBRAPA vem desenvolvendo variedades de soja destinadas ao consumo humano. Então, desde 1998, vem sendo recomendado o cultivo da variedade BRS-155 nos estados do Paraná e Santa Catarina com uma redução de 70% no teor de inibidor de tripsina em relação às variedades normais.

1.3 – Composição Química da Soja

Os grãos de soja constituem uma rica fonte de proteínas e óleo com teores médios de 35,0 e 19,0, respectivamente. Eles contêm de 9 a 12% de açúcares totais, dos quais 4 a 5% são sacarose, 1 a 2% são rafinose, e 3,5 a 4,5% são estaquiose. Embora todos os açúcares sejam fermentados por microrganismos, os oligossacarídeos rafinose e estaquiose têm um importante papel bifidogênico ainda que não sejam digeridos pelos seres humanos e outros animais monogástricos. Esses açúcares são responsáveis pelo fenômeno da flatulência em uma parte dos seres humanos e em outros animais, quando presentes nas rações, acarretam uma perda da eficiência alimentar.

A diminuição desses oligossacarídeos, pelo aumento dos teores de sacarose ou outros açúcares simples, não eliminaria o problema da flatulência causado por eles, mas disporia a soja como um produto agrícola fermentescível. Muitas variedades de soja chinesas e japonesas apresentam teores de carboidratos mais elevados que a maioria das variedades americanas, o que torna as primeiras mais interessantes para a produção de produtos fermentáveis [37].

Os grãos de soja ainda contêm menos que 1% de amido, 5% de cinzas e 4,5% de fibra bruta. Mais da metade da fibra bruta existente na soja é considerada como fibra alimentar, cujo desempenho fisiológico é necessário para um melhor aproveitamento dos nutrientes pelos seres humanos. Recentemente, a importância da fibra alimentar na dieta tem recebido muita atenção em diversas partes do mundo. Embora o papel desempenhado pelas fibras na redução de incidência de câncer de colo e de doenças cardíacas não esteja bem elucidado, os benefícios potenciais para a saúde gerados pelo aumento do teor de fibras na dieta não devem ser desprezados. A casca da soja contém por volta de 87% de fibra bruta, sendo formada por celulose, hemicelulose, lignina e ácidos urônicos [37].

Aos efeitos já comprovados da funcionalidade dos citados componentes da soja somam-se não só as fibras solúveis contidas na mesma, cujo consumo regular contribuiria para a diminuição do teor de colesterol no sangue, mas

também as fibras insolúveis, que aumentariam o volume das fezes, melhorando as condições intestinais [82, 90].

Com relação à composição de ácidos graxos, o ácido linoléico contribui com 50% dos ácidos graxos disponíveis existentes na fração lipídica da soja, acreditando-se que seja útil na diminuição dos teores de colesterol sanguíneo. Atualmente, as novas variedades disponíveis apresentam diferentes proporções de ácidos graxos saturados e insaturados [37].

Na área de doenças cardiovasculares, os ácidos graxos da soja permitem diminuir a incidência das mesmas, pois têm a capacidade de reduzir a agregação das plaquetas e a quantidade de triglicérides, somando-se a isso outros benefícios possíveis, como a melhoria das atividades cerebrais e visuais [57, 95].

Os grãos de soja também contêm vitaminas B₁, B₂, B₆ e E. Por outro lado, aparecem em pequenas quantidades, ou em níveis de traços, inibidores de tripsina, substâncias goitrogênicas, isoflavonas, saponinas e hemaglutininas [37].

Determinados compostos existentes em frutas, vegetais e grãos possuem propriedades anti-cancerígenas preventivas, inibindo a iniciação do tumor, prevenindo os danos oxidativos, afetando os hormônios esteróidicos e o metabolismo das prostaglandinas, conseguindo assim bloquear o crescimento do tumor. Todo o conhecimento acumulado e divulgado com relação às propriedades de diversos alimentos acima relatadas permitiram que em 1980 fosse introduzido, no Japão, o conceito de alimento funcional, compreendendo os alimentos processados, os quais, além das propriedades nutritivas, contêm ingredientes que auxiliam nas funções corporais específicas [11, 23, 25].

Assim, alimentos dietéticos ou para fins especiais, bebidas energéticas destinadas a esportistas, alimentos para pessoas intolerantes à lactose, produtos lácteos adicionados com probióticos podem ser considerados como possuindo características funcionais, existindo, ainda, um grande número de produtos para lactentes, grávidas, idosos e muitas formulações de natureza infantil [41, 51, 52].

Os trabalhos até hoje elaborados destacam diversos compostos presentes na soja, alguns com funções já conhecidas no metabolismo, como as vitaminas e

minerais e outros cujas funções começam a ser desvendadas, tais como os antioxidantes, determinados ácidos graxos e a fibra alimentar. Também estão sendo elucidadas as funções de nutrientes já conhecidos, cuja atuação está sendo melhor esclarecida. A soja consumida como parte da dieta usual pelos seus efeitos metabólicos e fisiológicos, os quais resultam em benefício à saúde, além de suas funções nutricionais básicas como redução do risco de doenças crônico-degenerativas, está criando um consenso que tende a crescer em função dos efeitos observados [2]. A soja como alimento funcional não tem a função de curar, mas sim de prevenir a incidência de certas doenças.

A proteína da soja pode desempenhar outras funções além das nutricionais. Seu caráter funcional age no metabolismo equilibrando as funções metabólicas, modulando-as de modo a proporcionar um benefício máximo à saúde, à longevidade e ao bem-estar, com destaque à prevenção de doenças. A funcionalidade desta proteína apresenta efeitos hipocolesterolêmicos.

A grande diversidade dos produtos à base de soja fabricados no Brasil começa a ter um mercado em expansão, propiciando aos consumidores a oportunidade de se beneficiarem das propriedades funcionais dos mesmos [2, 71, 79, 82]. Atualmente existem no mercado o leite de soja natural, o leite de soja com adição de sucos naturais e uma linha de produtos fermentados com maior penetração junto às populações de procedência asiática.

A tradição entre os orientais da importância dos benefícios trazidos pelo consumo da soja como alimento já começa a ser reconhecida no Ocidente. O FDA emitiu um documento em 1999, oficializando o potencial terapêutico da soja na prevenção de doenças do coração, baseando-se em estudos científicos com o propósito de certificar que o consumo diário de 25g de proteína de soja tem condições de prevenir os riscos das doenças vasculares reduzindo os níveis de colesterol total e da fração LDL.

As indústrias de alimentos que também utilizam proteínas de soja foram, oficialmente, autorizadas a informar, nos seus rótulos, as propriedades benéficas do produto para a saúde. A exigência de conter pelo menos 6,25g de proteína de

soja permite a utilização deste tipo de informação no rótulo. Concomitantemente, os produtos rotulados devem ter baixos teores de colesterol e gordura saturada em sua composição e também não conter gordura adicionada. Este tipo de rotulagem estimula as indústrias de alimentos a utilizarem soja em seus produtos ao mesmo tempo que esclarecem o consumidor a respeito do poder benéfico da mesma na prevenção de doenças crônicas.

No exterior, os trabalhos realizados na mesma linha estabeleceram relações entre a ingestão de flavonóides na dieta e o risco de morte por doenças cardiovasculares ou derrame em mulheres pós-menopausa [89, 96, 102].

O grão de soja possui aproximadamente 2% de glicosídeos compostos de diversos tipos de saponinas e isoflavonóides isolados e já conhecidos.

Os teores de isoflavonas variam com a variedade e o local de cultivo [33]. Apresentam-se na forma glicosídica e, em menor concentração, na forma de agliconas; conjuntamente são responsáveis pelos sabores adstringente e amargo dos produtos de soja [55, 65, 78, 85], sendo os principais compostos nela encontrados a genistina e a daidzina. Embora a inativação da lipoxigenase [8, 64] melhore o sabor em termos de sabor de erva, a adstringência e o amargor ainda persistem [4, 5, 55, 92].

Evidências de doenças degenerativas nas populações consumidoras de soja têm sugerido a importância do papel desempenhado pelas isoflavonas. O genótipo da soja, os métodos de processamento e os aditivos utilizados têm influência na distribuição e retenção das isoflavonas, podendo inclusive afetar a sua biodisponibilidade. Assim, um trabalho foi realizado correlacionando fervura, congelamento e liofilização com os conteúdos totais de isoflavonas e a distribuição de seus isômeros em algumas variedades de soja. Os resultados mostraram que, quando se utiliza a fervura, a retenção de isoflavonas é da ordem de 47%, quando se utiliza o congelamento, é de 53% e quando da liofilização, 40% [61, 87, 88, 89, 95, 96].

Os perfis das isoflavonas encontrados nas variedades e alimentos de soja tradicionais mostram que os alimentos preparados a partir da soja contêm de 6 a 20% das suas isoflavonas [37].

As isoflavonas são compostos com propriedades antioxidantes, hoje, extensivamente estudadas, graças a seu potencial para reduzir o risco em relação aos problemas crônicos de saúde como osteoporose, câncer e doenças coronárias.

A ingestão adequada de isoflavonas faz com que o risco de morte por doença cardiovascular seja 38% mais baixo entre as mulheres que tiveram uma ingestão mais alta de isoflavonas quando comparadas com as que tiveram ingestão mais baixa [102, 105, 113].

Na soja ocorrem isoflavonas na forma de suas agliconas tais como a genisteína, daidzeína e gliciteína. Dentre elas a genisteína tem maior atividade anticancerígena.

Trabalhos realizados com o soro de soja, um subproduto da fabricação de concentrados protéicos, mostraram que a concentração total de isoflavonas foi significativamente reduzida pelo aquecimento a temperaturas mais altas [95, 101, 105].

Outros estudos revelaram as propriedades antioxidantes das isoflavonas na eliminação de radicais livres potencialmente nocivos, prevenindo a oxidação da fração LDL do colesterol. Esta fração, quando oxidada, participa da formação de placas ateroscleróticas, bloqueadoras das paredes arteriais.

Foi constatada uma associação inversa entre o risco de morte por doença cardiovascular e a ingestão de isoflavonas, embora isto não ocorra quando comparamos ingestão com o risco de morte por derrame. Estes fatos sugerem que o uso da soja na dieta, sendo fonte destes compostos, pode ser útil na prevenção de cardiopatias [11, 20].

Hoje em dia uma nova linha de concentrados protéicos de soja processados para reter altos níveis de isoflavonas, inclusive lavados em água, conseguem proporcionar paladar macio e sabor neutro aos produtos nos quais são utilizados

[71]. Assim, as informações obtidas dizem que as concentrações das isoflavonas genisteína e daidzeína são de respectivamente 1,5 e 0,75mg/g, do concentrado protéico. Também está disponibilizado no comércio um concentrado texturizado obtido por extrusão termoplástica, o qual pode ser usado em diversas formulações nas quais o alto teor de isoflavonas é desejado [61, 70].

As isoflavonas possuem também propriedades antiestrogênicas. Foi desenvolvida, pelo USDA/ARS [41,46] uma base de dados sobre o conteúdo de isoflavonas em diversos alimentos, principalmente nos que contêm soja.

Há dois tipos de isoflavonas que são estruturalmente semelhantes ao hormônio feminino estrogênio e ambos competem pelos receptores estrogênicos. Quando ligadas a estes receptores, inibem a proliferação e o crescimento celular de tumores induzidos pelo citado hormônio. Temos aí a explicação do porquê de as populações do sudoeste da Ásia, consumidoras de quantidades significativas de soja, apresentarem baixo risco de câncer [41, 46, 51, 52, 60].

Ao lado das isoflavonas, várias classes de compostos com alegadas propriedades anticarcinogênicas têm sido identificadas na soja, incluindo os inibidores de proteases, fitosteróis, saponinas, ácidos fenólicos e ácido fítico [79].

Os benefícios em geral proporcionados pelo consumo de soja à saúde também se estendem à preservação da saúde específica dos ossos pelo aumento do seu conteúdo mineral [2, 36, 95].

Embora os grãos de soja apresentem um valor nutricional excelente, eles não podem ser consumidos na forma bruta, uma vez que apresentam uma textura dura e um aroma indesejável. Entretanto, mesmo não influenciados por estes atributos, os povos do Japão e outros países da Ásia desenvolveram uma grande variedade de produtos industrializados de soja [31].

Nos países subdesenvolvidos, uma das principais causas da má nutrição é a baixa oferta de alimentos ricos em proteínas e de baixo custo. É possível aumentar a produção destes alimentos com o uso da soja, pois ela é a alternativa mais viável que existe hoje. Atualmente as indústrias de alimentos e a comunidade científica já perceberam que nenhuma parte do planeta pode depender

exclusivamente das proteínas de origem animal. Assim sendo, o uso da proteína de soja pela indústria de alimentos vem crescendo, uma vez que esta matéria prima, além de seu alto teor nutritivo, baixo custo e reconhecidos benefícios à saúde humana, conforme os trabalhos realizados no campo da nutrição, tem tudo para vir a ocupar um lugar de destaque na alimentação dos diferentes grupos populacionais do planeta [87, 90].

Destacam-se também as propriedades reológicas da proteína da soja que pode atuar como aglutinante, como agente retentor de água, disperso ou suspenso, contribuindo também para a formação e estabilização de emulsões. Desta forma é utilizada em carnes picadas e moídas, massas para pastéis, cremes para cafés, leite, maionese, molhos para salada, pastas congeladas e em outras preparações, destacando-se ainda o papel das fibras solúveis e insolúveis na qualidade dos produtos finais [13, 101, 113].

Sendo as proteínas da soja tensoativas, agrupam-se nas interfaces óleo/água, reduzindo a tensão superficial, aumentando a absorção de gordura, reduzindo as perdas nas diversas etapas do processamento e, desta forma, ajudando a manter as dimensões originais dos alimentos, evitando o seu encolhimento. O melhoramento da textura é talvez a propriedade mais importante das proteínas de soja, pois no iogurte e nas salsichas as suas propriedades geleificantes contribuem significativamente [2, 9, 35].

Em resumo, a adição da proteína de soja aos diversos alimentos permite obter os seguintes benefícios: retenção de umidade, textura, ligamento, coesão, rendimento final, retenção dos atributos de qualidade em geral, maior teor protéico, cor agradável, maior "shelf-life", melhor palatabilidade, aumento global da nutrição e melhor aparência visual [25].

A soja apresenta ainda outros compostos que merecem destaque como os fosfolipídios, tanto pelas suas propriedades emulsificantes, como pela sua atuação nas funções da memória e da saúde do coração. Portanto, estes compostos apresentam um uso potencial como ingredientes na formulação de cereais,

tabletes ou barras de doces e bebidas não-alcoólicas. Estudos clínicos utilizando a fosfatidilserina estão sendo realizados, visando controlar o "stress" [20, 29, 36].

Os polissacarídeos solúveis da soja, além de fonte de fibras, podem ser usados como emulsificantes, adesivos e estabilizantes. Sua fácil solubilidade na água tanto quente como fria, sem a formação de géis, permite a preparação de soluções aquosas com concentração em torno de 30%, as quais possuem baixa viscosidade, resistência ao calor e aos ácidos e são pouco afetadas pelos sais. Películas transparentes comestíveis e solúveis em água podem ser preparadas na forma de soluções aquosas [41, 53, 71, 90].

Dentre todos os produtos existentes à base de soja, pela sua fácil obtenção mesmo em nível caseiro, o extrato hidrossolúvel de soja, popularmente conhecido como "leite de soja", ocupa um lugar de destaque, em parte decorrente dos trabalhos que foram realizados pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) de Campinas.

O primeiro trabalho que avaliou as cultivares para obtenção do leite de soja foi feito utilizando-se 25 amostras diferentes do material produzido no Brasil.

Além da composição química foi também determinado o índice de dispersão de proteínas (IDP) das mesmas. Todos os leites foram obtidos em escala de laboratório. Em função dos resultados encontrados para sólidos totais, proteínas e lipídios, foram selecionadas as dez melhores cultivares para uma posterior análise organoléptica. Pelos resultados obtidos, as cultivares PL-1 e IAC-7 foram as que produziram leite de melhor sabor, mas em termos de rendimento de extração, a cultivar DAVIS destacou-se das demais [106].

Um outro trabalho foi elaborado utilizando-se a técnica da desintegração do grão de soja em água em ebulição. O processo desenvolvido pelo ITAL, inicialmente em escala piloto e depois em escala industrial, permitiu a produção, em modo contínuo, do leite de soja tanto na forma pasteurizada como na forma esterilizada.

O processo obteve para cada Kg de soja descascada um valor médio de 1,7 Kg de resíduos com 15% de sólidos e 9,3 Kg do extrato protéico com uma

composição média de 3,5% de proteína, 2,2% de lipídios e 6,5% de sólidos totais. O Coeficiente de Eficiência Protéica (CEP) e a Relação Protéica Líquida (RPL) atingiram cerca de 75% da caseína com uma aceitação por parte dos provadores de 77% [26].

Posteriormente, em outro trabalho realizado no ITAL [40], utilizou-se a variedade de soja Santa Rosa com o objetivo de se chegar a um produto de maior aceitação. Para isso, o leite foi formulado com adição de 2% de sacarose, 4% de xarope de amido de milho hidrolisado, 1,5% de gordura de coco, 0,4% de NaCl e 0,09% de essência com sabor artificial de nata. O produto foi homogeneizado à pressão de 180Kgf/cm², à temperatura de 90°C e esterilizado à temperatura de 140°C durante 7 segundos.

Os testes de aceitação realizados obtiveram índices de 71,7%, com 12% de indiferentes e 16,3% de rejeição, tendo participado dos mesmos 309 pessoas do sexo masculino e 380 pessoas do sexo feminino. As porcentagens de consumo do leite de soja com café (28%) e com chocolate (26%) sugeriram que seu consumo foi mais como alternativo do leite de vaca do que como uma nova bebida a ser oferecida ao público [40].

O trabalho anterior sugeriu que as quantidades de aditivos usadas poderiam ser menores, se fosse possível a eliminação dos compostos responsáveis pelo sabor indesejável do leite de soja numa escala maior. Deste modo, surgiu a idéia de se utilizar um meio de desodorizar o leite de soja.

Foi desenvolvido um processo de desodorização baseado no "stripping", modificado pela utilização de uma coluna recheada com anéis de vidro e utilizando vapor de água superaquecido em contra-corrente ao leite cuja temperatura ficou em torno de 95°C.

A análise sensorial realizada no produto desodorizado indicou maior aceitabilidade do mesmo em relação ao leite bruto, mostrando, portanto, que o processo utilizado tem condição de melhorar o sabor do leite de soja [38].

O leite de soja, pela sua condição de elaboração e pela grande procura de proteína no mundo de hoje, tem condições de se colocar à altura do leite bovino,

nutricionalmente falando, e está difundido pelo mundo, justificando-se, assim, o grande número de trabalhos realizados na área até o momento. Como decorrência deste fato e com o avanço tecnológico, é possível a elaboração de um grande número de produtos formulados à base do extrato hidrossolúvel de soja o qual começa a ganhar mercado. Estes produtos ainda não permitem um aumento do teor de proteína através da maior adição do extrato hidrossolúvel porque este ainda apresenta problemas relativos à presença de sabores indesejáveis provenientes de diferentes compostos, uns presentes nos grãos e outros formados durante o seu processamento. Estes compostos formados compreendem aldeídos, acetais, ésteres, compostos sulfurados, hidrocarbonetos, compostos aromáticos, cetonas, álcoois e outros como o 1-pentilfurano, o ácido hexanóico e a γ -nonalactona [111].

Vários processos e tratamentos já foram utilizados nas tentativas de melhorar o sabor do extrato hidrossolúvel de soja, mas até agora nenhum deles se mostrou eficaz, quando isoladamente aplicado. Por outro lado, temos ainda que considerar a variedade dos grãos associada à sazonalidade, à latitude de cultivo e ao processo de obtenção do produto, no caso, o leite de soja.

Por meio da cromatografia gasosa, é possível observar a diminuição na formação de compostos voláteis quando a soja é desintegrada em água a temperaturas de 80, 90 e 100°C durante 10 minutos [112].

O processo de moagem dos grãos em pH ácido mostrou-se eficaz quando combinado com o tratamento térmico, após neutralização com NaOH; o leite resultante se mostrou livre de sabor desagradável e a análise cromatográfica não acusou a presença de pentanal e hexanal [68].

A desintegração do grão de soja em água, a temperaturas entre 80° e 100°C, mostrou-se ser um fator altamente eficaz para inibir o aparecimento do sabor estranho [15].

Por outro lado, a maceração dos grãos em água durante uma noite, seguida de um tratamento térmico durante 2 minutos à temperatura de 100°C, elimina o sabor típico de soja crua [31].

Trabalhos anteriores já evidenciaram a presença de vários compostos voláteis no leite de soja, cuja natureza química pode comprometer, inclusive, a potabilidade do produto se não for realizada uma diminuição da concentração dos mesmos.

Os sabores estranhos em produtos de soja são, de modo geral, divididos em dois tipos: os sabores semelhantes à erva e os sabores amargos.

Os sabores amargos têm como precursores os aminoácidos pela ação da proteólise e da deterioração oxidativa [47]. Também ocorrem outros compostos responsáveis pelo sabor desagradável da soja, tais como, os compostos voláteis, derivados enzimática ou termicamente de precursores não-voláteis, como vitaminas, lipídios, carboidratos, peptídios e proteínas [21, 64, 78, 92, 97].

Outros compostos não-voláteis também estão associados ao sabor característico dos produtos à base de soja, incluindo-se diversos compostos derivados de lipídios, vários compostos fenólicos e açúcares [4, 55, 85].

As saponinas são as responsáveis pela adstringência, a qual pode ser reduzida pela eliminação mecânica do hipocótilo [78, 85].

As agliconas das isoflavonas têm sua presença relacionada com a atividade da β -glicosidase presente no tecido vegetal, apresentando sabor mais intenso e desagradável que a forma glicosídica [4, 85].

O sabor típico de soja crua ou de erva tem limitado a inclusão do leite de soja no hábito alimentar do brasileiro. Ele aparece quando os grãos são rompidos e a enzima lipoxidase ou lipoxigenase entra em contato com substâncias específicas existentes no grão de soja. Isso é corroborado pela separação de aproximadamente 80 compostos voláteis, tendo sido identificados mais de 40 deles constituídos por aldeídos, cetonas e álcoois, sendo o hexanal o componente volátil que se forma em maior quantidade. A maioria tem odor desagradável, notadamente a etilvinilcetona, que apresenta sabor típico de soja crua. Este foi praticamente um dos primeiros trabalhos que conseguiu separar o número de compostos acima citados, fazendo a confirmação dos mesmos com auxílio da espectrometria de massas e a comparação com padrões puros [111]. Foi realizada

também uma análise dos compostos extraídos do “leite de soja” por cromatografia gasosa, combinada com olfatométrica e espectrometria de massas e não se observou uma contribuição individual marcante de qualquer composto existente no “beany flavor”. Concluiu-se que os principais compostos que contribuem para este citado sabor são, pela ordem de importância o trans,trans-2,4-nonadienal, o trans,trans-2,4-decadienal, o hexanal, o 2-pentilfurano, o 1-octeno-3-ona, o trans-2-nonenal, um composto não identificado cujo índice de Kovats é da ordem de 1561 numa coluna de DB WAX e o trans,cis-2,4-nonadienal [66]. Na análise de isolados protéicos de soja com a mesma técnica já descrita, os compostos com odor mais forte detectados foram o ácido butírico, o éster metílico do ácido 2-metilbutírico, a 2-pentilpiridina e o hexanal. A análise sensorial mostrou que a 2-metilpiridina tem um limiar de odor em água de 12 ppt, aproximadamente cinquenta vezes menor que os limiares de odor publicados em trabalhos anteriores, possuindo um gosto que irrita a garganta e um odor de erva cuja intensidade é a maior já estabelecida para os isolados protéicos de soja [10]. Muitos dos compostos que contribuem para o odor do “leite de soja”, tais como o 1-octeno-3-ol, 1-pentanol e hexanol, não foram detectados pela mesma técnica no isolado protéico de soja, mesmo utilizando-se a técnica de concentração de voláteis no “headspace” [11].

1.4 – Lipoxidasas da Soja

Na soja foram encontradas inicialmente duas lipoxidasas muito ativas com propriedades bem diferentes: uma delas tem especificidade pela trioleína em pH 5,3 e a outra pelo ácido linoléico em pH 8,1 [67]. Para a primeira lipoxidase foi sugerido o nome de “lipoxidase de triglicerídio” e para a outra o de “lipoxidase de ácido graxo”. Uma isoenzima de lipoxidase de soja foi isolada e purificada, diferindo das duas primeiras com relação à eluição da coluna DEAE-Sephadex, à eletroforese de disco, ao perfil da atividade vs. pH, à preferência pelo éster ácido e à estabilidade pelo calor. Através da cromatografia em coluna de Sephadex DEAE-A50 e com auxílio da focalização isoeletrica, foi encontrada uma terceira

isoenzima da lipoxidase de soja. Assim, as lipoxidases 1, 2 e 3 apresentam atividade em pH de 9,5, 6,5 e 4,5 a 9,0, respectivamente, sendo suscetíveis aos efeitos do íon cálcio em suas atividades [24]. Existe a possibilidade dessas isoenzimas serem dímeros hibridizados de espécies monoméricas, uma vez constatado que a lipoxidase purificada de soja comercial contém duas subunidades de peso molecular (54000) e que cada cadeia protéica apresenta quatro resíduos do grupo sulfidril livre e quatro resíduos de meia cistina [103]. Sabe-se ainda que cada uma das isoenzimas da lipoxidase da soja possui um átomo de ferro por molécula, não sendo conhecida a natureza da ligação dele à enzima. A remoção do ferro pode ser feita pela desnaturação da enzima e com o auxílio do ácido 4,5-diidroxi-m-benzenodissulfônico [86]. As especificidades das lipoxidases pela posição do oxigênio nos ácidos graxos insaturados C-9 vs. C-13 diferem em função das diferentes fontes utilizadas nas suas obtenções. Deve ser também mencionada a especificidade estérica de oxigenação que segue a regra D no C-9 e a regra L no C-13 para todas as lipoxidases [42]. A especificidade da lipoxidase pelos diferentes substratos foram estudadas empregando-se uma série de ácidos poliinsaturados com diferentes comprimentos de cadeia, número e posições de ligações duplas, concluindo-se que as velocidades ótimas de reação são conseguidas com os ácidos que contêm ligações duplas no sexto e nono átomo de carbono a partir do grupo metila, não havendo impedimento estérico com relação ao grupo carboxila terminal. O isômero 9,12 foi o melhor substrato, enquanto que o isômero 13,16 foi apenas 50% efetivo [54].

Os substratos para serem adequados à ação da enzima precisam ter uma estrutura na qual é necessária a presença do grupo *cis,cis*-1,4-pentadieno [50, 107]. Existe consenso entre vários autores de que a introdução do oxigênio nos substratos ocorre sempre na posição ω -6 [45, 50, 54, 107]. A oxidação do substrato ocorre porque a cadeia protéica da lipoxidase pode reter momentaneamente um elétron do grupo α -metileno do linoleato. No início da reação forma-se um complexo enzima-substrato, aparecendo um radical livre no grupo α -metileno pela remoção do átomo de hidrogênio. Ao mesmo tempo, o oxigênio absorvido pela lipoxidase é transferido para a molécula do linoleato. Em

decorrência disso as ligações sofrem isomerização, tendo, como resultado, a conjugação e a produção do radical *cis-trans* peroxila. A seguir, o oxigênio do radical peroxila interage com a cadeia protéica da lipoxidase e a mesma pode transferir o elétron para o oxigênio, retirando o H^+ do meio ou transferindo o radical hidrogênio, acarretando assim a formação do hidroperóxido de linoleato [98]. Sendo os hidroperóxidos produtos iniciais da autooxidação, sua decomposição produzirá diferentes produtos secundários, tais como compostos voláteis, compostos oxigenados e polímeros [42].

O pH do meio e a natureza da lipoxidase são os fatores que determinam as quantidades dos compostos carbonilas voláteis formados a partir da reação com ácido linoléico e linolênico.

Os tratamentos dos ácidos linoléico e linolênico com as lipoxidases 1, 2, e 3 em seus pHs de atividade máxima mostraram que as lipoxidases 2 e 3 formam uma quantidade de compostos carbonilas maior do que a lipoxidase 1. Quando o ácido linolênico é usado como substrato da lipoxidase 3, formam-se os seguintes compostos: 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 %. O percentual dos compostos carbonilas identificados, quando se utiliza a lipoxidase 2, é semelhante. Quando se utilizam a lipoxidase 1 e o ácido linolênico como substrato, formam-se 18 moles % de propanal e 5 moles % de 2-trans-pentenal [48].

A formação dos compostos carbonilas, a partir de hidroperóxido de ácido linoléico na ausência de oxigênio, depende da presença da lipoxidase nativa e dos ácidos graxos, seu substrato normal. A retirada do radical hidrogênio a partir do hidroperóxido em condições anaeróbicas pode ser também a causa da formação do radical peroxila o qual sofre rearranjos estruturais posteriormente [45]. Durante a reação anaeróbica do ácido linoléico catalisada pela lipoxidase, a enzima férrica é reduzida à ferrosa pelo ácido linoléico e é, posteriormente, oxidada pelo ácido 13-hidroperóxido linoléico. Catalisada pela lipoxidase 1, a reação prossegue até que um dos dois substratos seja consumido, isto é, ou o ácido linoléico ou o 13-

hidroperóxido linoléico. Independentemente das proporções molares iniciais dos citados substratos, 50% do hidroperóxido consumido são convertidos em ácidos oxodienólicos [107].

A velocidade da reação, independentemente do pH, é proporcional à concentração da enzima por ocasião da decomposição aeróbica do hidroperóxido pela mesma [3]. O ácido 13-L-hidroperóxido linoléico, embora mais estável que o ácido 13-L-hidroperóxido linolênico, decompõe-se mais rapidamente. Dentre os produtos da decomposição do ácido 13-L-hidroperóxido linoléico destacam-se o ácido 9-oxo-13-epoxi-12*trans*-10*trans*-octadecenóico e o ácido 13-epoxi-9-hidroperoxi-12*trans*-10*trans*-octadecenóico [43, 44].

Durante a oxigenação dos ácidos graxos foi observada a destruição autocatalítica da lipoxidase. Os valores da constante de velocidade desta inativação são maiores para os ácidos graxos com maiores números de insaturações e os hidroperóxidos formados têm um papel essencial na reação autocatalítica global [99].

O nível de atividade da lipoxidase da soja no grão é controlado geneticamente e não depende das condições ambientais [22]. Assim, a seleção das variedades de soja para determinados usos leva em consideração os teores mais baixos de lipoxidase.

Nos casos de impossibilidade de obtenção de grãos de soja com baixa atividade de lipoxidase, a saída seria a remoção dos compostos resultantes da ação da lipoxidase ou a sua inativação [112].

As tentativas de inativação com aquecimento seco à temperatura de 100°C durante 30 minutos não foram bem sucedidas, o que ocorreu quando a temperatura foi aumentada para 200°C durante 30 minutos.

Grãos com 6% de umidade, tratados com calor seco entre 82°C e 103°C, nos tempos de 28 minutos e 62 minutos, respectivamente, apresentaram uma taxa de inativação da enzima menor que 50%, a temperaturas de 82°C, enquanto que à temperatura de 103°C esse valor atingiu 98,4%. Uma correlação interessante foi observada entre o aumento da umidade do grão e a diminuição do tempo de

inativação da lipoxigenase, quando se utilizou vapor livre à pressão atmosférica, o que permitiu estabelecer condições ótimas de inativação da enzima [94].

Foram feitas combinações de diferentes taxas de umidade dos grãos e maceração em diferentes tampões à base de carbonato, utilizando-se aquecimento com vapor à pressão atmosférica e os resultados apontaram uma velocidade maior de inativação com taxas de umidade mais altas e tampão carbonato com pH da ordem de 10,8 [92].

O tratamento térmico combinado com outros procedimentos acima descritos, quando utilizado separadamente, melhora a qualidade nutricional das leguminosas de uma maneira geral, devido à inativação dos inibidores de proteases e também das lectinas. Demonstrou-se que derivados de soja processados termicamente apresentavam um aumento progressivo do coeficiente de eficácia protéica (CEP) e da digestibilidade aparente com a diminuição da atividade inibitória de tripsina [18, 19]. No entanto, o tratamento térmico prolongado para a completa destruição dos inibidores, além de desnecessário, provoca diminuição da digestibilidade protéica com a consequente perda do valor nutricional e alterações das propriedades funcionais das proteínas. Tendo em vista um balanço entre estes dois efeitos, a maioria dos produtos comerciais de soja retêm 5 a 20% da atividade inibitória originalmente presente na soja crua [72].

De modo geral, aquecimento úmido ou aquecimento por vapor direto, quando utilizados isoladamente em grãos de soja, são eficientes na inativação da lipoxigenase.

Alguns ácidos minerais e orgânicos foram testados para acidificar o meio. Os grãos de soja decorticados com 6% de umidade, quando cozidos por imersão durante 15 minutos, apresentaram diminuição da atividade da lipoxigenase a 66°C, a qual desaparecia quando a temperatura atingia 82°C [8].

A adição de soluções de HCl ou NaOH na concentração de 1% reduziu pela metade a atividade da enzima por um período de aquecimento de 15 minutos a 49°C.

Foram desenvolvidos outros métodos de inativação com o emprego de soluções etanólicas, com concentrações variando de 15 a 45%, à temperatura de 40 a 60°C, por um período de 2 a 6 horas, conseguindo-se eliminar a atividade da lipoxigenase [14]. A maceração em solução etanólica com concentração de 40 a 60%, durante 24 horas à temperatura de 25°C, originou produtos finais com bom sabor, uma vez que a eliminação do etanol removia grande parte dos compostos voláteis indesejáveis, que porventura estivessem presentes [34].

Tentativas para uma inativação eficiente da enzima foram feitas com a combinação adequada da temperatura, tempo e concentração de etanol com bons resultados [14].

Foram feitas soluções etanólicas contendo bicarbonato, carbonato e hidróxido de sódio; a maceração dos grãos nestas soluções foi feita à temperatura de 60°C em diferentes tempos, concluindo-se que 5 horas de tratamento foram suficientes para se eliminar a atividade da lipoxigenase [6].

Grãos não-ulcerados necessitam de um tempo maior à mesma temperatura. Vários testes foram realizados utilizando-se NaHCO_3 em diferentes concentrações, temperaturas e tempos de aquecimento [69, 83, 91].

Efetuaram-se também, foram efetuados tratamentos com Na_2CO_3 e NaOH afim de se avaliar seu efeito na maceração dos grãos e, conseqüentemente, nos efeitos resultantes [63]. Foram avaliados os efeitos das variações de pH utilizando-se soluções de NaHCO_3 , Na_2CO_3 e NaOH , tendo sido observado o decréscimo da aceitação do leite com o aumento do pH, acarretado pelo uso do Na_2CO_3 e do NaHCO_3 . Segundo os autores, a concentração de sódio é um mecanismo mais efetivo para melhorar o sabor do leite do que a mudança de pH [17]. A utilização do íon cúprico também foi investigada como inibidora da formação do sabor estranho durante a preparação do leite. O tratamento dos grãos com 12ppm do íon cúprico, juntamente com NaHCO_3 à temperatura de 80°C, durante 12 minutos, melhorou o sabor substancialmente e reduziu o tempo de maceração para 15 minutos [56]. O melhoramento nutricional do leite também foi abordado por vários pesquisadores que concluíram ser este melhoramento dependente da variedade

da soja, das condições e tempo de armazenamento dos grãos, do teor inicial de umidade, da proporção soja e água, da temperatura e dos procedimentos de extração [16, 75, 100, 106, 110].

O teor de proteína do leite depende da variedade da soja o que foi avaliado, utilizando-se diferentes variedades com a mesma técnica de extração [16, 75, 106]. Tempo e temperatura foram também investigados na absorção de água pelos grãos, a qual diminui em função do tempo e aumenta em função da temperatura [58, 108, 110].

Outro aspecto estudado da maceração está ligado à perda de sólidos e à natureza dos sólidos perdidos, concluindo-se que 7 a 16% deles são proteínas [108].

A maceração ainda deve ser contínua para facilitar a desintegração do grão durante o preparo do leite [73].

O tempo e a temperatura influenciam na composição do leite obtido, havendo aumento dos lipídios e diminuição dos teores de carboidratos, sem haver alteração no teor de proteína [110]. O leite preparado com grãos de soja macerados em solução de Na_2CO_3 0,4M apresentou composição semelhante à do leite obtido de grãos macerados em água [63].

Quando foi usada uma solução de NaOH 0,2M, os teores de proteína, carboidratos e lipídios foram menores em relação aos outros tratamentos. O teor de proteína do leite sofre uma influência muito grande da relação soja x água. São citadas várias proporções utilizadas, variando de 1:6 a 1:15, sendo a 1:10 a mais utilizada [16].

Da mesma forma, o teor de proteína no leite pode variar entre 2,4% a 4,2%.

O rendimento máximo em sólidos totais foi conseguido com grãos não-macerados triturados à temperatura de 60°C, mas a partir de 70°C a percentagem de recuperação da proteína do leite começava a diminuir ligeiramente [110].

Por outro lado, quando a desintegração do grão é efetuada em meio ácido, ocorre um aumento nos teores de proteína e gorduras extraídas [68].

A comparação entre três métodos de processamento para a obtenção do leite de soja, alternando a ordem de aquecimento, desintegração e maceração, mostrou que o aquecimento do grão inteiro após a maceração, mas antes da desintegração, produziu um leite com baixo teor de sólidos e baixa recuperação da proteína [58].

Uma das etapas do processamento do leite é a fervura em pH 6,7 durante 60 minutos, visando reduzir a atividade do inibidor de tripsina, o que acarreta uma recuperação de proteínas e sólidos da ordem de 73% e 61%, respectivamente. Estes dados sugeriram a utilização de vapor à temperatura de 154°C durante 40 segundos em pH 6,7, conseguindo-se elevar as taxas supra citadas para 90% e 86%, com baixa atividade do inibidor de tripsina. Avaliou-se o efeito térmico no valor nutricional da proteína do leite de soja quando foi aquecido à temperatura de 93°C durante 0,5, 1, 2, 4 e 6 horas, não acarretando efeitos prejudiciais ao crescimento em ratos no teor de lisina disponível e no Quociente de Eficiência Protéica (QEP) [59].

O aquecimento à temperatura de 121°C durante 5 a 10 minutos permitiu atingir um valor máximo da qualidade nutricional do leite. Assim, um baixo valor de lisina disponível é indicador de leite superaquecido, assim como percentagens altas do inibidor de tripsina residual indicam subaquecimento do produto [49].

A mistura dos leites de soja e de vaca em diferentes proporções não melhora significativamente o valor nutricional da proteína, apresentando, como vantagem, a melhoria da palatabilidade do produto final com aumento da aceitação por parte do consumidor [32].

A influência do processamento térmico na obtenção do leite de soja foi avaliada em função das variações dos teores de aminoácidos encontradas, quando diferentes condições de tempo e temperatura foram utilizadas na obtenção do leite. Isto foi corroborado quando se utilizou temperatura de 121°C durante 60 minutos pela diminuição dos teores de cistina e triptofano com conseqüente diminuição do QEP.

Para a inativação da lipoxigenase foi utilizada radiação de microondas de 2450 MHz que não provocou grande alteração na solubilidade da proteína, sendo a eficácia do tratamento dependente da umidade inicial do grão, a qual é da ordem de 8,7%. A utilização da radiação de microondas por 240 segundos permitiu obter um leite com sabor suave [109].

Um processo que também pode ser aplicado para a remoção dos compostos indesejáveis do leite de soja é o “flashing” a vácuo e, num trabalho a esse respeito, foram observados o comportamento do etanol e do hexanal, ambos componentes dos compostos voláteis do leite de soja [110]. O etanol já está presente nos grãos moídos de soja em quantidades razoáveis [30], enquanto o hexanal é produzido por ação da lipoxigenase 2 e uma hidroperóxidolase [76, 77].

Foram também comparados o leite de soja e a água, com relação à retenção do etanol e do hexanal, observando-se que a retenção do último é fortemente aumentada nos sistemas contendo óleo em emulsão, como no leite de soja. A presença do óleo não afetou a retenção do etanol. Embora, o “flashing” a vácuo funcione bem para muitos produtos, no caso do leite de soja observa-se frequentemente um fenômeno de reversão do aroma envolvendo o hexanal [1].

De um modo geral, dentre todos os tratamentos propostos, os que apresentaram grande eficácia também têm um custo de instalação, em termos industriais, mais onerosos, ao passo que a maioria dos tratamentos menos dispendiosos apresentam resultados medianos. Uma vez que no preparo do leite são utilizadas variedades de soja contendo lipoxigenase, sua ação não pode ser totalmente inibida e se propaga segundo o efeito dominó, desencadeado pelos radicais livres formados pela interação enzima substratos, gerando um grande número de compostos que passam a fazer parte do produto. Esses compostos isolados e identificados a partir de 1970 [111] possuem LD50 apreciáveis para os consumidores que utilizam o produto diariamente. Por outro lado, existe ainda a possibilidade dos mesmos ficarem ligados a determinados sítios da proteína da soja, o que já foi comprovado pela ligação formada durante o processamento do leite entre o hexanal e a glicinina e a beta-conglicinina [84]. Um estudo experimental feito para secagem do leite de soja desodorizado em “Spray Dryer”

mostrou bem a importância da ligação do hexanal com as citadas frações protéicas. O equipamento anteriormente tinha sido utilizado para a secagem de um produto aromatizado e no qual, após sua lavagem habitual, foi secado o leite. Surpreendentemente, o leite seco apresentou o aroma utilizado no produto anterior, o que prova a existência da formação de sítios que ficaram disponíveis para se ligarem ao aroma em questão. Assim, se a metodologia analítica aplicada para a determinação dos compostos formados pela lipoxigenase sobre a fração lipídica do grão de soja consegue removê-los para identificá-los e quantificá-los, as condições de desodorização com vapor de água superaquecido permitem obter resultados similares.

O processo de desodorização utilizado no presente trabalho pode ser analisado sob dois pontos de vista. Primeiramente, como um instrumento de remoção total ou mesmo parcial de uma série de compostos indesejáveis, não só pelos maus atributos organolépticos que conferem ao produto, mas também pelas lacunas que ficaram nos sítios ativos da proteína, os quais têm tendência de se ligarem a compostos existentes nos sucos naturais de frutas e nos produtos utilizados na saborização artificial do leite, além da remoção do hexanal dissolvido na fração lipídica do leite de soja. A indústria utiliza uma grande parte de processos para a melhoria do leite de soja, estando excluída a desodorização com vapor superaquecido. Os produtos encontrados no mercado brasileiro, embora saborizados com sucos de frutas naturais, apresentam baixos teores de proteína, na maioria das vezes inferiores a 1%. Poderiam até ser chamados de suco de frutas com adição limitada de "leite de soja".

A diluição do "leite de soja" acrescido de sucos de frutas naturais e sua saborização com produtos artificiais são processos que mascaram uma grande parte dos sabores desagradáveis do produto, mas não são a solução para o problema.

2 – OBJETIVOS

2.1 – Preparar leite de soja por três métodos distintos.

2.2 – Avaliar um equipamento para desodorização das amostras obtidas de leite de soja por arraste de vapor d'água superaquecido.

2.3 – Determinar a composição centesimal das amostras de leite de soja desodorizadas e não-desodorizadas para verificar se há ou não perdas de nutrientes causadas pela desodorização.

2.4 – Avaliar a eficiência do processo de desodorização através da análise sensorial das amostras desodorizadas e não-desodorizadas.

2.5 – Avaliar por cromatografia gasosa a eficiência do processo de desodorização, através da remoção de seis compostos adicionados previamente, análogos aos existentes nas amostras de leite de soja.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Material e Equipamentos

3.1.1 – Soja

A matéria-prima utilizada foi soja semente em grãos, da variedade BR-16, adquirida da Brejeiro Sementes, safra de 1999.

3.1.2 – Construção do desodorizador em escala de laboratório

Para os testes de desodorização, foi montado um equipamento em nível de bancada (Figura 1), o qual consiste de um gerador de vapor com paredes de aço inox, com capacidade de geração de vapor de 1040 L/h e de um aquecedor para o vapor gerado, composto por uma serpentina feita de tubo de aço inox de 0,635cm de diâmetro, com 12 voltas, com espaços de 10cm entre elas e comprimento total de 3,5m, encerrada em um cilindro metálico de 15,5cm de diâmetro e 18cm de altura termicamente isolado. No centro do cilindro foi colocado um bico de Bunsen, cuja regulagem permitiu obter o vapor superaquecido do qual a temperatura foi monitorada através de um termômetro intercalado entre a saída do aquecedor e a entrada da coluna de desodorização, sendo a faixa de temperatura de trabalho situada entre 140 e 160°C. O vapor foi injetado pela parte inferior da coluna de vidro de 78cm de altura por 6cm de diâmetro interno, contendo anéis de vidro até a altura de 60cm.



Figura 1 - Equipamento para desodorização de leite de soja.

O “leite de soja” recém preparado continuou a ser aquecido até uma temperatura de 95°C em um balão com capacidade de 10 litros, colocado em uma manta de aquecimento. A injeção do leite na coluna começou assim que a pressão de vapor interna do balão atingiu um valor suficiente para que o leite entrasse pela parte superior da mesma, cuja derivação, acoplada a um condensador, recolheu e condensou os compostos voláteis arrastados pelo vapor superaquecido.

Os anéis de vidro que preencheram a coluna têm comprimento médio de 0,8cm, diâmetro interno médio de 0,6cm e diâmetro externo médio de 0,8cm.

A massa de anéis utilizada na coluna foi da ordem de 980g, equivalente a uma superfície de troca de $0,94\text{m}^2$.

3.1.3 – Outros equipamentos

Os equipamentos de laboratório utilizados nas análises físico-químicas, além da vidraria e demais utensílios, foram;

- Balança analítica Sartorius modelo A 200 S;
- Balança técnica Mettler modelo P 1200;
- Estufa para determinação de umidade marca Precision Scientific;
- Mufla marca EDG modelo FC-1;
- Extrator tipo Butt com chapa de aquecimento marca Eletro Thermal;
- Digestor e destilador para determinação de nitrogênio marca Labconco;
- Rotavapor marca Büchi EL-130;

- Cromatógrafo a gás marca Varian modelo 3700 com coluna capilar (DB WAX 30m x 0,25mm, $1\mu\text{m}$); injetor split, razão 50:1 e detector por ionização em chama e uma workstation com software BORWIN. As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna com programação de temperatura de 50°C a 230°C , com uma razão de aquecimento de 4°C por minuto, com um tempo inicial isotérmico de 1 minuto. O gás de arraste usado foi o H_2 com uma vazão de 3mL/min ; gás “make-up” N_2 a 30mL/min ; temperatura do injetor 230°C e temperatura do detector 270°C .

- Liquidificador marca Waring Commercial Blendor de três velocidades;

Os reagentes utilizados nas análises químicas foram todos de grau analítico, das marcas Sigma e Merck.

3.2 – Métodos

3.2.1 – Composição centesimal do grão de soja e das amostras de leite

Nas amostras de grãos de soja e de leite de soja foram realizadas determinações de umidade, cinzas, proteína, lipídios totais e sólidos solúveis. As metodologias utilizadas para essas determinações estão descritas na AOAC, 17^a edição [7].

Cada determinação foi realizada em triplicata.

3.2.2 – Obtenção de leite de soja

O leite de soja foi obtido segundo três métodos diferentes descritos a seguir:

1) Após lavagem, 500g de grãos de soja com casca foram macerados com água na proporção de 1:2 durante 12 horas à temperatura de 25°C e imediatamente triturados com água em ebulição na proporção de 1:10 durante 3 minutos em um Waring Blendor à velocidade máxima e à temperatura de 90-95°C durante este tempo. Em seguida a mistura foi separada utilizando-se um pano de dessora.

2) Os grãos de soja, com casca após lavagem, foram triturados da maneira anteriormente descrita, com água na proporção 1:10 durante 3 minutos, com a temperatura mantida a 90-95°C durante este tempo e a mistura foi separada como descrito anteriormente.

A manutenção da temperatura no copo metálico do liquidificador foi mantida a 95°C isolando-se o mesmo com uma camada de lã de rocha.

3) A terceira amostra de leite foi preparada utilizando-se a “vaca mecânica” da prefeitura da cidade de Nova Odessa.

Segundo esse processo, 4kg de soja foram descascados em equipamento apropriado e macerados durante 2 horas em água fria na proporção de uma parte de grãos de soja para duas partes de água. A seguir, os grãos foram separados da água de maceração e colocados em uma quantidade de 40 litros de água fervente durante 2 minutos e em seguida foram triturados durante 4 minutos na mesma água, sendo o produto resultante centrifugado e o leite separado do seu resíduo sólido através de uma peneira existente no equipamento. Este processo tem um rendimento de 32 litros de leite para cada 4kg de grãos de soja e a desodorização do produto foi efetuada 30 minutos após sua obtenção.

3.2.3 – Avaliação do desodorizador

A eficiência do equipamento construído, conforme o item 3.1.2 para a desodorização das amostras de leite de soja produzidas pelos três processos citados no item 3.2.2, foi avaliada com o auxílio da análise sensorial descritiva quantitativa e por cromatografia gasosa (3.2.5).

A análise descritiva-quantitativa das amostras de leite de soja produzidas pelos três processos citados, desodorizadas e não-desodorizadas, permitiu avaliar até cinco atributos de odor e sabor que mais discriminaram as amostras e mostraram o melhoramento do produto devido ao processo de desodorização.

3.2.4 – Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

Foram avaliadas seis amostras de leite de soja, sendo três amostras desodorizadas e três não-desodorizadas por ADQ, através dos atributos de odor e sabor que mais discriminam as amostras e mostram a eficiência do processo de desodorização quanto à redução das características sensoriais de feijão cru (bean flavor).

A metodologia empregada para a avaliação sensorial dos produtos em estudo foi uma adaptação da ADQ de acordo com STONE & SIDEL [104], visando identificar e descrever as principais características do sabor e aroma de amostras de leite de soja obtidas por processos tecnológicos diferentes e submetidas ou não à desodorização, além de medir a intensidade das sensações percebidas.

3.2.4.1 – Recrutamento e pré-seleção de provadores

O recrutamento dos provadores (Figura 2) e pré-seleção com base em interesse, disponibilidade de tempo e aspectos de saúde permitiu constituir um painel sensorial de dez provadoras, mulheres, estudantes da Faculdade de Nutrição da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC), na faixa etária de 17 a 21 anos.

Para a seleção de provadores, com base nas habilidades discriminativas, foi aplicado, após orientação sobre a análise a ser realizada, o teste Triangular (com duas repetições em sessões diferentes), totalizando 4 testes, utilizando a ficha da Figura 3. Como critério de seleção foi escolhido um mínimo de 75% de acertos no teste triangular.

Nome: _____ Data: _____
Fone: _____ E-mail: _____
Sexo: _____ Idade: _____ Estado civil: _____
Qual seu horário disponível para participar dos testes?
Manhã _____
Dias da semana: _____ Horários: _____
Tarde _____
Dias da semana: _____ Horários: _____

1. Por favor indique se você tem algum tipo de problema (alergia, desconforto, não gosta, etc.) de algum dos seguintes alimentos e especifique quais (ex. Carnes Qual? Rã):

Queijo _____	Carnes _____
Chocolate _____	Leite _____
Ovos _____	Frutas _____
Condimentos _____	Vegetais _____
Pescados _____	Outros _____

2. Por favor, indique se você está fazendo alguma dieta especial:

Diabetes _____	Baixa caloria _____
Alta caloria _____	Baixo teor de sal _____
Dieta não especifica _____	Outra _____

3. Você está tomando algum remédio ?
Não _____ Sim _____ Qual _____

Figura 2 - Questionário utilizado para o recrutamento de candidatos para a equipe de análise sensorial segundo FERREIRA *et al.*[39].

Nome:	data:
Por favor, prove as amostras de leite de soja codificadas da <u>esquerda para direita</u>. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Identifique com um círculo a amostra diferente.	

comentários: _____	

Figura 3 - Ficha para avaliação sensorial utilizada no teste triangular.

Para o desenvolvimento da terminologia descritiva foi aplicado o método de rede de MOSKOWITZ [81] e, paralelamente, foi verificada a intensidade das diferenças entre cada par de amostras de leite de soja obtidas por igual método tendo sido uma desodorizada e outra não. Embora o enfoque desse trabalho fosse atributos de odor e sabor, foi solicitado aos provadores que descrevessem similaridades e diferenças também para aparência e textura (Figura 4). Foram apresentados três pares de amostras (LMB vs. LMD, LEB vs. LED, LVB vs. LVD).

3.2.4.2 – Treinamento da equipe sensorial

Após montagem da lista de termos descritivos levantados pelo painel, chegou-se, por consenso, em duas sessões abertas com todos os provadores, a uma lista de 6 atributos. Foram definidas as amostras referências para cada um deles nos seus respectivos extremos de intensidade mínima e máxima na escala.

Durante o treinamento, o painel foi familiarizado quanto ao uso de escala não-estruturada de 9cm, ancorada nos extremos com os termos de mínima intensidade na extremidade esquerda e os de máxima intensidade na extremidade direita.

Para isto os provadores foram solicitados a verificar a intensidade de cada descritor sensorial previamente selecionado, em cada uma das seis amostras de leite de soja, utilizando uma ficha de avaliação contendo os termos descritivos previamente desenvolvidos. As amostras foram apresentadas de forma monádica.

Ao finalizar esta etapa, foi decidido, por consenso entre os provadores, que os atributos de odor seriam avaliados fora da cabine. Para a apresentação, 75ml de cada amostra foram acondicionados em frascos de vidro com tampa esmerilada.

Nome: _____ Data : _____

1. Por favor, prove as duas amostras codificadas de leite de soja, da esquerda para a direita. Utilizando a escala abaixo, diga o quanto elas são diferentes.

1 = nenhuma diferença
2 = ligeiramente diferentes
3 = moderadamente diferentes
4 = muito diferentes
5 = extremamente diferente

amostras _____ e _____ diferença _____

2. Agora, prove novamente as amostras, na ordem indicada e discuta:

	Similaridades	Diferenças
Odor		
Sabor		
Textura		
Aparência		

Figura 4 - Ficha utilizada para ao desenvolvimento da terminologia descritiva.

3.2.4.3 – Seleção final da equipe de provadores

Com base no poder discriminativo dos provadores e na reprodutibilidade dos resultados apresentados por eles, foram selecionados nove provadores de leite de soja para compor a equipe treinada.

Com o auxílio do programa EXCEL do Microsoft Word 97 [39], os resultados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) fator duplo (provador e tratamento) com repetição, sendo determinada a significância estatística das diferenças entre as médias através do teste de Tukey, para o nível de significância $p \leq 0,05$.

3.2.4.4 – Condições para os testes e preparação das amostras

Todas as sessões de análise sensorial foram realizadas em cabines individuais sob temperatura controlada ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$) e adequada iluminação (luz branca).

As amostras de leite de soja foram identificadas como:

- LVB = Leite de soja de grãos não-macerados
- LVD = Leite de soja de grãos não-macerados e desodorizado
- LMB = Leite de soja preparado pelo processo da “vaca mecânica”
- LMD = Leite de soja preparado pelo processo da “vaca mecânica” e desodorizado
- LEB = Leite de soja de grãos macerados em água
- LED = Leite de soja de grãos macerados em água e desodorizado

Antes de cada sessão, um volume suficiente de cada leite foi descongelado e homogeneizado.

Foram servidos cerca de 30ml de amostras, a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, apresentadas aos provadores em copos plásticos brancos de 50ml, com numeração aleatória de três

dígitos, juntamente com água à temperatura ambiente e com bolachas de água, para eliminar qualquer sabor residual que pudesse interferir na avaliação entre as amostras.

3.2.4.5 – Avaliação final das amostras de leite de soja

Para avaliar cada leite de soja, foi seguida a metodologia indicada por STONE & SIDEL [104]. As amostras foram avaliadas em 3 repetições, de forma monádica, por nove provadores treinados, utilizando-se delineamento experimental de blocos completos balanceados. A ordem de apresentação das amostras foi sorteada entre os provadores seguindo delineamento de MACFIE *et al.* [74] para seis amostras. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente por ANOVA fator duplo com repetição e teste de Tukey, para o nível de significância de $p \leq 0,05$.

As definições dos termos avaliados foram as mesmas estabelecidas durante o levantamento e definição da terminologia descritiva. Primeiro os provadores avaliaram o odor utilizando a ficha apresentada na Figura 5.

Foi solicitado aos provadores, antes de avaliar cada amostra, cheirar grãos de café colocados em embalagem tampada e beber água, para diminuir as interferências entre uma e outra amostra.

Posteriormente, o sabor e a aparência foram avaliados em cabines individuais, utilizando-se a ficha de avaliação semelhante à que aparece na Figura 6.

Nome: _____ data: _____ AMOSTRA: _____

Por favor, cheire a amostra de “leite de soja” e avalie cada um dos atributos abaixo, indicando com um traço vertical, o ponto da escala que melhor quantifica a intensidade de cada atributo.

ODOR

fraco forte

característico de

leite de soja

fraco forte

feijão cru

Comentários: _____

Figura 5 - Ficha final utilizada na avaliação sensorial de odor.

Nome: _____ data: _____ AMOSTRA: _____

Por favor, prove a amostra de “leite de soja” e avalie cada um dos atributos abaixo, indicando com um traço vertical, o ponto da escala que melhor quantifica a intensidade de cada atributo.

SABOR

característico de fraco forte
leite de soja

residual fraco forte

adstringência fraca forte

APARÊNCIA

cor bege claro escuro

Comentários: _____

Figura 6 - Ficha utilizada na avaliação sensorial do sabor e aparência das amostras de leite de soja.

3.2.5 – Cromatografia gasosa

A Cromatografia gasosa foi realizada para avaliar a eficiência do processo de desodorização. Foi adicionada, em três litros de cada amostra de leite de soja, uma mesma quantidade de uma mistura contendo seis padrões de compostos presentes no off-flavor do leite de soja. Os padrões utilizados foram um aldeído, o hexanal; três álcoois, o 1-hexanol, o 1-octeno-3ol e o 1-octanol; um composto heterocíclico, o 2-amilfurano; e uma cetona a 3-octeno-2-ona. A concentração de cada padrão na mistura foi da ordem de $10\mu\text{g/mL}$ e foram adicionados nas amostras de leite de soja $200\mu\text{L}$ dessa mistura de padrões.

Visando comparar o comportamento dos padrões na água e nas amostras de leite de soja, foi efetuado o mesmo procedimento, utilizando-se água destilada em vez de leite de soja.

Imediatamente após a adição dos padrões e a homogeneização das amostras, conforme a técnica utilizada por KEPNER *et al.* [62] modificada, foram retiradas alíquotas de 50mL e colocadas em frascos de vidro apropriados de 110mL de capacidade, que foram fechados hermeticamente com tampas especiais de borracha. A seguir foram aquecidos em uma estufa à temperatura de $80^{\circ}\text{C} \pm 0,05^{\circ}\text{C}$ durante uma hora. Volumes de 1mL foram retirados do "head space" de cada frasco com uma seringa especial e injetados em um cromatógrafo a gás.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Composição centesimal da soja e dos leites de soja

Os resultados referentes à composição centesimal dos grãos de soja da variedade BR-16 utilizados na preparação das amostras de leite de soja encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição centesimal de grãos de soja, variedade BR-16.

DETERMINAÇÕES	SOJA EM GRÃO
	$M \pm DP^*$
Umidade	$7,06 \pm 0,02$
Cinza	$4,12 \pm 0,02$
Proteína	$36,4 \pm 0,0$
Lipídios Totais	$19,93 \pm 0,01$
Fibra bruta	$5,53 \pm 0,02$
Carboidratos por diferença	26,96

* Média e desvio padrão de determinações em triplicata.

A Tabela 2 apresenta os resultados da composição centesimal das amostras de leite de soja preparadas por três processos diferentes, sendo três amostras desodorizadas e três não-desodorizadas.

Os valores encontrados para sólidos solúveis mostram que o rendimento dos processos utilizados diferem entre si e deixam claro que a maceração em água é fundamental para o aumento dos sólidos solúveis. Comparando-se os resultados entre as amostras LMB e LEB maceradas em água, observa-se um

valor menor para os sólidos solúveis na amostra LEB, o que ocorre, provavelmente, devido ao tempo de maceração, o qual foi quatro vezes maior em relação à amostra LMB.

Tabela 2 – Teores percentuais dos principais componentes das amostras não-desodorizadas e desodorizadas de leite de soja.

DETERMINAÇÕES	$\frac{LVB}{M \pm DP^*}$	$\frac{LVD}{M \pm DP^*}$	$\frac{LMB}{M \pm DP^*}$	$\frac{LMD}{M \pm DP^*}$	$\frac{LEB}{M \pm DP^*}$	$\frac{LED}{M \pm DP^*}$
Umidade	93,90 $\pm$ 0,10 f	94,10 $\pm$ 0,10 e	95,00 $\pm$ 0,10 d	95,10 $\pm$ 0,10 c	95,50 $\pm$ 0,10 b	96,40 $\pm$ 0,10 a
Cinza	0,39 $\pm$ 0,00 a	0,30 $\pm$ 0,00 b	0,30 $\pm$ 0,00 b	0,30 $\pm$ 0,00 b	0,30 $\pm$ 0,00 b	0,30 $\pm$ 0,00 b
Proteína	2,95 $\pm$ 0,05 a	2,70 $\pm$ 0,04 b	2,00 $\pm$ 0,03 c	2,10 $\pm$ 0,03 c	1,70 $\pm$ 0,03 d	1,20 $\pm$ 0,02 e
Sólidos solúveis	6,20 $\pm$ 0,01 a	5,90 $\pm$ 0,01 b	5,00 $\pm$ 0,01 c	4,90 $\pm$ 0,01 d	4,50 $\pm$ 0,01 e	3,60 $\pm$ 0,01 f
Lipídios totais	1,97 $\pm$ 0,03 a	1,80 $\pm$ 0,02 b	1,40 $\pm$ 0,02 c	1,30 $\pm$ 0,02 cd	1,20 $\pm$ 0,02 d	0,70 $\pm$ 0,01 e

LVB = Leite de soja de grãos não-macerados

LVD = Leite de soja de grãos não-macerados e desodorizado

LMB = Leite de soja preparado pelo processo da "vaca mecânica"

LMD = Leite de soja preparado pelo processo da "vaca mecânica" e desodorizado

LEB = Leite de soja de grãos macerados em água

LED = Leite de soja de grãos macerados em água e desodorizado

* Média e desvio padrão das determinações em triplicata.

Por outro lado, as amostras desodorizadas, independentemente do processo de preparação, apresentaram teores mais baixos de sólidos totais quando comparadas com suas respectivas parceiras não-desodorizadas. Isso ocorre porque o isolamento térmico da coluna de desodorização permite uma pequena condensação do vapor d'água pré-aquecido, o qual foi absorvido pelo leite durante o processo.

As variações dos teores de sólidos solúveis encontradas em todas as amostras foram sempre acompanhadas das variações dos outros constituintes sólidos do leite de soja.

Os teores de umidade variaram de 93,90% a 95,50% nas amostras não-desodorizadas, variando de 94,10% a 96,40% nas amostras desodorizadas. A análise estatística dos resultados mostra que os mesmos diferem entre si em um nível de 5%. Em todas as amostras a desodorização acarretou uma diminuição nos teores de sólidos solúveis.

Os teores de cinzas são praticamente iguais em todas as amostras, inclusive não diferindo estatisticamente entre si, com exceção da amostra LVB, que é maior que as demais. Novamente, a diferença ocorre uma vez que a amostra LVB não é macerada como as demais, o que diminui a perda de sólidos.

Os teores de proteína variaram de 1,20% a 2,95%, considerando-se todas as amostras indistintamente. Todos os resultados diferiram estatisticamente, com exceção daqueles das amostras LMB e LMD. Por outro lado, a desodorização provocou uma diminuição dos teores de proteína, quando comparadas as amostras desodorizadas com as não-desodorizadas entre si. Isso se deu devido às perdas de calor que ocorreram na coluna de desodorização, o que permitiu a condensação de uma fração do vapor, o qual se incorporou ao leite, tornando as amostras desodorizadas um pouco mais diluídas.

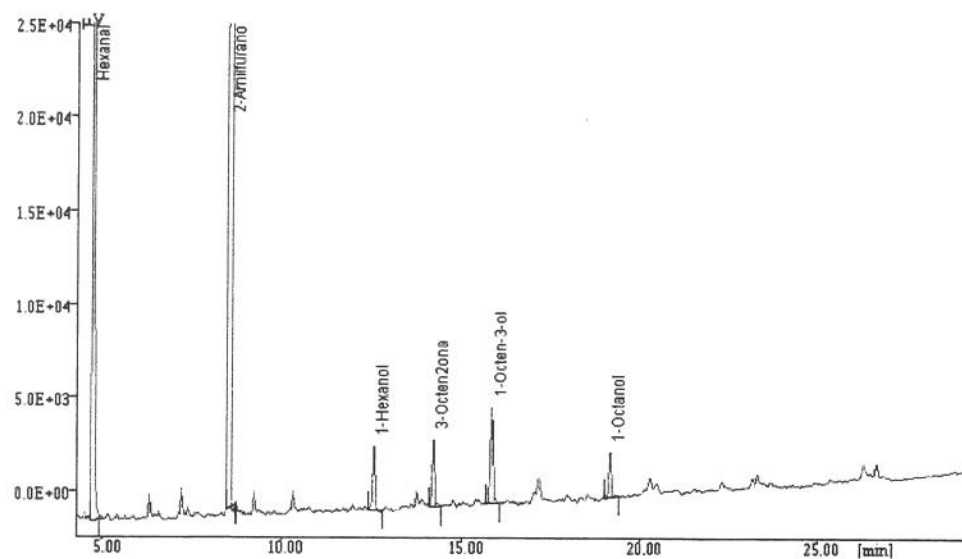
Quando o leite obtido pelo processo sem maceração é comparado com os leites obtidos pelo mesmo processo de 25 cultivares diferentes de soja, sendo 19 desenvolvidos no Brasil, observou-se que os teores de proteína se situaram entre 2,36% e 3,64%, os de lipídios entre 1,86% e 3,17% e os de sólidos solúveis entre 5,46% e 9,90% [106]. Comparando-se com os dados da Tabela 2, observou-se

que o leite da cultivar utilizada no presente trabalho pelo processo sem maceração apresentou valores de proteína, lipídios e sólidos solúveis dentro do esperado, inclusive considerando-se os dois tratamentos utilizados.

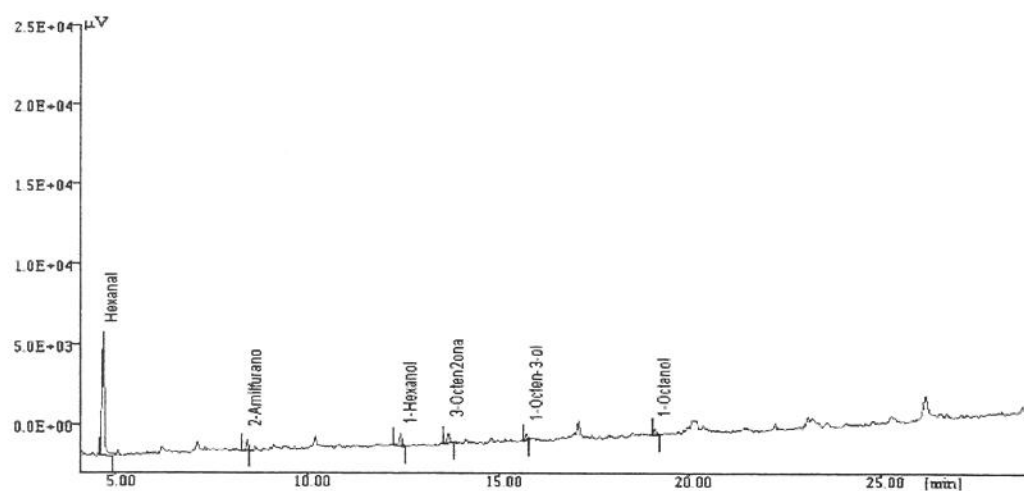
Assim foi possível verificar que não existe, necessariamente, uma correlação entre um maior teor de sólidos solúveis e os maiores teores de lipídios e proteína, e, quando isso ocorrer, é possível que seja mais uma coincidência que uma regra.

4.2 – Efeito da desodorização em seis padrões de compostos voláteis

Cromatogramas obtidos através da cromatografia gasosa encontram-se nas Figuras 7 a 10. Como esperado, tanto a amostra de padrão na água quanto as amostras de leite de soja com padrões não-desodorizadas apresentaram os picos com área maior que as amostras desodorizadas.

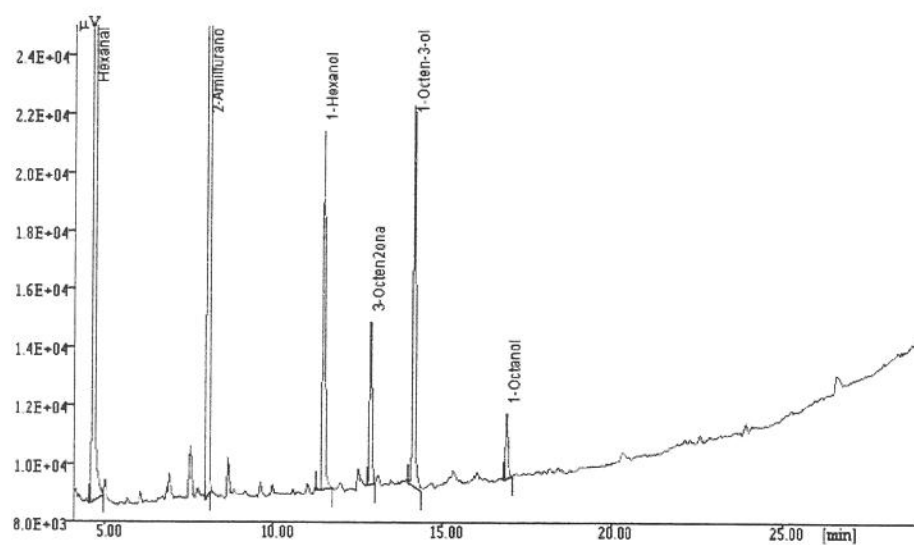


(a)

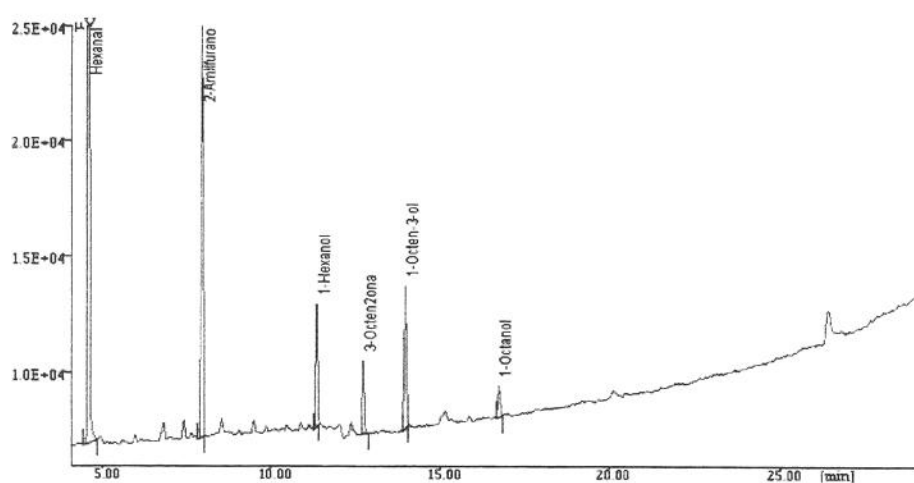


(b)

Fig. 7 – Cromatograma característico de seis padrões adicionados à água antes da desodorização (a) e após a desodorização (b). Condições cromatográficas: coluna DB WAX (30mx0,25mm; 1 μ m); temp. 50°C a 230°C (4°C/min); temp. injetor: 230°C; temp. detector: 270°C.

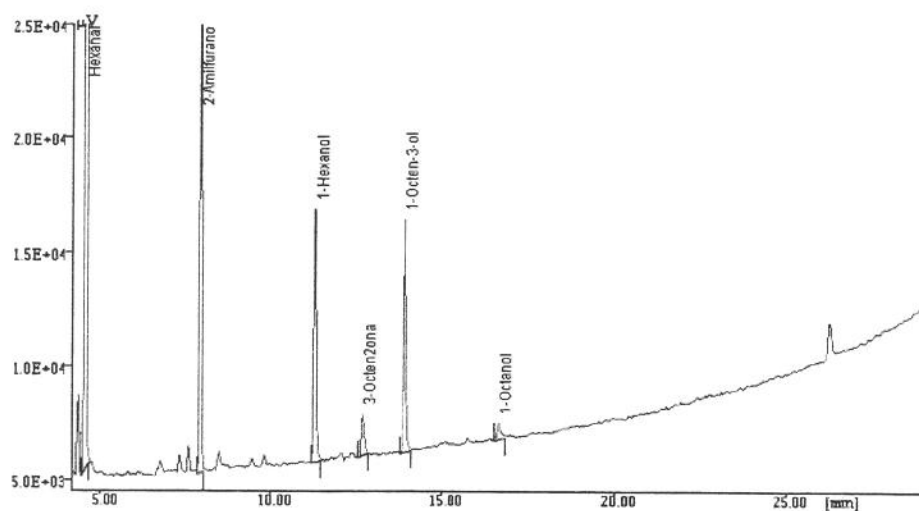


(a)

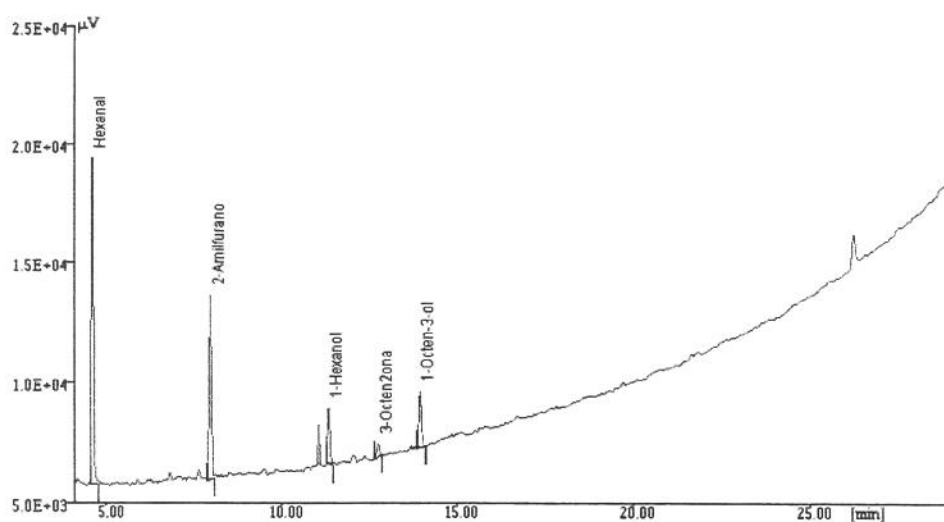


(b)

Fig. 8 - Cromatograma característico da amostra de leite de soja de grãos não-macerados adicionada de seis padrões antes da desodorização (LVB) (a) e após a desodorização (LVD) (b). Condições cromatográficas: coluna DB WAX (30mx0,25mm; 1 μ m); temp. 50 $^{\circ}$ C a 230 $^{\circ}$ C (4 $^{\circ}$ C/min); temp. injetor: 230 $^{\circ}$ C; temp. detector: 270 $^{\circ}$ C.

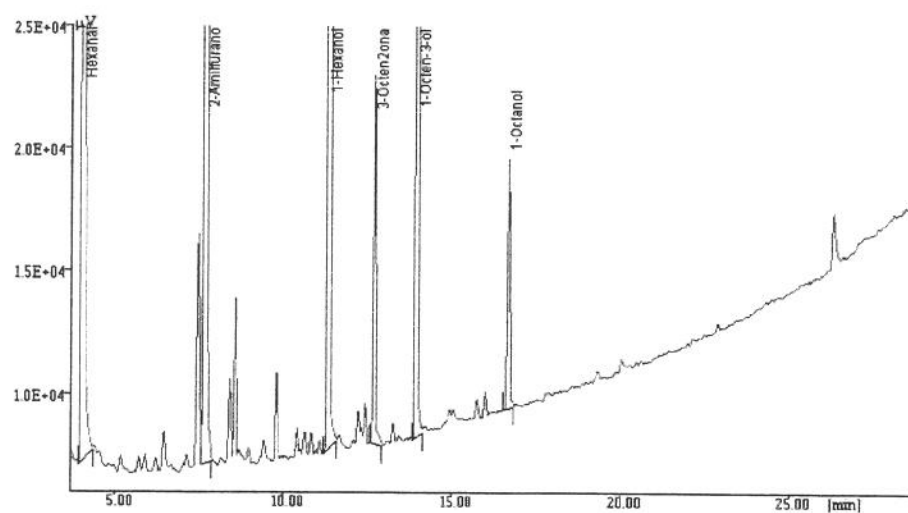


(a)

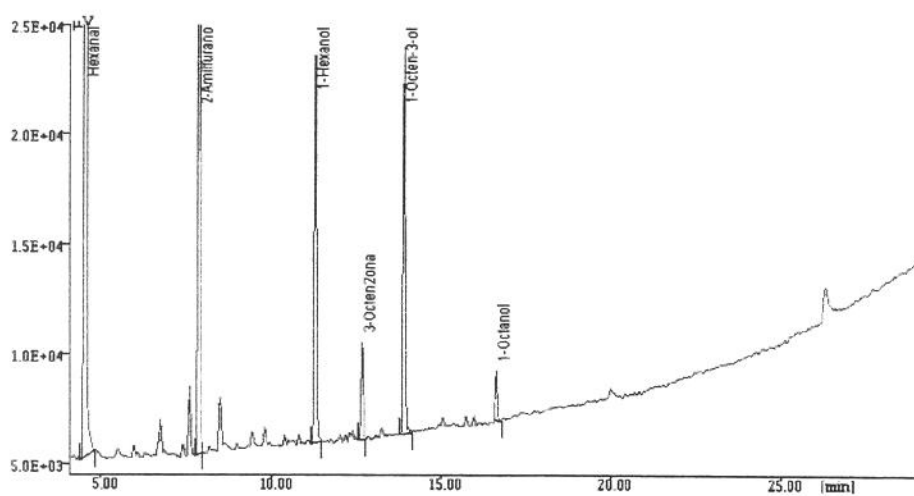


(b)

Fig. 9 - Cromatograma característico da amostra de leite de soja preparado pelo processo da “vaca mecânica” adicionada de seis padrões antes da desodorização (LMB) (a) e após a desodorização (LMD) (b). Condições cromatográficas: coluna DB WAX (30mx0,25mm; 1 μ m); temp. 50°C a 230°C (4°C/min); temp. injetor: 230°C; temp. detector: 270°C.



(a)



(b)

Fig. 10 - Cromatograma característico da amostra de leite de soja de grãos macerados em água adicionada de seis padrões antes da desodorização (LEB) (a) e após a desodorização (LED) (b). Condições cromatográficas: coluna DB WAX (30mx0,25mm; $1\mu\text{m}$); temp. 50°C a 230°C ($4^\circ\text{C}/\text{min}$); temp. injetor: 230°C ; temp. detector: 270°C .

A Tabela 3 mostra as unidades de área correspondentes a cada padrão na água e nas amostras de leite de soja preparadas pelos três processos utilizados.

Tabela 3 – Comparação em unidades de área dos padrões adicionados na água e nas três amostras de leite de soja antes e após a desodorização.

Compostos	H ₂ O + P	H ₂ O + P (desodor.)	LVB + P	LVB + P (desodor.)	LMB + P	LMB + P (desodor.)	LEB + P	LEB + P (desodor.)
1	89964	17995	137417	73410	105515	30075	511835	180727
2	332830	2575	130535	40657	51865	16847	379825	76190
3	10590	2855	30460	12635	27935	5912	233520	42047
4	11560	3140	13447	6995	6140	2087	39850	10285
5	15560	1710	32645	15225	26620	6970	170442	40340
6	7540	2247	6575	3635	3965	nd	26340	4620

1=Hexanal, 2=2-Amilfurano, 3=1-Hexanol, 4=3-Octen-2-ona, 5=1-Octen-3-ol, 6= 1-Octanol

nd = não detectado

H₂O + P = água + padrões

H₂O + P (desodor.) = água + padrões e desodorização

LVB + P = Leite de soja de grãos não-macerados + padrões

LVB + P (desodor.) = Leite de soja de grãos não-macerados + padrões e desodorização

LMB + P = Leite de soja preparado pelo processo da "vaca mecânica" + padrões

LMB + P (desodor.) = Leite de soja preparado pelo processo da "vaca mecânica" + padrões e desodorização

LEB + P = Leite de soja de grãos macerados em água + padrões

LEB + P (desodor.) = Leite de soja de grãos macerados em água + padrões e desodorização

Utilizando-se os valores de unidades de área, foi possível calcular as porcentagens de eliminação de cada composto em cada produto, como mostra a Tabela 4.

Tabela 4 – Porcentagens de eliminação dos seis padrões adicionados na água e nas três amostras de leite de soja pelo processo de arraste com vapor superaquecido.

Compostos	H ₂ O + P X H ₂ O + P (desodorização)	LVB + P X LVB + P (desodorização)	LMB + P X LMB + P (desodorização)	LEB + P X LEB + P (desodorização)
Hexanal	80%	46%	71%	65%
2-Amilfurano	99%	69%	67%	80%
1-Hexanol	73%	58%	79%	82%
3-Octen-2-ona	73%	48%	66%	74%
1-Octen-3-ol	89%	53%	74%	76%
1-Octanol	70%	45%	Ind.	82%

ind. = indeterminado

A eliminação de cada composto está sujeita a determinadas características físico-químicas dos mesmos, tais como: ponto de ebulição, solubilidade em água, caráter hidrófobo ou hidrófilo da molécula, os quais dependem do tamanho da cadeia carbônica, do grupo funcional a ela ligado e, principalmente, da pressão de vapor de cada padrão na temperatura de funcionamento do equipamento. Por outro lado, deve-se ainda considerar a composição do leite a ser desodorizado, porque, invariavelmente, diferentes interações ocorrem pela diversidade dos compostos nele existentes com os compostos utilizados como padrões. Assim, a análise de cada composto em água mostra que a eliminação dos mesmos pela desodorização difere apreciavelmente, sendo maior para o amilfurano, que é praticamente insolúvel em água, e bem menor para o 1-octanol, que apresenta uma pequena taxa de solubilidade na água. Para o hexanal a eliminação foi da ordem de 80%. Na amostra LVB a taxa de eliminação foi da ordem de 46%, sendo para as amostras LMB e LEB da ordem de 71% e 65%, respectivamente. Isso demonstra que, nas amostras maceradas em água, a desodorização é mais eficaz que na amostra preparada a partir de grãos inteiros e secos. Os resultados mostram ainda que com tempos de maceração maiores, mais eficaz é o processo de desodorização, excetuando-se novamente o hexanal. Para os demais compostos eliminados, um tempo de maceração maior continua sendo um fator de

eliminação maior. Provavelmente, o que ocorre com a amostra LVB, quanto à maior retenção do hexanal na mesma, é que ela é preparada com grãos inteiros não-macerados. Por ocasião do seu preparo, é possível que exista um número maior de sítios nas frações protéicas da soja, os quais se ligam tanto ao hexanal [84], quanto ao radical cetona, como é o caso da 2-nonanona [28], uma vez que nas amostras preparadas a partir de grãos macerados em água a hidratação compete, de um modo geral, com os compostos formados durante o preparo do leite em termos de ligação com os diversos compostos nele existentes, como mostram os dados da Tabela 4.

Para a ADQ, os resultados da seleção inicial de provadores foram obtidos a partir de um número de provadores que conseguiram acertar 100% dos testes.

Na Tabela 5 aparecem os termos gerados pelos provadores para cada amostra, assim como as diferenças e similaridades entre aqueles leites obtidos por iguais processos com e sem desodorização.

Tabela 5 - Comentários realizados em avaliações, por teste triangular e teste de comparação de amostras de leite de soja (bruta vs. desodorizada).

Processo de obtenção	Comentários			Similaridades
	Bruta	Diferenças	Desodorizada	
encharcado (LE)	- gosto mais fraco	-	- consistência mais líquida	- cor
	- cheiro mais forte	-	- odor e sabor de grão de soja mais fracos	- mesmo tipo de odor
	- gosto menos homogêneo	-	- gosto residual mais forte	
	- mais doce	-	- gosto menos acentuado	
	- sabor mais suave	-	- consistência diferente	
vital (LV)		-	- amarra um pouco a língua	
	- sabor e odor de soja mais fortes	-	- sabor e cheiro de soja mais acentuados	- textura semelhante
	- mais aguado	-	- sabor mais definido	- sabor de soja
	- mais transparente	-	- mais concentrado	- baixo gosto residual
	- cheiro mais forte	-	- percebe-se mais o gosto de soja	
	- maior gosto residual	-	- cheiro menos acentuado	
	- gosto de feijão mais forte	-	- gosto mais leve	
vaca mecânica (LM)	- cor mais clara	-	- melhor gosto	
	- amarra a língua	-	-	
	- é mais aguado	-	- cheiro menos acentuado	- dá para sentir o "pó"
	- cheiro de soja crua mais forte	-	- gosto mais agradável	- consistência parecida
	- a cor é mais clara	-	- sabor de soja mais forte	- gosto inicial de soja parecido
	- gosto residual	-	- menos gosto de feijão	-
	- odor de soja mais suave	-	- é muito melhor	-
	- sabor ruim	-	- mais gosto de leite de soja	-
	-	-	-	-
	- gosto de feijão cru mais forte	-	-	-

Nota-se que foram realizados diferentes comentários que forneceram igual informação e, fundamentado nisso, foi efetuada uma primeira discussão para escolher e definir quais os termos que seriam empregados na avaliação sensorial das amostras de leite de soja, sendo, finalmente, escolhidos seis atributos, a saber:

- odor característico de leite de soja
- odor de soja crua
- sabor característico de leite de soja
- sabor residual
- adstringência
- cor bege

A definição dos extremos de mínimo e máximo das escalas para cada atributo está apresentada na Tabela 6.

As médias obtidas na avaliação final das amostras estão na Tabela 7.

No descritor “odor de feijão cru” houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras desodorizadas e sua similar bruta, sendo a intensidade do aroma menor quando o leite era desodorizado. Já para o odor característico de leite de soja, o comportamento foi contrário, sendo significativamente diferente ($p \leq 0,05$) nos leites obtidos em vaca mecânica (LMB, LMD) e nos obtidos por maceração (LEB, LED).

Tabela 6 - Definição dos descritores e os extremos utilizados na avaliação do leite de soja.

Atributo	Descrição	Extremos
Cor bege	Intensidade da cor bege	Cor do leite de soja obtido por maceração (LEB) Cor do leite de soja obtido em vaca mecânica e desodorizado (LMD)
Adstringência	Sensação de "seco" percebida na boca após ter experimentado a amostra causada pela contração da superfície da mucosa oral	Solução aquosa (5:100 ml) do líquido obtido na segunda desodorização do LEB Solução aquosa (15:100 ml) do líquido obtido na segunda desodorização do LEB
Sabor residual	Sabor de leite de soja, salgado e oleoso, que permanece na boca após ter engolido a amostra	Solução aquosa (5:100 ml) da mistura de padrões dos compostos encontrados no leite de soja Solução aquosa (15:100 ml) da mistura de padrões dos compostos encontrados no leite de soja
Sabor característico de leite de soja	Sabor próprio que caracteriza o produto	Sabor do leite de soja obtido por liquidificação dos grãos inteiros macerados em água quente (LVB) Sabor do leite de soja obtida em vaca mecânica (LMB)
Odor característico de leite de soja	Conjunto de aromas presentes no leite de soja e que o caracterizam	Odor do leite de soja obtida por liquidificação dos grãos inteiros macerados em água quente e desodorizada (LVD) Odor do leite de soja obtida em vaca mecânica (LMB)
Odor feijão cru	Conjunto de aromas presentes no líquido obtido na segunda desodorização do leite de soja obtido por maceração (encharcado) e desodorizado (LED)	Diluição em água do condensado obtido na desodorização do LED (1:6) Diluição em água do condensado obtido na desodorização do LED (1:3)

Tabela 7 - Médias das notas atribuídas pelos provadores por atributo na avaliação final de cada amostra de leite de soja.

Atributos	Amostras de leite de soja					
	LMB	LMD	LEB	LED	LVB	LVD
Odor de feijão cru	2,51 ^a	1,66 ^c	3,07 ^a	1,6 ^c	1,91 ^{ab}	0,61 ^d
Odor característico de leite de soja	4,24 ^{bc}	6,20 ^a	3,89 ^c	5,49 ^a	5,03 ^b	4,13 ^{bc}
Sabor característico de leite de soja	3,31 ^{cd}	6,19 ^a	3,12 ^d	5,45 ^a	3,23 ^c	4,29 ^b
Sabor residual	3,75 ^a	3,07 ^{bc}	3,54 ^{ab}	2,63 ^c	2,81 ^c	1,90 ^d
Adstringência	3,19 ^a	3,07 ^a	2,86 ^{ab}	2,54 ^{ab}	2,40 ^b	2,14 ^b
Cor bege	2,89 ^c	7,40 ^a	2,69 ^c	4,48 ^b	2,57 ^c	3,47 ^{bc}

Amostras com iguais letras na mesma linha não diferem, estatisticamente, entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Destaca-se também que em relação ao sabor característico de leite de soja e sabor residual, as amostras de leite desodorizadas diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) das brutas, independentemente do processo de obtenção do leite.

A intensidade do sabor característico de leite de soja foi superior nos leites desodorizados LMD e LED, enquanto o sabor residual mostrou comportamento contrário, ou seja, o processo de desodorização diminuiu o sabor residual dessas amostras. As amostras LMD e LED não diferiram estatisticamente entre si em relação a estes atributos ($p \leq 0,05$).

Nos leites obtidos por liquidificação dos grãos inteiros em água quente, o processo de desodorização não parece ter beneficiado o produto, resultando em menor sabor característico e maior sabor residual. Foi comentado, pelos provadores que o LVD era um leite “aguado mas que marcava muito na boca”.

A intensidade média da adstringência das amostras LVB e LVD foi inferior à das outras amostras e estas não diferiram, estatisticamente, entre si. Também não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os leites LMB e LMD nem entre LEB e LED, o que sugere não ter o processo de desodorização influenciado este atributo sensorial, mas que este atributo seja resultante do processo de obtenção do leite.

Notou-se um aumento na intensidade da cor bege dos leites quando desodorizados, porque a temperaturas acima de 80°C há um aumento da velocidade da reação de Maillard e os açúcares se caramelizam.

A Figura 11 apresenta uma configuração da Análise Descritiva- Quantitativa das amostras para os atributos avaliados em forma de “gráfico aranha”. O centro da figura representa o extremo de menor intensidade da escala utilizada na Ficha de Avaliação (Figuras 5 e 6). A intensidade de cada descritor (representado pelos eixos), para cada amostra, é maior quanto maior for sua distância do centro do gráfico. A união dos pontos referentes à intensidade média obtida para cada descritor de cada amostra caracteriza a figura representativa de seu perfil sensorial.

Avaliando-se de forma comparativa o perfil sensorial das amostras de leites de soja, a Figura 11 sugere que as maiores diferenças, entre as médias por atributo, estão em cor bege e com sabor característico de soja. Não houve grandes diferenças entre os seis tratamentos analisados neste estudo quanto ao atributo adstringência. Do mesmo modo, as amostras LMD e LED parecem possuir maior intensidade no odor e sabor característicos de leite de soja, assim como da cor bege. Estas observações podem ser confirmadas através dos resultados da análise estatística (Tabela 7), os quais indicaram que pelo menos uma amostra diferiu significativamente das outras em todos os descritores analisados ($p \leq 0,05$).

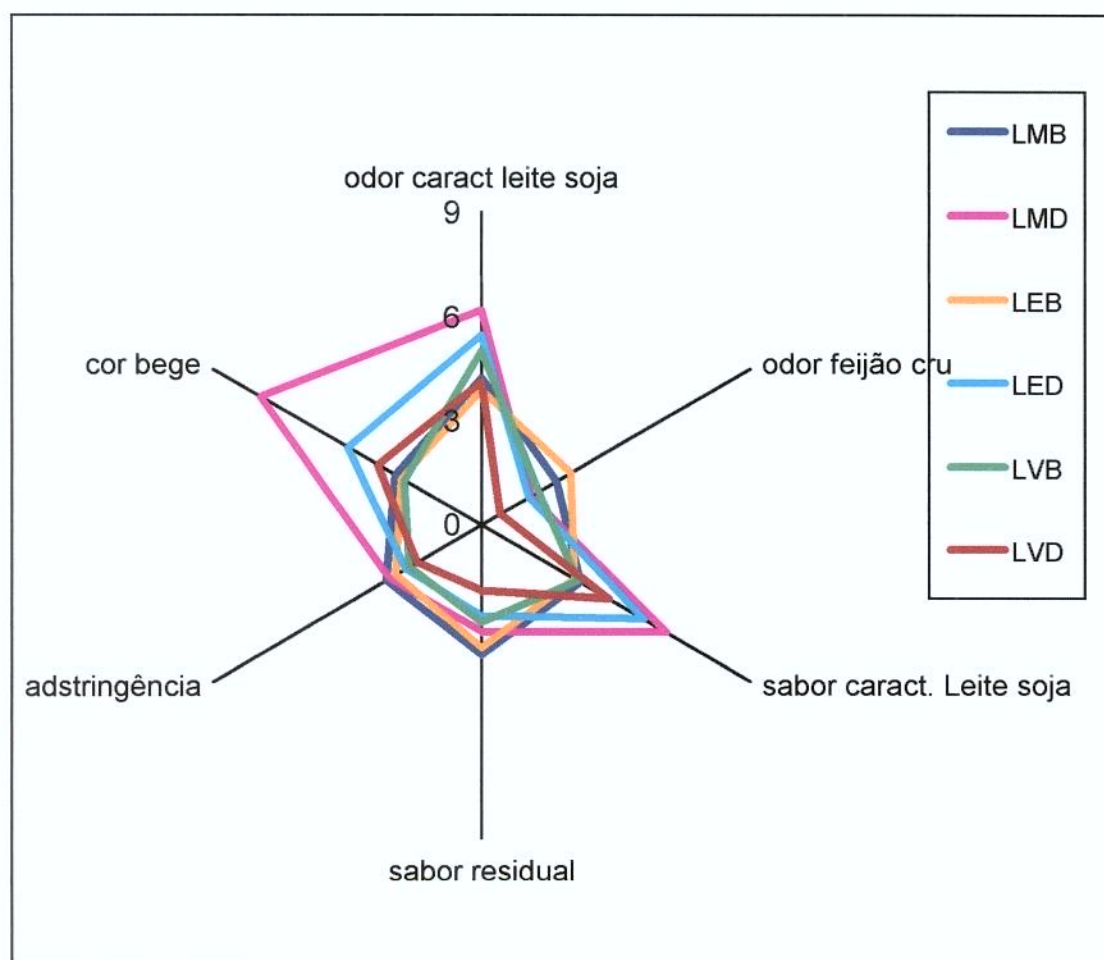


Figura 11 - Configuração da Análise Descritiva Quantitativa das amostras de leite de soja estudadas.

LMB = Leite de soja preparado pelo processo da “vaca mecânica”

LMD = Leite de soja desodorizado preparado pelo processo da “vaca mecânica”

LEB = Leite de soja de grãos macerados em água

LED = Leite de soja desodorizado de grãos macerados em água

LVB = Leite de soja de grãos não-macerados

LVD = Leite de soja desodorizado de grãos não-macerados

O gráfico representado na Figura 11 foi desmembrado de acordo com os três processos utilizados para a obtenção das amostras de leite de soja. Assim, na

Figura 12 são comparadas as amostras LMB e LMD, na Figura 13 as amostras LEB e LED e na Figura 14 as amostras LVB e LVD.

Este desmembramento do gráfico permitiu avaliar a influência da desodorização, comparando-se as alterações ocorridas nas amostras com teores bem próximos de proteína.

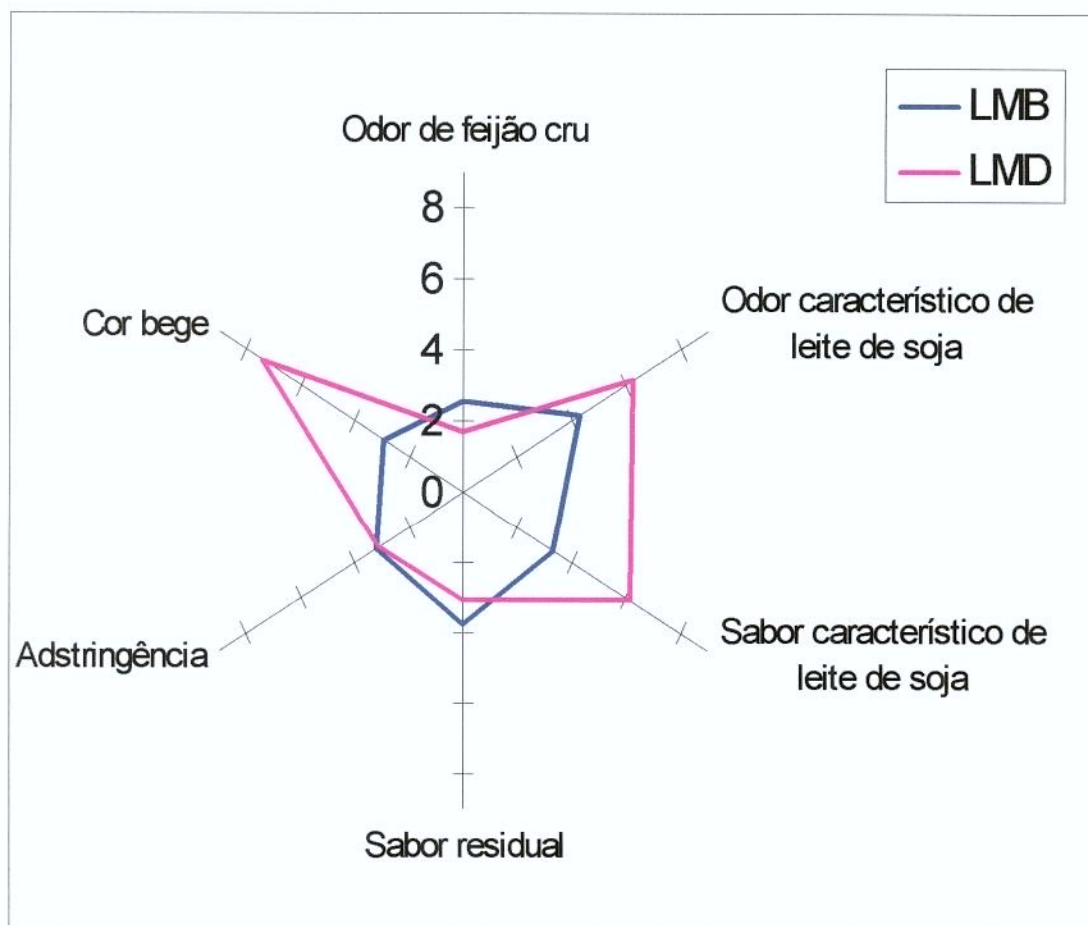


Figura 12 – Configuração da Análise Descritiva-Quantitativa das amostras de leite de soja LMB e LMD.

LMB = Leite de soja preparado pelo processo da "vaca mecânica"

LMD = Leite de soja desodorizado,
preparado pelo processo da "vaca mecânica"

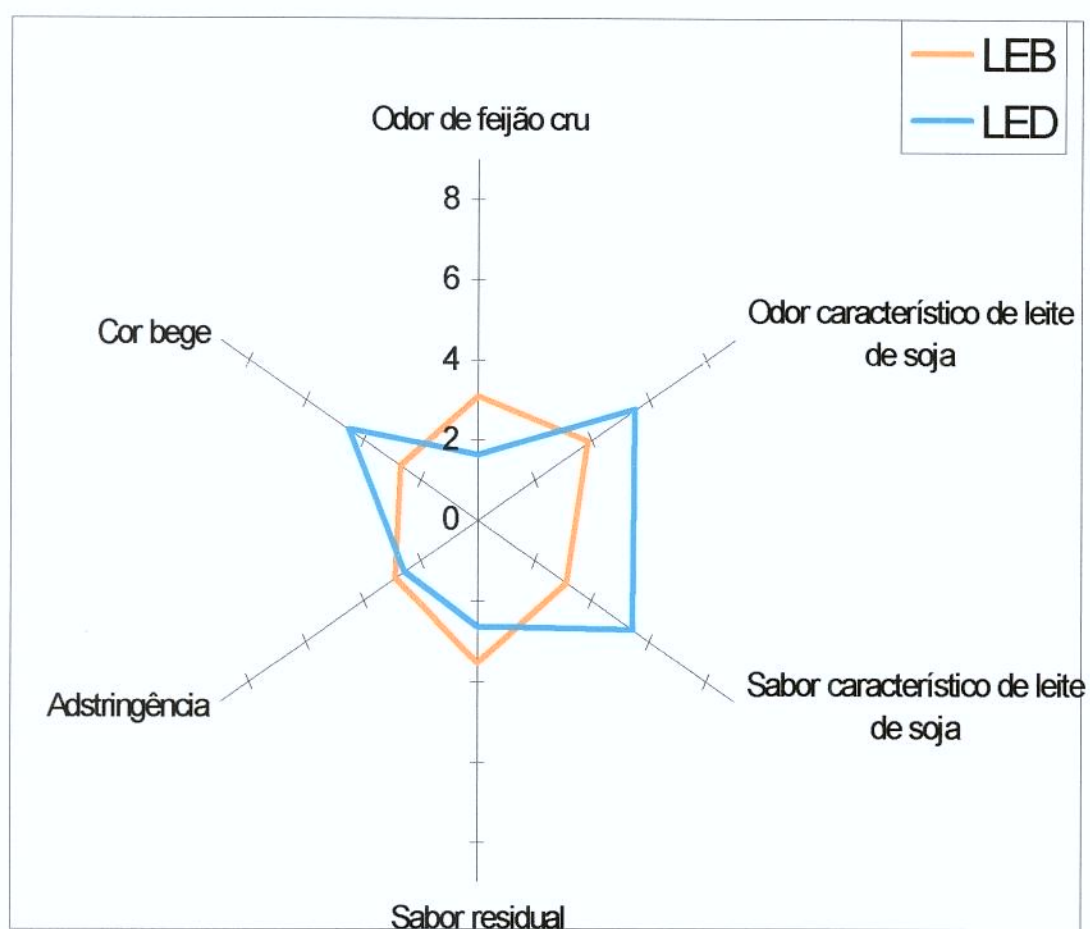


Figura 13 – Configuração da Análise Descritiva-Quantitativa das amostras de leite de soja LEB e LED.

LEB = Leite de soja de grãos macerados em água

LED = Leite de soja desodorizado de grãos macerados em água

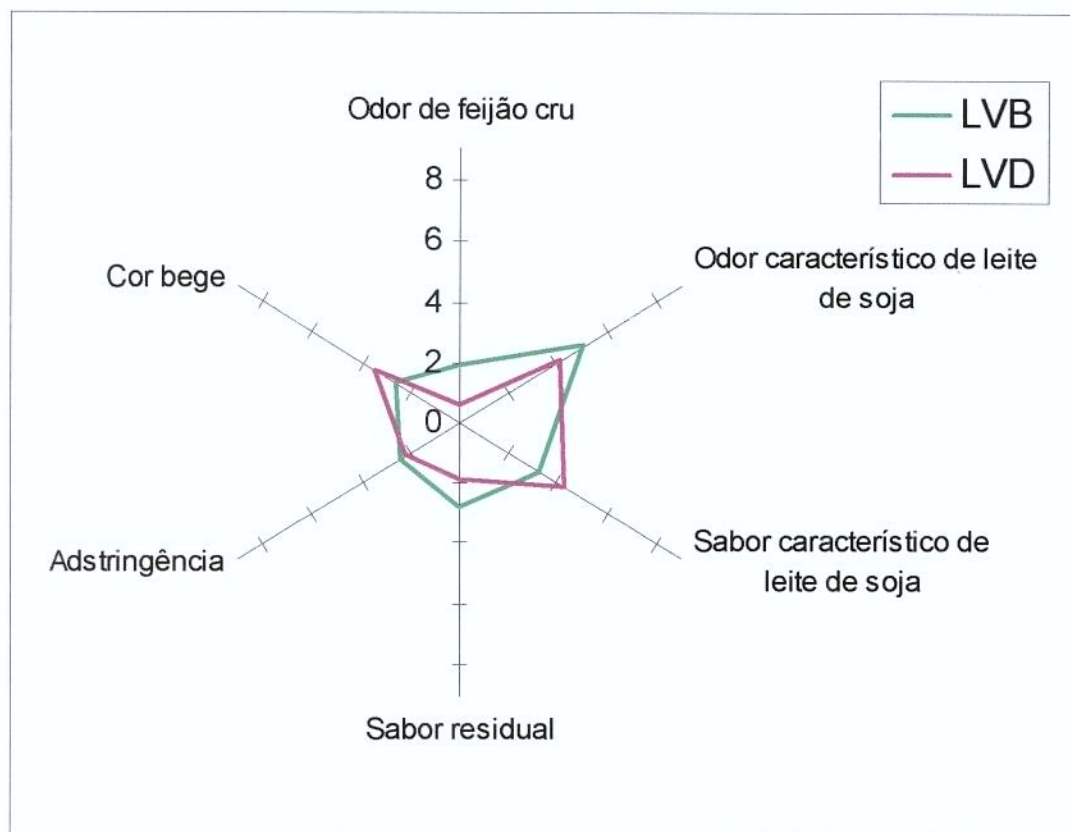


Figura 14 – Configuração da Análise Descritiva Quantitativa das amostras de leite de soja LVB e LVD.

LVB = Leite de soja de grãos não-macerados

LVD = Leite de soja desodorizado de grãos não-macerados

5 – CONCLUSÃO

A avaliação do desempenho nas condições experimentais do equipamento de desodorização foi realizada através de:

5.1 – Alteração nos percentuais dos principais componentes químicos das amostras de leite de soja.

Nas condições experimentais utilizadas, ocorreram perdas estatisticamente significativas de nutrientes, devido ao processo de desodorização em si, e também pela diferença entre os processos de preparação das amostras, provocando uma diferença de rendimentos em sólidos solúveis, obtidos durante a preparação das mesmas.

5.2 – Alteração de percentuais de eliminação dos compostos adicionados nas amostras, com a utilização da cromatografia gasosa.

O processo de desodorização utilizado mostrou ser possível a remoção dos compostos de off-flavors adicionados às três amostras e, portanto, também a remoção daqueles compostos formados no leite durante o processamento. A eficiência da desodorização foi maior para as amostras maceradas em água.

5.3 – Através da análise sensorial descritiva-quantitativa.

Houve diferenças entre as amostras desodorizadas e sua similar bruta em relação ao descritor odor de feijão cru, sendo a intensidade desse odor diminuída significativamente ($p \leq 0,05$) quando o leite era desodorizado.

Não houve diferenças entre as amostras desodorizadas e sua similar bruta em relação à adstringência do produto, porque os compostos que causam adstringência não são voláteis.

De um modo geral o processo de desodorização melhorou a qualidade das três amostras de leite de soja.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADLER-NISSEN, J. Off-odor removal by vacuum flashing. Flavors and off-flavors, **Proceedings of the 6th International Flavor Conference**, Rethymnon, Crete, Greece, 5-7 July, 1999.
- [2] ANDERSON, D. Antioxidant defenses against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 350, n. 1, p.103-108, 1996.
- [3] AOSHIMA, H.; KAJIWARA, T. & HATANAKA, A. Decomposition of lipid hydroperoxide by soybean lipoxigenase-1 under aerobic conditions studies by high performance liquid chromatography and the spin trapping method. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokio, 45(10): 2245-2251, 1981.
- [4] ARAI, S. et al. Studies on flavor components in soybean: part. 2, phenolic acids in defatted soybean flour. **Agricultural Biological Chemistry**, v.30, p.263-267, 1966.
- [5] ARAÚJO, J.M.A., CARLOS, J.C.S., SEDYAMA, C.S. Isoflavonas em grãos de soja: importância da atividade de β -glicosidade na formação do sabor amargo e adstringente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.17, n.2, p.137-141, mai/ago., 1997.
- [6] ASHRAF, H.R.L., SNYDER, H.E. Influence of ethanolic soaking of soybean on flavor and lipoxigenase activity of soymilk. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n.4, p.1201-1204, July/Aug. 1981.
- [7] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 17th.ed. Washington: AOAC, 2000. 2v.

-
- [8] BAKER, E.C., MUSTAKAS, G.C. Heat inactivation of trypsin inhibitor, lipooxygenase and urease in soybeans; effect of acid and base additives. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v.50, n.5, p.137-141, May 1973.
- [9] BIANCHI, M. L. & ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- [10] BOATRIGHT, W. L. & CRUM, A. D. Odor and flavor contribution of 2-pentyl pyridine to soy protein isolates. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 74: 1575-1581, 1997.
- [11] BOATRIGHT, W. L. & LEI, C. Compounds contributing to the "beany" odor of aqueous solutions of soy protein isolates. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 40, p. 667-670, 1999.
- [12] BOHRER, D. Características principais das variedades de soja mais cultivadas no Rio Grande do Sul. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v.23, n.257, 1970.
- [13] BOOKWALTER, G.N., et al. Full-fat soy flour extrusion cooked, properties and food uses. **Journal of Food Science**, Chicago, v.36, n.1, p.5-9, Jan./Feb. 1971.
- [14] BORHAN, M., SNYDER, H.E. Lipooxygenase destruction in whole soybeans by combinations of heating and soaking in ethanol. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.2, p.586-590, Mar./Apr. 1979.

-
- [15] BOURNE, M.C. Recent advances in soybean milk processing technology. **Pag Bulletin**, New York, n.10, p.14-21, 1970.
- [16] BOURNE, M.C., CLEMENTE, M.G., BANZON, J. Survey of suitability of thirty cultivars of soybeans for soymilk manufacture. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, n.5, p.1204-1208, Sept./Oct. 1976.
- [17] BOURNE, M.C., ESCUETA, E.E., BANZON, J. Effect of sodium alkalis and salts on pH and flavor of soymilk. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, n.1, p.62-66, Jan./Feb. 1976.
- [18] BROWN, B.D. et al. Minimizing protein insolubilization during thermal inactivation of lipoxygenase in soybean cotyledons. **Journal of the American Oil Chemist' Society**, Chicago, v.59, n.2, p.88-92, Feb. 1982.
- [19] BURNS, R. A. Protease inhibitors in processed plant foods. **J. Food Protection**, v. 50, n. 2, p. 161-165, 1987.
- [20] CARAGAY, A. B. Câncer preventive foods and ingredients. **Food Technology**, Chicago, v. 46, p. 65-68, 1992.
- [21] CHANG, S.S. Flavor and flavor stability on foods. **Journal of the American Chemical Society**, Champaign, v.56, p.908-910, 1979.
- [22] CHAPMAN JR., G.W., ROBERTSON, J.A., BURDICK, D. Chemical composition and lipoxygenase activity in soybeans as affected by genotype and environment. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v.53, n.2, p.54-56, Feb. 1976.
- [23] CHILDS, N. M. Functional foods and market entry. **The World of Ingredients**, Chicago, v. 1, n. 1, p. 36-39, 1994.

-
- [24] CHRISTOPHER, J., PISTORIUS, E., AXELROD, B. Isolation of a third isoenzyme of soybean lipoxygenase. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.284, n.1, p.54-62, Sept. 1972.
- [25] CONSUMO diário de proteína de soja previne doenças do coração. **Revista Óleo & Grãos**, São Paulo, v. 7, n. 51, p. 13, 1999.
- [26] COSTA, S. I. A soja na produção de alimentos. **Anais do I Seminário Nacional de Pesquisa de Soja – Vol. II**, 1979.
- [27] DAFFERT, F.W. **Relatório Anual do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 1892. 26p.
- [28] DAMODARAN, S. , KINSELLA, J. E. Interaction of carbonyls with soy protein: conformational effects. **J. Agric. Food Chem.**, v. 29, n. 6, p. 1253-1257, 1981.
- [29] DECKER, E. A . Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, New York, v. 55, n. 11, p. 396-407, 1997.
- [30] DEL ROSARIO, R.; DE LUMEN, B. O.; HABU, T.; FLATH, R. A.; MON, T. R. & TERANISHI, R. Comparison of headspace volatiles from winged beans and soybeans. **J. Agric. Food Chem.**, **32**: 1011-1015, 1984.
- [31] DIETRICH, W.C. et al. Comparison of microwave with steam or water blanching of corn-on-the-cob: 2. peroxidase inactivation and flavor retention. **Food Technology**, Chicago, v.24, n.3, p.293-296, Mar.1970.

-
- [32] DUTRA DE OLIVEIRA, J.E., SCATENA, L. Nutritional value of protein from a soybean milk powder. **Journal of Food Science**, Chicago, v.32, n.5, p.592-594, Sept./Oct. 1967.
- [33] ELDRIDGE, A.C., KWOLEK, W.F. Soybean isoflavones: effect of environmental and variety on composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC., v.31, n.2, p.394-396, 1983.
- [34] ELDRIDGE, A.C., WARNER, K., WOLF, W.J. Alcohol treatment of soybeans and soybean protein products. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.54, n.6, p.1229-1237, Nov./Dec. 1977.
- [35] ELIAS, L. G. Nutricion y salud. **Revista Industria y Alimentos**, La Plata, v. 1, n. 2, p. 29-32, 1999.
- [36] ERDMAN, J. W. & POTTER, S. M. Soy and bone health. **The Soy Connection**, New York, v. 5, n. 2, p. 1-4, 1997.
- [37] ERICKSON, D.R. (Ed.) **Practical handbook of soybean processing and utilization**. Champaign, Illinois: AOCS, 1995. 584p.
- [38] FERREIRA, C. V. & MORAES, R. M. "Desodorização de leite de soja". **Congresso Brasileiro de Soja** – 17 a 20 de maio de 1999, Londrina, Paraná, Brasil.
- [39] FERREIRA, V. L. P.; ALMEIDA, T.C.A.; PETTINELLI, M.L.C.V.; SILVA, M.A.A.P.; CHAVES, J.B.P. & BARBOSA, E.M.M. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Manual: Série de qualidade. Campinas, SP, CBCTA, 2000. 127p.

-
- [40] FERREIRA, V. L. P.; SANTOS, L. C. & DO VALLE, J. L. E. Estabilidade e aceitabilidade do leite de soja formulado. **Bol. ITAL, Campinas, 23 (4):** 425-436, 1986.
- [41] FULLER, R. History and developments of probiotics. In: FULLER (Ed.). **Probiotics**. Chapman & Hall, New York, 1994. p. 1-8.
- [42] GARDNER, H. W. Decomposition of linoleic acid hydroperoxides; enzymic reactions compared with nonenzymic. **J. Agric. Food Chem., 23 (2):** 129-136, 1975.
- [43] GARDNER, H. W. & Kleiman, R. A soy extract catalyses formation of 9-oxo-trans-12,13-epoxy-trans-10-octadecenoic acid from 13-hydroperoxy-cis-9,trans-11-octadecadienoic acid. **Lipids, 12 (11):** 941-944, 1977.
- [44] GARDNER, H. W.; WEISLEDER, D. & KLEIMAN, R. Formation of trans-12,13-epoxy-9-hydroperoxy-trans-10-octadecenoic acid from 13-L-hydroperoxy,trans-11-octadecadienoic acid catalyzed by either a soybean extract or cysteine-FeCl₃. **Lipids, 13 (4):** 246-252. 1978.
- [45] GARSSSEN, G. J.; Vliegenthart, J. F. G. & BOLDINGH, J. An anaerobic reaction between lipoxygenase, linoleic acid and its hydroperoxides. **Biochemical Journal, 122 (3):** 327-332, 1971.
- [46] GEY, K. F. Vitamins E plus C and interacting nutrients required for optimal health. **Biofactors**, Oxford, v. 7, n. 1, p. 113-174, 1998.
- [47] GOOSSENS, A.E. Protein foods; flavors and off-flavors. **Food Engineering**, New York, v.46, n.10, p.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. **J. Agric. Food Chem.**, **23 (4)**: 791-794, 1975.
- [49] HACKLER, L.R., et al. Effect of heat treatment on nutritive value of soymilk protein fed to weanling rats. **Journal of Food Science**, Chicago, v.30, n.4, p.723-728, July/Aug., 1965.
- [50] HAMBERG, M. & SAMUELSSON, B. On the specificity on the oxygenation of unsaturated fatty acids catalyzed by soybean lipoxidase. **The Journal Biological Chemistry**, **242 (22)**: 5329-5335, 1967.
- [51] HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, Chicago, v. 52, n. 11, p. 63-70, 1998.
- [52] HASLER, C. M. A new look at an ancient concept. **Chemical Industry**, London, v. 3, p. 84-89, 1998.
- [53] HOLLINGSWORTH, P. Food priorities for an aging America. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n. 5, p. 38-90, 1998.
- [54] HOLMAN, R. T.; EGWIM, P. O. & CHRISTLE, W. W. Substrate specificity of soybean lipoxidase. **The Journal Biological Chemistry**, **244(5)**: 1149-1151, 1969.
- [55] HUANG, A.S., HSIEH, A.L., CHANG, S.S. Characterization of the nonvolatile minor constituents responsible for the objectionable taste of deffated soybean flour. **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, p.19-23, 1981.

-
- [56] HUHN, S., PINHEIRO, A.J.R. Efeito do íon cúprico no sabor do "leite de soja". **Revista Ceres**, Viçosa, v.27, n.150, p.145-153, 1980.
- [57] INGREDIENTS – Product update. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n. 6, p. 70, 1999.
- [58] JOHNSON, K.W., SNYDER, H.E. Soymilk: a comparison of processing methods on yields and composition. **Journal of Food Science**, Chicago, v.43, n.2, p.349-353, Mar./Apr. 1978.
- [59] JOHNSON, L .A., DEYOE, C.W., HOOVER, W.J. Yield and quality of soymilk processed by steam-infusion cooking. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n.1, p.239-243, Jan./Feb. 1981.
- [60] KATZ, F. That's using the old bean. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n. 6, p. 42-43, 1998.
- [61] KATZ, F. How nutritious? Meets. How convenient. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n. 10, p. 44-50, 1999.
- [62] KEPNER, R. E., MAARSE, H., STRATING, J. Gas chromatographic head space techniques for the quantitative determination of volatile components in multicomponent aqueous solutions. **Analytical Chemistry**, v. 36, n. 1, p.77-82, Jan. 1964.
- [63] 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, v.21, n.11, p.579-583, Nov. 1970.

-
- [64] KITAMURA, K. Breeding trials for improving the food-processing quality of soybeans. **Trends in Food Science and Technology**, London, v.4, p.64-67, 1995.
- [65] KITAMURA, K. et al. Low isoflavone content in some early cultivars, so-called "Summer-type Soybeans" (*Glycine max* (L) Merrill), **Japan J. Breed.**, Tokio, v.41, p.651-654, 1991.
- [66] KOBAYASHI, A .; TSUDA, Y.; HIRATA, N.; KUBOTA, K. & KITAMURA, K. Aroma constituents of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] milk lacking lipooxygenase isozymes. **J. Agric. Food Chem.**, **43**: 2448-2452, 1995.
- [67] KOCH, R.B., STERN, B., FERRARI, C.G. Linoleic acid and trilinolein as substrates for soybean lipoxidase(s). **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v.78, n.1, p.165-179, Nov. 1958.
- [68] KON, S. et al. pH adjustment control of oxidative off-flavors during grinding of raw legume seeds. **Journal of Food Science**, Chicago, v.35, n.4, p.343-345, July/Aug. 1970.
- [69] KROGDAHL, A., HOLM, H. Soybean proteinase inhibitors and human proteolytic enzymes; selective inactivation of inhibitors by treatment with human gastric juice. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.111, n.12, p.2045-2051, Dec. 1981.
- [70] KUHN, M. E. Functional foods overdose. **Food Processing**, Chicago, v. 59, n. 5, p. 21-48, 1998.
- [71] La Proteína de Soja. Um produto com numerosas aplicações. **Industria Alimentaria**, Mar del Plata, v. 5, n. 5, p. 34-38, 2000.

-
- [72] LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Crit. Ver. Food Sci. Nutr.**, v. 34, n. 1, p. 31-67, 1994.
- [73] LO, W.Y.L., et al. Soaking soybeans before extraction as it affects chemical composition and yield of soymilk. **Food Technology**, Chicago, v.22, n.9, p.1188-1190, Sept.1968.
- [74] MACFIE, H.J.; BRATCHELL, N.; GREENHOFF, K.; VALLIS, L. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order-carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, n.4, p.129-148, 1989.
- [75] MAN, J.M. DE, STANLEY, D.M., RASPER, V. Composition of Ontario soybeans and soymilk. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, Ottawa, v.8, n.1, p.1-8, Jan. 1975.
- [76] MATOBA, T.; HIDAKA, H.; KITAMURA, K.; NAIZUMA, N. & KITO, M. Contribution of hydroperoxide lyase activity to n-hexanal formation in soybean. **J. Agric. Food Chem.**, **33**: 856-858, 1985.
- [77] MATOBA, T.; HIDAKA, H.; NARITA, H.; KITAMURA, K.; NAIZUMA, N. & KITO, M. Lipoxygenase-2 isozyme is responsible for generation of n-hexanal in soybean homogenate. **J. Agric. Food Chem.**, **33**: 852-855, 1985.
- [78] McLEOD, G., AMES, J. Soy flavor and its improvement. **CRC Critical Review in Food Science and Nutrition**, West Palm Beach, v.27, n.4, p. 218-401, 1988.
- [79] MESSINA, M.; BARNERS, S. & SETCHELL, K. D. R. Phytoestrogens and breast cancer. **Lancet**, London, v. 350, p. 971-972, 1997.

-
- [80] MIYASAKA, S., SILVA, J.G. Melhoria de soja: II. melhoria por hibridação. **Bragantia**, Campinas, v.17, n.16, p.213-224, 1958.
- [81] MOSKOWITZ, H.R. **Product testing and sensory evaluation of foods-marketing and R & D approaches**. Food & Nutrition Press, Inc. Westport, 1983. 605p.
- [82] NAGOURNEY, R. A . Garlic: Medicinal food or nutritious medicine? **Journal of Medical Food**, Chicago, v. 1, n. 1, p. 13-28, 1998.
- [83] NELSON, A.I., STEINBERG, M.P., WEI, L.S. Illinois process for preparation of soymilk. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, n.1, p.57-61, Jan./Feb. 1976.
- [84] O'KEEFE, S. F., WILSON, L. A., RESURRECCION, A. P., MURPHY, P. A. Determination of the binding of hexanal to soy glycinin and β -conglycinin in a aqueous model system using a headspace technique. **J. Agric. Food Chem.**, v. 39, n. 6, p. 1022-1028, 1991.
- [85] OKUBO, K., KOBAYASHI, K., TAKAHASHI, K. Improvement of soy milk and tofu process on the behavior of undesirable taste component such as glucosides. **Up-To-Date Food Process**, Japan, v.18, p.16-22, 1983.
- [86] PISTORIUS, E. K. & AXELROD, B. Iron, an essential component of lipooxygenase. **The Journal of Biological Chemistry**, **249 (10)**: 3183-3186, 1974.
- [87] POLLONI, R. A . R.; VASCONCELLOS, M. I. L. & LAJOLO, F. M. Alimentos Funcionais. **Revista Qualidade em Alimentação**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 20-21, 2000.

-
- [88] POMPELLA, A . Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v. 67, n. 5, p. 289-297, 1997.
- [89] POTTER, S. M. Soy protein and cardiovascular disease. The impact of bioactive components in soy nutrition. **Nutrition Reviews**, New York, v. 56, n. 8, p. 231-235, 1998.
- [90] PSZEZOLA, D. E. Ingredients that shape the new milenium. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n. 6, p. 138-149, 1999.
- [91] PUPO, L.M., et al. Estudo sensorial do leite de soja. **Revista Brasileira de Tecnologia**, São Paulo, v.6, n.1, p.111-116, Mar.1975.
- [92] RACKIS, J.J., SESSA, D.J., HONING, D.H. Flavor problems of vegetable food proteins. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.56, p.262-267, 1979.
- [93] REIS, B.G. **O feijão soja**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura/ Sec.Inf.Agricultura, 1956. (Circular, 4).
- [94] RICE, R.D., et al. Effect of enzyme inactivation on the extracted soybean meal and oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v.58, n.5, p.578-583, May , 1981.
- [95] ROE, D. A . Effects of drugs and vitamins needs. **Annals of New Academy Science**, New York, v. 669, p. 156-163, 1992.

-
- [96] ROY, P. & KULKARNI, A. P. Oxidation of ascorbic acid by lipoxygenase: effect of selected chemicals. **Food Chemical Toxicology**, Oxford, v. 34, n. 6, p. 563-570, 1996.
- [97] SESSA, D.J., WARNER, K., RACKIS, J.J. Oxidized phosphatidylcholines from defatted soybean flakes taste bitter. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC., v.24, n.1, p.16-21, 1976.
- [98] SIDDIQI, A. M. & TAPPEL, A. L. Comparison of some lipoxidases and their mechanics of action. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **34 (12)**: 529-533, 1957.
- [99] SMITH, W. L. & LANDS, W. E. M. Oxygenation of unsaturated fatty acids by soybean lipoxygenase. **The Journal of Biological Chemistry**, **247 (4)**: 1038-1047, 1972.
- [100] SMITH, A. K., RECKEL, A. C. Soybean or vegetal milk. **Chemical & Engineering News**, Washington, v.24, n.1, p.54-56, 1946.
- [101] SOY Ingredients – Soy Proteins Concentrates retain high levels of isoflavones. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n. 6, p. 144-145, 1999.
- [102] STARVIC, B. Antimutagens and anticarcinogenesis in foods. **Food Chemical Toxicology**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 79-90, 1994.
- [103] STEVENS, F. C. BROWN, D. M. & SMITH, E. L. Some properties of soybean lipoxygenase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, **136 (2)**: 413-421, 1970.

-
- [104] STONE, H. & SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices**. Florida-USA, Academic Press, Inc.1985, 311p.
- [105] TOMOMATSU, H. Health effects of oligossacharides. **Food Technology**, Chicago, v. 48, p. 61-65, 1994.
- [106] TURATTI, J.M., et al. Estudos preliminares com cultivares de soja para produção de leite. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.16, n.3, p.289-305, jul./set. 1979.
- [107] VLIEGENTHART, J. F. G.; VELDINK, G. A. & BOLDINGH, J. Recent progress in the study on the mechanism of action of soybean lipoxygenase. **J. Agric. Food Chem.**, **27 (3)**: 623-626, 1979.
- [108] WANG, H.L., et al. Hydration of whole soybean affects solids losses and cooking quality. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.5, p.1510-1513, Sept./Oct. 1979.
- [109] WANG, S.H., TOLEDO, M.C.F. **Tratamento do grão de soja com radiação de microondas e seus efeitos no sabor, extração, e algumas propriedades nutricionais do leite de soja**. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp, 1986. 138p. (Tese, Doutorado em Ciência de Alimentos).
- [110] WILKENS, W.F., HACKLER, L.R. Effect of processing conditions on the composition of soy milk. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.46, n.4, p.391-397, July 1969.

-
- [111] WILKENS, W.F., LINS, F.M. Gas chromatographic and mass spectral analyses of soybean milk volatiles. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.18, n.3, p.333-335, May/June, 1970.
- [112] WILKENS, W.F., MATTICK, L.R., HAND, D.B. Effect of processing method oxidative off- flavors of soybean milk. **Food Technology, Chicago**, v.21, n.12, p.1630-1633, Dec. 1967.
- [113] WITTUZUM, J. L. The oxidative hypothesis of artherosclerosis. **Lancet**, London, v. 344, n. 8926, p. 773-795, 1994.